

DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN REALIZADO POR LAS LEVADURAS *Candida kefyry* *Saccharomyces cerevisiae* EN LA PRODUCCIÓN DE XILITOL

DETERMINATION OF THE EFFICIENCY OF THE FERMENTATION PROCESS BY YEAST *CANDIDA KEFYR* AND *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN THE PRODUCTION OF XILITOL.

Henry Reyes Pineda¹, Bibiana Rosero², Leidy Carolina Cardona³.

¹ Grupo Químico en Investigación y Desarrollo Ambiental. Universidad del Quindío e-mail:hreyes@uniquindio.edu.co

² Ingeniera de Alimentos. Universidad del Quindío e-mail:biroca_17@hotmail.com

³ Magister en Planeación Regional. Docente Investigadora Programa Trabajo Social.

Universidad del Quindío (e-mail:lccardona@uniquindio.edu.co)

Recibido: 05 de Septiembre de 2014

Aceptado: 3 de Octubre de 2014

*Correspondencia del autor: hreyes@uniquindio.edu.co

RESUMEN

Este trabajo consistió en determinar la eficiencia fermentativa de las levaduras *Candida kefyry* y *Saccharomyces cerevisiae* en hidrolizado de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae) para la producción de xilitol. Para la caracterización fisicoquímica del hidrolizado del material vegetal se midieron: humedad, acidez, grados brix, pH, densidad, azúcares reductores, análisis termogravimétrico (TGA), infrarrojo. Los análisis: de humedad, Aw, y de grados brix, arrojaron valores de: 4.29, 0,45 y 4,03, respectivamente. El análisis termogravimétrico mostró que hasta los 200 °C *E. camaldulensis* es relativamente estable y que a temperaturas superiores los principios activos empiezan a degradarse. La hidrólisis del material vegetal se realizó por ultrasonido a 37 °C por 20 minutos. El proceso fermentativo se realizó a una temperatura de 35 +/-2 °C, 200 rpm por un período de 30 horas, utilizándose las levaduras *Candida kefyry* y *Saccharomyces cerevisiae*, y realizando análisis de azúcares reductores por DNS. Para ambas levaduras el resultado del análisis de azúcares reductores mostró que entre mayor tiempo de fermentación menor concentración de xilosa en el hidrolizado, resultado que indica que las levaduras utilizaron xilosa para producir xilitol. *Saccharomyces Cerevisiae* presentó mejor eficiencia consumiendo 51,42 % de la xilosa, en contraste, *Cándida kefyry* consumió 36,81 %, ambas en un período de 30 horas.

Palabras claves: Xilosa, Xilitol, fermentación, *Eucalyptus camaldulensis*, *Saccharomyces Cerevisiae*, *Candida kefyry*.

ABSTRACT

This study consisted of determining the efficiency of fermentative yeasts *Saccharomyces Cerevisiae* and *Candida Kefyr* hydrolyzate leaves of *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae) for xylitol production. For the physicochemical characterization of hydrolyzed plant, material humidity, acidity, degrees brix, pH, density, reducing sugars, thermogravimetric analysis (TGA), and infrared were measured. Analysis: the results of moisture, Aw, and brix degrees were: 4.29, 0.45 and 4.03, respectively. Thermogravimetric analysis showed that *E. Camaldulensis* is relatively stable at higher temperatures (up to 200 °C) and the active ingredients start to degrade. The hydrolysis of plant material was carried out by ultrasound at 37 °C for 20 minutes. The fermentation process was performed at a temperature of 35 +/- 2 °C, 200 rpm for a 30 hour period, using the yeast *Saccharomyces Cerevisiae* and *Candida Kefyr*, and performing analysis of reducing sugars by the DNS. For both yeast analyses, the results showed that reducing sugars between lower longer fermentation xylose concentrations in the hydrolysate. This result indicates that the yeast was used xylose to produce xylitol. *Saccharomyces Cerevisiae* showed better efficiency consuming xylose 51.42 %. Incontrast, *Candida Kefyr* consumed 36.81 %, both over a period of 30 hours.

Keywords: Xilosa, Xilitol, sweetener, hydrolysis, *Eucalyptus camaldulensis*, *Saccharomyces Cerevisiae*, *Candida kefyry*.

