



**Universidad Veracruzana**

**Facultad de Ciencias Químicas  
Región Xalapa**

**Maestría en Ingeniería Química**

**Modelado matemático de la producción biotecnológica de xilitol a partir de hidrolizados de residuos agroindustriales**

Tesis para obtener el grado de Maestro en  
Ingeniería Química

Presenta:  
**Ilen Ali. Oscar Vázquez Ricaño**

Directora:  
Dra. Yolanda Cocotle Ronzón

Codirector:  
Dr. Eliseo Hernández Martínez

Mayo de 2022

**“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”**



Universidad Veracruzana

Facultad de Ciencias Químicas Xalapa  
Región Xalapa

Maestría en Ingeniería Química

*Modelado matemático de la producción biotecnológica de xilitol a partir de hidrolizados de residuos agroindustriales*

Tesis para obtener el grado de Maestro en  
Ingeniería Química

Presenta:  
I en Ali. Oscar Vázquez Ricaño

Directora:  
Dra. Yolanda Cocotle Ronzón

Codirector:  
Dr. Eliseo Hernández Martínez

# Índice

<b>Índice .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>9</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>10</b>
Antecedentes .....	11
Planteamiento del problema.....	14
Justificación .....	15
Hipótesis .....	15
Objetivos .....	15
Objetivo general .....	15
Objetivos particulares.....	15
<b>Capítulo 1 Marco teórico .....</b>	<b>17</b>
1.1 Xilitol .....	17
1.2 Aplicaciones.....	18
1.3 Obtención de xilitol .....	19
1.4 Microorganismos productores de xilitol .....	20
1.5 Conversión de xilosa a xilitol .....	20
1.6 Variables que afectan la producción de xilitol.....	21
1.7 Residuos lignocelulósicos.....	23
1.8 Modelo matemático .....	27
1.8.1 Tipos de modelos matemáticos. ....	27
1.8.2 Validación del modelo .....	28
1.9 Estimación paramétrica.....	28
1.9.1 Método de gradiente descendente .....	29
1.9.2 Método de Levenberg-Marquadt.....	29

<b>Capítulo 2 Metodología .....</b>	<b>30</b>
2.1 Modelamiento del proceso.....	30
2.1.2 Consumo de sustratos.....	31
2.1.2 Generación de productos.....	32
2.1.3 Limitaciones del proceso.....	33
2.2 Ajuste de parámetros .....	34
2.2.1 Datos experimentales .....	34
2.2.2 Métodos de estimación.....	35
2.3 Análisis de sensibilidad .....	35
2.3.1 Sensibilidad local .....	35
2.3.2 Generalización del modelo.....	37
<b>Capítulo 3 Resultados y discusión.....</b>	<b>38</b>
3.1. Hidrolizado de semilla de olivo, trigo y arroz, y <i>Candida boidinii</i> .....	38
3.1.1 Reducción del modelo .....	40
3.1.2. Estimación de los parámetros .....	42
3.1.3. Evaluación de condiciones de operación .....	46
3.2 Hidrolizado de mazorca de maíz y <i>Pichia sp</i> .....	48
3.2.1 Reducción del modelo .....	49
3.2.2 Estimación de parámetros .....	49
3.2.3 Análisis de sensibilidad .....	50
3.3. Hidrolizado de planta del plátano y <i>Pichia stipitis</i> .....	53
3.3.1. Reducción del modelo .....	54
3.3.2. Estimación paramétrica.....	55
3.3.3. Efecto del oxígeno .....	56
3.3.4. Análisis de sensibilidad .....	58
3.3.5 Producción de xilitol incorporando efectos de temperatura y agitación.....	59

<b>Capítulo 4 Conclusiones.....</b>	<b>64</b>
4.1 Perspectivas .....	65

## Índice de Figuras

Figura 1.1. Estructura del xilitol.....	17
Figura 1.2. Metabolismo de arabinosa y xilosa en levaduras.....	21
Figura 3.2. Datos experimentales para hidrolizado de cáscara de arroz.....	40
Figura 3.3. Perfiles de concentración para el hidrolizado de semilla de olivo sin glucosa..	42
Figura 3.4. Perfiles de concentración estimados para el hidrolizado de cáscara de arroz....	44
Figura 3.5 Perfiles de concentración para un hidrolizado de semilla de olivo con glucosa en su composición .....	45
Figura 3.6. Perfil de concentración de xilitol para distintos valores de xilosa .....	46
Figura 3.7. Perfil de concentración de xilitol para distintos valores iniciales de biomasa... <td>47</td>	47
Figura 3.8. Datos experimentales para hidrolizado de mazorca de maíz .....	48
Figura 3.9. Dinámica de biomasa, xilosa y xilitol para hidrolizado de mazorca de maíz ....	50
Figura 3.10. Análisis de sensibilidad para un hidrolizado de mazorca de maíz.....	51
Figura 3.11. Dinámica de la fermentación de un hidrolizado de mazorca de maíz incluyendo efectos de temperatura y pH .....	52
Figura 3.12. Simulación de pH y temperatura en un intervalo de 4-6 y 28-36 °C. ....	53
Figura 3.13. Mediciones experimentales para la fermentación de un hidrolizado de la planta del plátano considerando el crecimiento de la biomasa y los sustratos y productos generados.	54
Figura 3.14. Dinámicas del modelo matemático para biomasa, sustratos y productos .....	56
Figura 3.15. Perfiles de oxígeno gaseoso y disuelto para la fermentación a 35 °C y 150 rpm .....	57
Figura 3.16. Análisis de sensibilidad para el xilitol y la xilosa.....	59
Figura 3.17. Función para el modelo generalizado correspondiente a $\mu_{max1}$ .....	60
Figura 3.18. Función para el modelo generalizado correspondiente a $\mu_{max2}$ .....	61
Figura 3.19. Dinámica de las variables del proceso a condiciones de operación de T=35 °C, RPM=150 .....	62
Figura 3.20. Simulación del proceso de producción de xilitol en un intervalo de $30 \leq T \leq 45$ y $100 \leq RPM \leq 250$ en 72 h, a) Producción de xilitol y b) Consumo de xilosa.....	63

