

EFFECTO DE COMPUESTOS TÓXICOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LEVADURAS PRODUCTORAS DE XILITOL NATIVAS DE MÉXICO

Barreto González Jorge Martín¹, Bermúdez Medrano Aidé Guadalupe², Rodríguez-Gómez Divanery³, Morales-Rodríguez Ricardo⁴

¹ Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato | aide.bm94@hotmail.com

² Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato | jots_chiii@hotmail.com

³ Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato | divanery.rodriguez@itesi.edu.mx

⁴ Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato | ricardo.morales@ugto.mx

Resumen

El xilitol es un polialcohol de cinco carbonos, es un edulcorante no calórico que proporciona efectos benéficos a la salud y sirve como precursor de otros azúcares no convencionales. Una alternativa importante al método químico para la producción de xilitol es su producción por medio del uso de levaduras a partir de xilosa. La xilosa puede provenir dentro de una biorefinería mezclada con otros productos de la misma que pueden actuar como inhibidores. Las cepas de *Meyerozyma guilliermondii* en estudio fueron aisladas del proceso de producción del tequila de México. Estas cepas resistieron altas concentraciones de etanol, hasta 10 g/l y crecieron mostrando bajo porcentajes de inhibición (hasta 30%), incluso uno de estas cepas aumentó su biomasa en presencia de 5 g/l de etanol respecto a lo obtenido en el control (medio de cultivo con xilosa). Mientras que en presencia de dos mezclas de acetona, butanol y etanol probadas, las cepas mostraron un alto porcentaje de inhibición, llegó a ser hasta de 90%, que se reflejó en todos los parámetros evaluados.

Abstract

Xylitol is a five-carbon polyalcohol, is a non-caloric sweetener that provides beneficial health effects and acts as precursor for other unconventional sugars. An important alternative to the chemical method for producing xylitol is through the use of yeasts strains from xylose. In a Biorefinery, xylose may be a residue from other processes but it can proceed mixed with other products which can act as inhibitors for the Xylitol production. Two strains of *Meyerozyma guilliermondii* previously isolated from the production process of tequila in Jalisco were used. These strains grew in presence of ethanol concentrations up to 10 g / l showing low percentages of inhibition (up to 30%), even one of these strains showed higher biomass in presence of 5 g / l relative to control (only xylose as carbon source in the medium). While in the presence of the mixture of acetone, butanol and ethanol at two concentrations evaluated, the strains showed a high percentage of inhibition, it became up to 90%, which was reflected in all parameters evaluated.

Palabras clave

Xilitol; butanol; etanol; inhibición de crecimiento, *Meyerozyma guilliermondii*

INTRODUCCIÓN

El mercado actual ofrece una gran variedad de edulcorantes con diferentes especificidades y beneficios, considerando aspectos energéticos, económicos y de seguridad alimentaria. Uno de los edulcorantes alternativos que ha despertado el interés de numerosos investigadores a nivel mundial es el xilitol ($C_5H_{12}O_5$), un azúcar alcohol que por sus múltiples ventajas se usa en las industrias de alimentos, farmacéutica y en la elaboración de productos de higiene oral [1]. En la actualidad, la producción de xilitol a gran escala se realiza por hidrogenación catalítica de la xilosa a altas presiones y temperaturas. Además de los altos costos de producción, se generan impurezas que dificultan la purificación y cristalización del producto final. Una forma de obtención es a través de procesos biotecnológicos, los cuales son una alternativa de producción limpia, porque no generan subproductos tóxicos debido a su naturaleza específica [2]. Las levaduras son reconocidas como las mejores productoras de xilitol, especialmente los géneros *Pichia*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pachysolen*, *Debaryomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces* y *Candida*, considerada en el campo de la investigación como el patrón de referencia [3].

El xilitol producido por vía biotecnológica dentro de una biorefinería, puede utilizar como sustrato a la xilosa proveniente del pretratamiento de fibras lignocelulósicas residuales, sin embargo este efluente puede traer alguna concentración de producto de la biorefinería como etanol, butanol, acetona, principalmente.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto inhibitorio de productos de una biorefinería como son etanol, butanol, acetona sobre cepas de *Meyerozyma guilliermondii* productoras de xilitol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron cinéticas de crecimiento de dos cepas denominadas cepa 3 y cepa 4, en presencia de xilosa como principal fuente de carbono (control), además se probaron 4 medios que contenían diversas mezclas como inhibidores de crecimiento y que pueden estar presentes en el efluente de una biorefinería. 1[E] corresponde a 5 g/l de etanol, 2[E] corresponde a 10 g/L de etanol, ABE es la mezcla

de acetona, butanol y etanol en concentración de 3.5, 8 y 1.5 g/L respectivamente en el tratamiento denominado 2[ABE], mientras que en 1[ABE] la concentración de cada componente fue de la mitad, es decir, 1.75, 4 y 0.75 g/L, respectivamente. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado en matraces agitados de 250 ml conteniendo 90 ml de medio de cultivo y 10 ml de inóculo previamente crecido. El crecimiento se evaluó por peso seco, el pH de cada una de las muestras se midió con potenciómetro previamente calibrado. La medición del consumo de sustrato se hizo por el método de azúcares reductores con el reactivo ácido dinitrosalicílico [4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos. La cinética de pH de las dos cepas presentaron similitudes entre ellas y en presencia de etanol respecto al control, sin embargo en presencia de las mezclas de ABE, el pH fue mayor debido al poco crecimiento de los microorganismos en estos medios (Figuras 1 y 2).