1. INTRODUCCIÓN

Colombia nos está llevando a tendencias de salud y bienestar evidenciándose en lo que se conoce hoy en día como alimentos funcionales, que brindan seguridad y bienestar a los consumidores. Hay un amplio campo de estudio sobre las diferentes especies o variedades del género puesto que en Colombia solo es utilizado un porcentaje muy reducido de esta planta; estudios realizados han demostrado las bondades que esta especie ofrece a la salud y la alimentación. El estudio realizado se basó en la obtención de xilitol a partir del metabolismo de la xilosa, uno de los azúcares presentes en las hojas de *Eucalyptus camaldulensis Dehnh.* (Myrtaceae) evaluando la eficiencia de dos tipos de levaduras durante el proceso de fermentación o la transformación de xilosa a xilitol.

Los representantes de *Eucalyptus camaldulensis Dehnh.* (Myrtaceae) son Árboles, 5–12 (–45) m de alto, corteza lisa, blanca, gris, café o roja; ramas jóvenes glabras. Hojas juveniles no prevalecientes, ovadas a anchamente lanceoladas; hojas adultas alternas, angostamente lanceoladas, 9–22 cm de largo y 1–2.5 cm de ancho, comúnmente falcadas, ápice agudo, base cuneada, glabras, peciolo no torcido. Inflorescencias umbelas axilares, 6–11 flores por umbela, yemas lanceoladas u ovoide-apiculadas, ca 5 mm de largo; cáliz operculado. Cápsula cupuliforme, 5 (–8) mm de largo, disco ascendente, valvas (3) 4 (5), exertas (tomado de <http://www.tropicos.org> diciembre 12 de 2012). Esta especie es ampliamente utilizada como ornamental siendo ampliamente cultivada en los trópicos y subtropicos.

Para este estudio el material vegetal utilizado correspondió a láminas foliares de *E. camaldulensis*. Dado que la mayor presencia de metabolitos en las hojas está presente en la madrugada, las muestras fueron recolectadas en este momento del día. Posteriormente fueron sometidas a un proceso de deshidratación intervalos de tiempo, hasta obtener material seco, es importante mencionar que la humedad puede causar deterioro del material vegetal que será utilizado en la fase experimental. Las muestras procesadas fueron sometidas a un proceso fisicoquímico con el fin de caracterizar e identificar con precisión la especie vegetal. Luego fueron llevadas a un proceso de hidrólisis ácida por medio de ultrasonido a 37°C, para después ser detoxificado, clarificado y neutralizado, ajustando su pH entre 4–4,5 con el fin de que fuera apropiado

para la adecuación de las levaduras.

En la presente investigación se seleccionaron dos tipos de levaduras, *Saccharomyces Cerevisiae* y *Candida Kefyr* las cuales se comportaron bien en investigaciones relacionadas con procesos de fermentación. Estas levaduras se incubaron durante 24 horas en un agua de peptona; posteriormente se inocularon en el hidrolizado previamente esterilizado en una relación 70:30 v/v para luego ser sometidas a procesos de fermentación.

El objetivo de este trabajo de investigación consistió en determinar la eficiencia de cada una de las levaduras en la producción de xilitol, caracterizando fisicoquímicamente cada una de sus etapas de producción.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en Armenia, Quindío en los laboratorios de la Universidad del Quindío (laboratorio análisis instrumental, Bloque ciencias básicas; in-vitro, plantas piloto, laboratorio de fitoquímica), así mismo se realizaron algunas pruebas en el laboratorio de Cromatografía de la Universidad de Caldas.

2.1. Fases o etapas

2.1.1. Recolección del material vegetal

El material vegetal fue recolectado en la finca La Chena vía a Cruces, municipio de Filandia en horas de la mañana. Para la toma de las muestras se contó con el permiso de la Universidad del Quindío y gestionado por el Centro de Investigaciones en Biodiversidad-CIBUQ.

2.1.2. Tratamiento del material vegetal

Se adecuaron muestras de 2.0 por 4.0 cm, las cuales fueron secadas en un horno de recirculación a 37 °C en intervalos de tiempo correspondientes a 24, 48 y 72 horas hasta obtener material seco y deshidratado.

2.1.3. Caracterización fisicoquímica del material vegetal

Para los análisis fisicoquímicos de la planta se procedió a moler finamente los fragmentos de las hojas, realizándose los siguientes análisis: Humedad, Actividad de agua, Grados brix, TGA y FTIR.

2.1.4. Caracterización microbiológica de *E. camaldulensis*

Análisis de mohos y levaduras, Se realizó en agar Ogy (*Agar-Oxitetraciclina-glucosa-extracto de leva-*

dura) sembrando diluciones 10-1, 10-2 y 10-3 por duplicado a profundidad. **Mesófilos**, se realizó en Plate Count agar (*PCA*) realizando diluciones 10-1, 10-2 y 10-3 por duplicado y a profundidad. **Coliformes totales y fecales**, se realizó por la técnica del número más probable (NMP) utilizando Caldo Brila, triptófano y reactivo de Covac's.