## Índice de Tablas

Tabla 1.1. Porcentaje de azúcares en hidrolizados de residuos agrícolas.....	24
Tabla 1.2. Composición del pseudotallo y la fracción hemicelulósica. ....	27
Tabla 3.1. Composición del residuo de semilla de olivo.....	38
Tabla 3.2. Composición de hidrolizados de residuos de trigo y arroz. .....	39
Tabla 3.3. Estimación de parámetros para la fermentación de semilla de olivo .....	43
Tabla 3.4. Estimación de parámetros para un hidrolizado de cáscara de trigo.....	43
Tabla 3.5. Parámetros estimados para el hidrolizado de semilla de olivo con glucosa.....	45
Tabla 3.6. Parámetros estimados para hidrolizado de mazorca de maíz a 28 °C .....	49
Tabla 3.7. Parámetros estimados para las funciones de temperatura y pH. ....	51
Tabla 3.8. Parámetros estimados para la corrida experimental a 35°C y 150 rpm.....	55
Tabla 3.9. Parámetros estimados para la función respuesta. ....	60
Tabla 3.10. Parámetros estimados para 3 sets experimentales incluyendo las funciones respuesta .....	62

## Resumen

El xilitol es ampliamente usado en industria farmacéutica y alimentaria, ya que tiene propiedades anticariogénicas y bajo valor calórico comparado con la sacarosa. En las últimas décadas, su demanda ha incrementado, por lo que en la actualidad se investigan diferentes procesos alternativos que permitan incrementar su producción. La ruta biotecnológica es una atractiva alternativa ya que además de reducir los costos de producción, usa como materia prima hidrolizados lignocelulósicos provenientes de residuos agroindustriales. Sin embargo, debido a la inherente variabilidad en la composición de los residuos la implementación del proceso no es una tarea simple, i. e., la determinación de las condiciones de operación que maximice el rendimiento de producción exige un amplio diseño experimental. En ese sentido, el modelado matemático puede ayudar a reducir el trabajo experimental, y además permite predecir y evaluar el comportamiento dinámico de las variables clave, por lo que es una herramienta útil para la implementación de esquemas de optimización y control del proceso. A pesar de que ya se han reportado diferentes propuestas del modelado del bioprocreso de obtención de xilitol, resultan muy específicos, ya que consideran las particularidades de cada sustrato, consorcio microbiano y condiciones de operación, entonces no es fácil hacer la adaptación a diferentes casos de estudio. Es por ello que el objetivo de este trabajo es proponer un modelo matemático generalizado que pueda adaptarse a diferentes casos de estudio (i.e., diferentes sustratos y cepa de microorganismo), condiciones de operación y configuración del fermentador. El modelo propuesto considera como sustrato los tres principales azúcares presentes en los hidrolizados lignocelulósicos (xilosa, glucosa y arabinosa), y los dos principales productos de la fermentación (xilitol y etanol), además considera los efectos de inhibición por sustrato y producto, y el efecto de la limitación de oxígeno. Para evaluar el alcance del modelo propuesto se analizaron tres casos de estudio en un fermentador por lotes: i) hidrolizado de semilla de olivo, trigo y arroz, y *Candida boidinii*, ii) hidrolizado de trigo y *Pichia sp.* y iii) hidrolizado de planta del plátano y *pichia stipitis*. Los resultados muestran altos coeficientes de determinación  $R^2 > 0.90$  para cada caso de estudio, indicando que el modelo propuesto es fácilmente adaptable a diferentes sustratos y condiciones de operación. Además, el modelo permite la incorporación de diferentes efectos como pH, temperatura y agitación.