En cuanto al consumo de xilosa como fuente de carbono (Tabla 1) se observó mayor consumo (88%) de sustrato en el medio control para las dos cepas, respecto a lo observado en los medios con algún inhibidor. En presencia de etanol fue de 66% y en presencia de ABE apenas del 24% como máximo.

Respecto al crecimiento, en la Tabla 1 se muestra el resumen de los datos obtenidos, se muestra la biomasa máxima producida a las 72 h, tiempo de máxima producción. Las dos cepas se comportan de manera similar en el medio con xilosa (control), donde la máxima biomasa fue de 0.007 y 0.01 g/l en la cepa 3 y 4 respectivamente. Mientras que en presencia de Etanol la biomasa máxima fue similar entre cepas y sin diferencia estadística con el control.

En presencia de ABE la biomasa producida fue inferior a 0.002 g/l en todos los casos. Por tanto, el porcentaje de inhibición del crecimiento ocasionado por la presencia de las mezclas de ABE en el medio de cultivo fue mayor (hasta 90%) en comparación con el producido en presencia de etanol solamente (hasta 30%). Los rendimientos biomasa para estos

medios con ABE como inhibidor fueron muy bajos de 2×10^{-5} , comparado con el control ($3-8 \times 10^{-4}$)

A pesar que las dos cepas corresponden al mismo género y fueron aisladas de las mismas condiciones ambientales, se nota una diferencia entre ellas, principalmente en el medio con etanol donde contrario a la inhibición esperada, se encontró que la cepa produjo mayor biomasa en presencia de 5 g/l de etanol.

Es importante mencionar la característica de adaptación de las cepas al etanol, debido a la naturaleza de su aislamiento, por lo cual será interesante seguir estudiando estas cepas en presencia de mayores concentraciones de etanol, así como probarlas en presencia individual de acetona y butanol. Dentro de las perspectivas de este trabajo está la medición de la inhibición de la producción de xilitol en las mismas condiciones, para poder así escoger las cepas que resultan candidatas para producción de xilitol dentro de una biorefinería de producción de etanol o de ABE como producto principal.

CONCLUSIONES

El porcentaje de inhibición del crecimiento ocasionado por la presencia de las mezclas de ABE en el medio de cultivo fue mayor en comparación con el producido en presencia de etanol solamente. Lo cual se vio reflejado en todos los parámetros medidos como consumo de sustrato, pH y producción de biomasa.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de verano estatal CYCES por la beca otorgada. DRG agradece al Proyecto Prodep por el financiamiento.

REFERENCIAS

[1] Affleck, R. P. 2000. Recovery of xylitol from fermentation of model hemicellulose hydrolysates using membrane technology. Thesis for the degree of Master of Science in Biological Systems Engineering. Virginia Polytechnic Institute and State University. 114.

[2] Granström, T. 2002. Biotechnological production of xylitol with candida yeasts. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy Helsinki University of Technology, Department of Chemical Technology.

[3] Barbosa, M. F. S.; De Madeiros, M. B.; et al. 1988. Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylosa and some factors which affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. Journal of Industrial Microbiology, 3: 241-251.

[4] Otero M. A. y colaboradores, Limitaciones del método del ácido DNS en mieles finales, Revista ICIDCA No 1, XX, 1986.

| Cepa | consumo de sustrato | % Inhibición | xMáx. | Y[x/s] |
|---------|---------------------|--------------|--------|----------------------|
| Control | | | | |
| 3 | 88.0189 | 0.0000 | 0.0067 | 3.5×10^{-4} |
| 4 | 79.5124 | 0.0000 | 0.0079 | 8.5×10^{-4} |
| 1[E] | | | | |
| 3 | 41.0900 | -1.4925 | 0.0068 | 5×10^{-4} |
| 4 | 57.9344 | 30.3797 | 0.0071 | 4.3×10^{-4} |
| 2[E] | | | | |
| 3 | 66.1148 | -41.7910 | 0.0095 | 8×10^{-4} |
| 4 | 49.0213 | 21.5190 | 0.0062 | 6×10^{-4} |
| 1[ABE] | | | | |
| 3 | 23.9541 | 83.5821 | 0.0011 | 3.5×10^{-4} |
| 4 | 18.0683 | 87.3418 | 0.0010 | 6×10^{-4} |
| 2[ABE] | | | | |
| 3 | 11.0750 | 98.5075 | 0.0001 | 2×10^{-5} |
| 4 | 6.1220 | 98.7342 | 0.0001 | 2×10^{-5} |

Tabla 1: Resumen de datos obtenidos a las 72 h. Donde x es biomasa y Y [x/s] es rendimiento.