2.1.5. Hidrólisis del sustrato en base ácida

La hidrólisis ácida se llevó a cabo utilizando catalizadores ácidos para transformar las cadenas de polisacáridos que conforman las hojas de eucalipto (hemicelulosa y celulosa en sus monómeros elementales) para ello se utilizó dos metodologías una por alta presión (autoclave) y otra por medio de ultrasonido. Las proporciones de ácido y material vegetal utilizadas fueron las descritas por Villalobos Cortinez, (2010), tomando una solución de ácido sulfúrico a una concentración del 1 %, en una relación de 1:10 (peso) de material vegetal a tratar y ácido sulfúrico.

- La primera hidrólisis ácida se llevó a cabo mediante utilización de la técnica descrita por Villalobos Cortinez (2010), en el cual se llevó el material vegetal en proporción de 1:10 a un autoclave, durante un tiempo de 30 minutos a una temperatura de 120 °C y 15PSI; las muestras fueron extraídas y enfriadas en baño de hielo para detener la reacción. Después de esto se realizó un filtrado y centrifugado del hidrolizado por 10 minutos a 150 rpm, para una posterior caracterización fisicoquímica.
- La segunda hidrólisis ácida se realizó por 20 minutos a una temperatura de 37 °C, por ultrasonido. El hidrolizado obtenido se filtró y centrifugó por 10 minutos a 150 rpm y se le realizó la caracterización fisicoquímica correspondiente.

Los hidrolizados fueron caracterizados fisicoquímicamente mediante: Cuantificación de azúcares reductores, (método de DNS), pH, Acidez, Grados brix, Densidad, FTIR y Calor latente.

2.1.6. Detoxificación del hidrolizado

El hidrolizado obtenido se concentró en un Rotavapor a 70 ± 4 °C hasta retirar un 60 % de agua del hidrolizado. Se realizó una sobretitulación del hidrolizado en donde se aumentó el pH a 10, con hidróxido de sodio (NaOH) sólido, posteriormente se disminuyó el pH a 5,8, empleando ácido sulfúrico (H₂SO₄). Durante la sobretitulación con hidróxido de sodio y ácido sulfú-

rico se realizó filtración del precipitado formado en el hidrolizado. Otro procedimiento para detoxificar el hidrolizado rico en xilosa fue el tratamiento con carbón activado, el cual consistió en someter la solución a una clarificación con 2,5 % de carbón activado a 200 rpm y 30 °C durante una hora. Luego se filtró y centrifugó. (Herazo Camaño, Cárdenas Ruiz, & Arrazola Paternina, 2011).

2.1.7. Proceso Fermentativo

2.1.7.1. Preparación de cepas. Medios de cultivo y confirmación de crecimiento de colonias. Para el aislamiento y determinación de la cantidad de levadura adecuada a inocular en el hidrolizado se utilizó el medio de cultivo Sabouraud en agar y agua de peptona líquido esterilizado, al cual se adicionó gentamicina al 10 %, con el fin de evitar el crecimiento bacteriano. (Vanegas *et al.* 2004) Se realizó una dilución de 0,16 gr de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en 30 mL de agua de peptona y 0.16 mL de levadura *Candida kefir* en 30 mL de agua de peptona, se realizó una siembra por estría para confirmar el crecimiento y viabilidad de las cepas, de *S. cerevisiae* y *C. kefir*. Se incubaron en la oscuridad por un período de 7 días a temperatura ambiente.

2.1.7.2. Preparación del inóculo

Se inocularon 0,16 gramos de *S. cerevisiae* levadura activa seca y 0,16 mL de *C. kefir* (granos kefir) en 30 mL de agua de peptona y se incubó a 35 °C por 24 horas respectivamente, para ser inoculados en el sustrato.

2.1.7.3. Esterilización de sustrato

El sustrato se esterilizó en autoclave a una temperatura de 120°C y una presión de 15 PSI durante 20 minutos, este procedimiento se realizó con el objetivo de controlar el crecimiento microbiano (virus y esporas) que pudieran competir con las cepas a inocular en el sustrato.

2.1.7.4. Inoculación

Para la inoculación de la levadura en el hidrolizado se realizó una mezcla en relación 70:30 v/v de hidrolizado de eucalipto detoxificado con un ajuste de pH de 4,5 previamente esterilizado, y agua de peptona con levadura inoculada previamente incubada; después de la mezcla se confirmó el pH y se llevó a fermentación. La inoculación se realizó en cabina de flujo laminar.

2.1.7.5. Fermentación

La fermentación se realizó bajo las siguientes condiciones: temperatura de 35 +/- 2 °C (González–Hernández, 2011) a 200 rpm por 30 horas (Vanegas *et al.* 2004) durante las cuales se tomaron muestras del fermentado en intervalos de 0, 6, 12, 24 y 30 horas de fermentación. El proceso se realizó en un fermentador artesanal que fue diseñado y ubicado en el laboratorio de microbiología del edificio de Plantas piloto de la Universidad del Quindío.

2.1.8. Análisis de la producción de xilitol

Para verificar el comportamiento de la xilosa durante el proceso de fermentación se realizaron análisis de DNS, en periodos de 6, 12, 24 y 30 horas de fermentado. Para confirmar la producción de xilitol durante el proceso fermentativo, se utilizó la técnica de HPLC para lo cual se extrajeron muestras en diferentes tiempos (0, 6, 24, y 30 horas) a las cuales se les realizó un procedimiento de dilución y eliminación de proteínas, lípidos y demás compuestos de alto peso molecular, posteriormente fueron microfiltradas a través de membranas de 0.45 µm, luego fueron trasladadas hacia el laboratorio de análisis instrumental de la Universidad de Caldas con el fin de realizar el análisis de la producción de xilitol mediante la técnica de HPLC para lo cual se utilizó un detector de índice de refracción (IR) y la columna varian carbohydrates Ca, en las siguientes condiciones: efluente H₂O flujo de 0.5 mL/min, temperatura de la columna 90 °C, atenuación en el detector 8, volumen de la muestra 20 µL (Vanegas *et al.* 2004).

Para comparar cuál de las levaduras (*C. kefyri* y *S. cerevisiae*) presenta mayor eficiencia en el proceso de fermentación para la producción de xilitol, se utilizó un análisis estadístico de regresión lineal simple.

La figura 1 muestra el termograma de la muestra vegetal; la curva de color azul representa el cambio porcentual de masa de *E. Camaldulensis* con relación al aumento de la temperatura. La curva verde corresponde a la primera derivada que permite evidenciar el punto real de degradación de la muestra, es decir, el cambio de la masa con relación al tiempo o la temperatura; la presencia de picos permite determinar el número de etapas de descomposición de la muestra. El termograma evidencia 3 picos de descomposición de la muestra, la principal pérdida se presenta a una temperatura de 200 °C o superior a esta con un porcentaje del 25,35 % en adelante, este resultado indica que la

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización fisicoquímica del material vegetal

3.1.1. Análisis termogravimétrico TGA

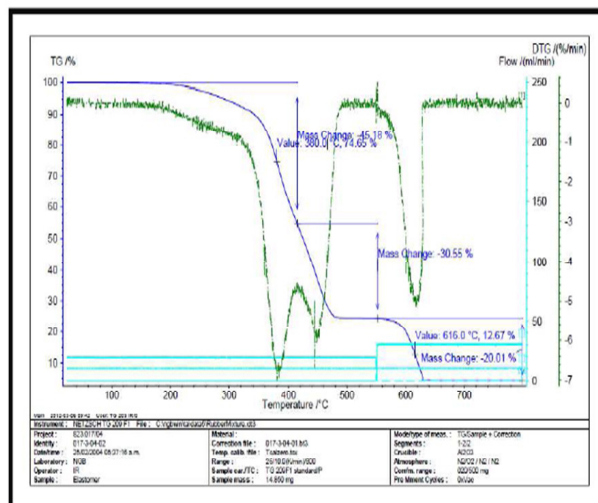


Figura 1: Análisis termogravimétrico (TGA) de *E. Camaldulensis*.

estabilidad se pierde cuando excede esta temperatura. La figura 1 muestra el termograma de la muestra vegetal; la curva de color azul representa el cambio porcentual de masa de *E. Camaldulensis* con relación al aumento de la temperatura. La curva verde corresponde a la primera derivada que permite evidenciar el punto real de degradación de la muestra, es decir, el cambio de la masa con relación al tiempo o la temperatura; la presencia de picos permite determinar el número de etapas de descomposición de la muestra. El termograma evidencia 3 picos de descomposición de la muestra, la principal pérdida se presenta a una temperatura de 200 °C o superior a esta con un porcentaje del 25,35 % en adelante, este resultado indica que la

3.1.2. Infrarrojo por Transformada de Fourier, FTIR de la muestra vegetal.

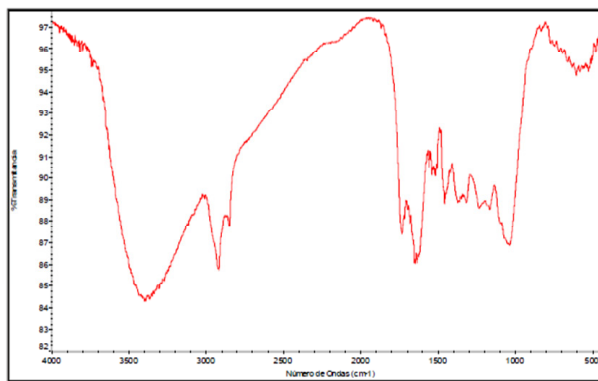


Figura 2: Espectro infrarrojo *Eucalyptus camaldulensis*

La figura 2 muestra el espectro infrarrojo tomados en KBr del *E. Camaldulensis* en el cual se obtiene la información estructural del material, en este se observa una banda con frecuencia de vibración de 3400 cm^{-1} , correspondiente a los grupos-OH (diferente al grupo OH del agua) el cual es el representativo e indica la presencia de alcoholes en este tipo de material vegetal.

3.1.3. Características fisicoquímicas del *E. Camaldulensis*

Tabla 1: Resultados del análisis fisicoquímico de características *E. camaldulensis*

Característica	Valor
Humedad inicial	53.4 %
Humedad Final	4.29 %
Aw	0.4548
° Brix	4
TGA	Figura 1
FTIR	Figura 2

3.1.4. Caracterización fisicoquímica de hidrolizados

3.1.4.1. Hidrólisis ácida (autoclave)

En la Tabla 2 se muestran los diferentes valores de los análisis fisicoquímicos realizados a la hidrólisis obtenida por medio de autoclave.

Tabla 2: Propiedades fisicoquímicas del hidrolizado de *Eucalyptus camaldulensis* obtenido por hidrólisis ácida en autoclave

HIDRÓLISIS ÁCIDA EN AUTOCLAVE	
o Brix	5.02
pH	2.31
% Acidez	1.86
Densidad	1.27 g/mL
FTIR (Bagazo)	Figura 3

El hidrolizado obtenido por autoclave arrojó un resultado de grados brix de 5.02, lo cual evidencia que en el proceso de hidrolizado se presentó un aumento significativo con respecto al material seco. En cuanto al pH el valor obtenido fue de 2.31 el cual tiene relación con el solvente en el cual se hizo la hidrólisis (ácido sulfúrico 1 %), el valor de acidez del hidrolizado arrojó un resultado de 1,86 % teniendo en cuenta que para este caso el ácido predominante es el áci-

do sulfúrico; en cuanto a la densidad el resultado fue de 1,271 gr/mL, valor necesario para el posterior cálculo del calor latente del proceso.

3.1.4.2. Análisis Infrarrojo Autoclave del hidrolizado

En la figura 3 se evidencia el comportamiento del material vegetal después del procedimiento de hidrólisis.

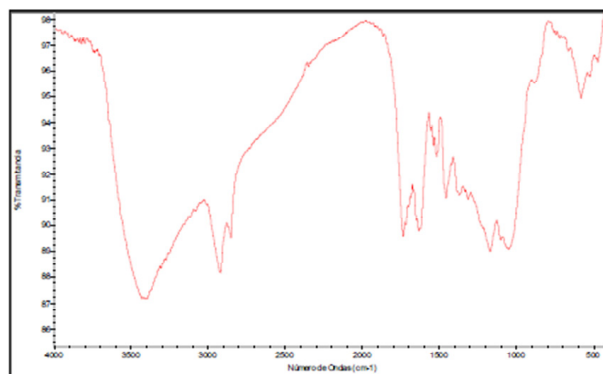


Figura 3: Infrarrojo del bagazo obtenido de la hidrólisis ácida por autoclave (*Eucalyptus Camaldulensis*).

En el espectro infrarrojo del bagazo tomados en KBr del *E. Camaldulensis* resultante del proceso de hidrolizado no presentó diferencias significativas con respecto al análisis realizado al espectro del material vegetal, sin embargo se registra una pérdida o rompimiento de OH después del tratamiento observado en la primera banda, en este caso la banda presenta una frecuencia de 3400 cm^{-1} OH (diferente al grupo OH del agua), pero no es tan ancha como la presentada en el material antes del proceso de hidrolizado, deduciendo así que el material no sufre cambios estructurales significativos.

3.1.4.3. Hidrólisis ácida (ultrasonido):

La caracterización fisicoquímica efectuada al segundo hidrolizado se realizó con el fin de identificar posibles cambios o similitudes con el material vegetal, el cual fue sometido de igual manera a los mismos análisis fisicoquímicos. En la Tabla 3 se muestra los resultados de esta caracterización.

Tabla 3: Propiedades fisicoquímicas del hidrolizado de *E. Camaldulensis* obtenido por hidrólisis ácida en ultrasonido.

HIDRÓLISIS ÁCIAD ULTRASONIDO	
o Brix	3.70
pH	2.57
% Acidez	1.42
Densidad	1.25 g/mL
FTIR (Bagazo)	Figura 4

El valor de sólidos solubles es de 3,70 valor cercano al obtenido para el material vegetal. Sin embargo se muestra una disminución de 0,3, siendo este uno de los parámetros que mas difiere con el análisis realizado al hidrolizado por autoclave. El pH fue de 2,57 y la acidez de 1.421 % valores referentes al medio en el cual se realizó la hidrólisis. En cuanto al valor de la densidad 1,257 gr/mL se determinó para posteriores cálculos de calor latente.

3.1.4.4. Cuantificación de azúcares reductores por DNS

En la Tabla 4 se muestran los resultados para cada proceso del hidrolizado en autoclave y ultrasonido que son referentes importantes para la posterior fermentación.

Tabla 4: Concentración de azúcares reductores presentes en los hidrolizados

Muestra	Concentración Azúcares Reductores g/L
Hidrolizado autoclave	6.709
Hidrolizado ultrasonido	2.798

El análisis de azúcares reductores muestra que la concentración de los azúcares del hidrolizado por autoclave es mayor que el hidrolizado por ultrasonido, sin embargo el tratamiento por ultrasonido genera un mayor rendimiento en cuanto a la obtención del hidrolizado, y después del proceso de detoxificación la concentración de azúcares reductores tiende a aumentar.

Por otra parte, en la Tabla 5 se muestran los resultados después de la detoxificación realizada al material vegetal.

Tabla 5: Concentración de azúcares reductores presentes Hidrolizado ultrasonido antes y después de la detoxificación

Muestra	Concentración Azúcares Reductores g/L
Hidrolizado ultrasonido	6.798
Hidrolizado ultrasonido	6.696
Después de la detoxificación	

3.1.5. Fermentación

Durante el proceso fermentativo se determinó la transferencia de calor a partir de la siguiente expresión:

$$Q = mC_p \Delta T \quad (1)$$

En donde:

Cp eucalipto: 1, 54 Joule/gr °C, (Gilbert, Lazcano, Martin, Vall-Ibsera, & E, 1997)

m : masa en gr del material vegetal utilizado

ΔT : intervalo de temperatura °C

- Secado: Calor (Q) transferido a las 48 horas

$$Q = - 2361,74 \text{ Joule}$$

El valor obtenido obedece a la elevada capacidad de absorción que presenta esta especie vegetal, lo cual se ve reflejado con el elevado calor específico que presenta; de tal forma que esto lo hace especial para la producción de edulcorantes y especialmente para el xilitol.

• Hidrólisis:

Por otra parte, se determinó la energía, en forma de calor que se ha liberado (o perdido) durante la hidrólisis, a partir de la ecuación (1):

$$Q = 1203,41 \text{ Joule}$$

Comparando los valores obtenidos durante el secado y el hidrolizado puede observarse la variación que sufre, siendo menor durante el secado, lo cual está relacionado con la pérdida de agua ocasionada por el proceso de secado del material vegetal.

• Fermentación:

Volumen: 70 mL

Densidad: 1,257gr/mL Mediante la expresión:

$$p = \frac{m}{v} \quad (2)$$

En donde ρ: densidad del hidrolizado

m: masa del hidrolizado en gr

v: volumen del hidrolizado en mL

Se tiene que, m = 87,99 gr

A partir de la ecuación se obtiene que:

$$Q = 1355,04 \text{ Joule}$$

Este valor ganado obedece a la cinética que sufren las levaduras y que está directamente relacionada con la

energía de activación del proceso fermentativo.

3.1.6. Análisis y producción de xilitol

3.1.6.1. DNS La tabla 6 muestra los resultados de los azúcares reductores durante el proceso de fermentación.

Tabla 6: Variación de azúcares reductores durante el proceso de fermentación *Saccharomyces Cerevisiae*

<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	
Hora	Concentración Azúcares Reductores g/L
0	6.696
6	5.749
12	4.730
24	4.134
30	3.253

En la figura 5 se observa el comportamiento de la xilosa durante el proceso fermentativo, realizado por la levadura *Sacharomyces Cerevisiae*.

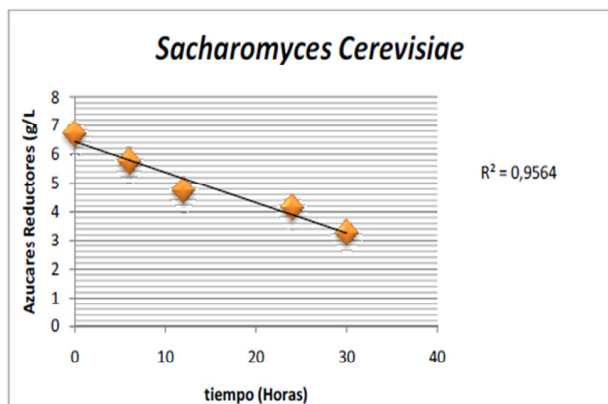


Figura 5: Comportamiento de azúcares reductores durante el proceso de fermentación realizado con *Sacharomyces Cerevisiae*

A las 0 horas de fermentación el fermentado contó con una concentración de azúcares de 6,6966 gr/L, al transcurrir 6 horas de fermentado dicha concentración empezó a disminuir y se registró un valor de 5,7499 gr/L lo cual permitió evidenciar que las levaduras consumieron la xilosa, en los siguientes muestreos correspondientes a las 12, y 24 horas el descenso de la concentración se siguió presentando pero no de manera significativa ya que disminuyó unos 0,595 gr/L, a la hora 30 de fermentación se registró un valor de concentración de 3,2530 gr/L, lo que quiere decir que de las 0 horas a las 30 horas de fermentado la disminución fue de 3,443 gr/L, valor que correspondió al 51,42 % de xilosa consumida por la levadura.

La Tabla 7 muestra los resultados del proceso fermentativo con la levadura *Candida Kefyr*.

Tabla 7: Variación de azúcares reductores durante el proceso de fermentación *C. Kefyr*

<i>Cándida Kefyr</i>	
Hora	Concentración Azúcares Reductores g/L
0	6.696
6	5.333
12	4.996
24	4.291
30	4.231

En la figura 6 se observa el comportamiento de la xilosa durante el proceso fermentativo, realizado por la levadura *C. Kefyr*.

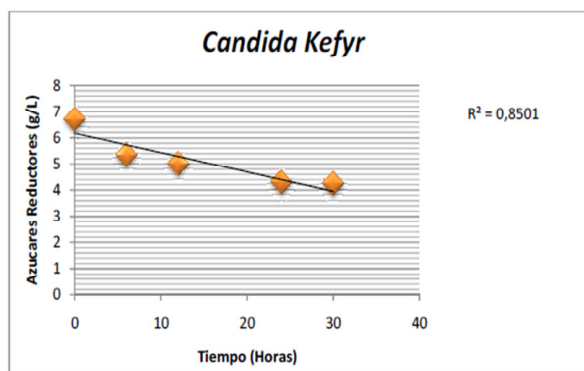


Figura 6: comportamiento de azúcares reductores durante el proceso de fermentación realizado con *Candida Kefyr*

A las 0 horas de fermentación el fermentado contó con una concentración de azúcares de 6,6966 gr/L, al transcurrir 6 horas de fermentado la concentración empezó a disminuir y registró un valor de 5,3332 gr/L resultado que evidenció que las levaduras consumieron la xilosa, en los periodos comprendidos entre las 12, y 24 horas. A la hora 30 de fermentación se registró un valor de concentración de 4,2316 gr/L, lo que quiere decir que de las 0 horas a las 30 horas de fermentado la disminución fue de 2,465 gr/L, valor que corresponde al 36,81% de xilosa consumida por la levadura.

4. CONCLUSIONES

- A través de los análisis fisicoquímicos realizados a la especie *E. camaldulensis* se pudo determinar que es una especie de fácil manejo con excelentes propiedades para la obtención de edulcorantes debido a la concentración de azúcares que posee,

- además su capacidad calórica la convierte en un material ideal para la producción de este compuesto.
- El proceso de hidrólisis por ultrasonido presentó adecuadas propiedades fisicoquímicas para la posterior fermentación, debido a que fue un proceso en el cual no se utilizaron temperaturas elevadas que afectaran la estabilidad de los compuestos presentes. Además es el proceso que mejor rendimiento tuvo en cuanto a obtención de hidrolizado.
 - El balance de energía realizado mostró que durante el proceso de fermentado hubo ganancia de energía gracias a la acción de las levaduras que metabolizaron la xilosa.
 - La levadura que presentó un mejor porcentaje de eficiencia en el consumo de xilosa para la producción de xilitol fue la *S. Cerevisiae* consumiendo en un tiempo de 30 horas un 57,42 %, mientras que la *C. Kéfir* consumió en el mismo tiempo solo un 36,81% de la xilosa presente en el hidrolizado.

BIBLIOGRAFIA

1. Boulton, C. A. & Ratledge, C. 1984. The physiology of hydrocarbonutilizing microorganism. *Top. Enz. Ferment. Biotech.* 9: 11 - 39.
2. Benjumea R., M. V., & Correa G., I. (2004). *Revistas científicas- hacia la promoción de la salud- Universidad de Caldas. Retrieved septiembre 29, 2011, from Revistas científicas- hacia la promoción de la salud- Universidad de Caldas:*
3. http://promocionsalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%206_6.pdf
4. Buitrago Estrada, J., & Escobar Romero, A. M. (2009). *Aplicación de la levadura Candida spp. Como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (mussa acuminata)*. Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
5. Escriche RI, S. B. (1996). Toxicología Industrial de Alimentos. *Valencia- Universidad Politécnica de Valencia*, 242-248.
6. Fernández López, J. A. (2007). *Fundamentos del Análisis Cromatográfico*. Grupo de Investigación QUIMYTEC UPCT, Departamento de Ingeniería Química.
7. Gilbert, V., Lazcano, R., Martin, F., Vall-Ibsera, & E. (1997). *Trabajos en madera*. I.
8. González Hernández, J. C., Álvarez Navarrete, M., Ornelas Hernández, L. d., & Zamudio Jaramillo, M. A. (2011). Producción y Aplicaciones Biotecnológicas del Xilitol. *Biotecnología*, 15(2).
9. Herazo Camaño, I. C., Cárdenas Ruiz, D., & Arrazola Paternina, G. S. (2011). Utilización de *Candida guilliermondii* aislada del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) en la producción de xilitol. *Revista colombiana de biotecnología*.
10. <http://www.tropicos.org/name/> consultado en diciembre 12 de 2012
11. Juan Carlos González-Hernández, M. A.-N. (2011). Producción y Aplicaciones Biotecnológicas del Xilitol. *Biotecnología*.
12. Juanico Loran, J. A. (2004). *Síntesis y Caracterización de Nanofibras de Carbono para su aplicación en la adsorción de gases tóxicos*. Tesis maestría, Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias Básicas e Ingeniería, ciudad de México.
13. Martínez, E., Villarreal, M., Almeida e Silva, J., Solenzal, A., L., C., & S.L., M. (2002, Diciembre). Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria, III* (005), 295-301. Murillo, R., & Gómez, R. (2006, mayo 08). Espectroscopia infrarrojo. Retrieved abril 15, 2012, from *espectroscopia infrarrojo*: <http://sistemas.fcencias.unam.mx/~fam/Infrarroja.pdf>
14. Mussatto, S. I., & Roberto, I. C. (2002). Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. *Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas*, 401- 402.
15. Odds, F. (1988). *Candida and candidosis*. Baillieri Tindall.
16. Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). *World Agroforestry Centre*. Retrieved mayo 11, 2012, from World Agroforestry Centre: <http://www.worldagroforestry.org/>

- treedb2/AFTPDFS/Eucalyptus_camaldulensis.pdf
17. Placido, M., & Alemán M, P. (2002). Método higrométrico rápido para determinar la actividad de agua. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 230.
 18. Santos de la cruz, E., Cancino Vera, N., & Yenque de Dios, J. e. (2005, enero). *El Ultrasonido y su Aplicación*. Retrieved Julio 25, 2012, from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=s1810-99932005000100005&script=sci_arttext
 19. Vanegas C., I. A., Yepes P., M. d., & Ines, D. R. (2004). BUSQUEDA DE CEPAS COLOMBIANAS DE LEVADURAS PRODUCTORAS DE XILITOL. *REVISTA DE BIOTECNOLOGIA*, II(1), 29.
 20. Vanegas Córdoba, I. A., Yépez Pérez, M. d., & Ruiz Villadiego, O. S. (2004). Producción de xilitol a partir de levaduras nativas Colombianas. *REVISTA COLOMBIANA DE BIOTECNOLOGIA*.
 21. Villalobos Cortinez, V. A. (2010). *Comparación de pretratamientos en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda generación: Hidrólisis ácida y líquidos iónicos*. Tesis Maestría, Universidad de Chile, Departamento de Ingeniería Química y Biotecnológica, Santiago de Chile.