**Palabras clave:** bioproducción de xilitol, modelado generalizado, optimización.

## Introducción

Actualmente, la producción de xilitol se realiza mediante la hidrogenación catalítica de xilosa pura a condiciones altas de temperatura (80-140 °C) y presión (50 atm), lo que eleva los costos del edulcorante (Parajó *et al.*, 1996). Por otro lado, el proceso biotecnológico considera xilosa obtenida de residuos lignocelulósico, y la fermentación se realiza a condiciones cercanas al estándar de temperatura y presión, lo cual disminuye significativamente el costo de producción. En la última década, los trabajos de investigación sobre la producción biotecnológica del xilitol se centran en la mejora del proceso mediante la determinación de las condiciones de operación, condiciones de cultivo y la selección de la configuración los sistemas de fermentación, abordándose a través de enfoques teóricos y experimentales.

Por otra parte, el modelamiento matemático busca establecer una relación entre las entradas y las salidas del sistema, tales como condiciones de alimentación, parámetros de diseño, variables de proceso, para posteriormente realizar tres posibles acciones: escalamiento, predicción de la dinámica y optimización de las condiciones de operación del proceso (Coimbra *et al.*, 2016). Así, el modelado matemático del proceso de producción biotecnológica del xilitol es una herramienta complementaria a los estudios experimentales, ya puede reducir significativamente los tiempos y costos del trabajo experimental, así mismo puede mejorar el entendimiento del efecto y relación entre las variables clave.

Actualmente, en la literatura se han reportado diferentes enfoques sobre el modelamiento matemático de la producción de xilitol a partir de hidrolizados lignocelulósicos provenientes de residuos agroindustriales (Desgupta *et al.*, 2017; Dorantes *et al.*, 2020). Sin embargo, dichos modelos son particulares a las condiciones de cada residuo, por lo que no es simple extenderlos fácilmente a otros tipos de sustratos y/o cepa de microorganismo. Por esa razón, el objetivo de este trabajo se centra en el desarrollo de un modelo matemático capaz de adaptarse a las diferentes condiciones en las cuales se puede realizar el proceso de fermentación de hidrolizados lignocelulósicos ricos en xilosa para su transformación en xilitol. El modelo propuesto es validado considerando diferentes

condiciones de la fermentación, i.e., diferentes tipos de sustratos y cepas de microorganismos, incluyendo los efectos de variables como son el pH, temperatura y agitación.

## Antecedentes

El estudio del proceso biotecnológico para la producción de xilitol se ha estudiado desde inicios de los años 80s, con el propósito de aprovechar el contenido lignocelulósico presente en muchos residuos de la industria agrícola y alimentaria. La lignocelulosa se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa, lignina y cantidades más pequeñas de pectina, proteínas y cenizas. La hemicelulosa, se compone de pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (manosa, glucosa, galactosa) y ácidos de azúcar (Ur-Rehman *et al.*, 2015). Después de un pretratamiento con ácido, álcali y /o enzimas, esta fracción de carbohidratos se puede convertir en azúcares monoméricos fermentables como la xilosa (Chadel *et al.*, 2013), pero también, sin excepción, todos los licores de azúcar obtenidos por hidrólisis química contienen derivados de furano, ácidos alifáticos y compuestos fenólicos que potencialmente pueden ser inhibidores del crecimiento microbiano y dificultan las biotransformaciones (Prakasham *et al.*, 2009). El tipo y concentración de los compuestos que inhiben la fermentación microbiana dependen principalmente de material lignocelulósico usado y de los parámetros operacionales (Mussatto y Roberto, 2004). Algunos ejemplos de sustratos utilizados ricos en xilosa cuyos hidrolizados han sido reportados para la producción biotecnológica de xilitol son los de bagazo de caña de azúcar (Verde *et al.*, 2006; Prakash, 2010; Kumar *et al.*, 2014), de harina de arroz (Liaw *et al.*, 2008), de mazorca de maíz (Cheng *et al.*, 2011, Baptista *et al.*, 2020), y de la planta del plátano (Bautista, 2019).

La bioconversión de xilosa a xilitol la pueden llevar a cabo varios tipos de microorganismos como bacterias, hongos y levaduras (Hiroshi *et al.*, 1996; Rao *et al.*, 2007; Prakash, 2010; Bautista, 2019; Silva, 2020; Lugani *et al.*, 2020). Sin embargo, las levaduras han mostrado los mayores rendimientos, destacando el género *Candida* por tener especies que son consumidoras naturales de pentosas como la D-xilosa, por lo tanto, la mayoría de los estudios se han inclinado hacia el uso de estas levaduras (Verde *et al.*, 2006; Liaw *et al.*, 2008; Prakasham *et al.*, 2009; Mohamad *et al.*, 2016, Xu *et al.*, 2019). La bioconversión de

D-xilosa a xilitol usando microorganismos como las levaduras es generalmente dependiente de la composición del medio de cultivo, las condiciones del cultivo y del proceso y la naturaleza genética de los microorganismos. Entonces, su implementación requiere de estudios particulares sobre las condiciones de operación y configuración del reactor, lo que conlleva a la necesidad de extensos trabajos de laboratorio que resultan costosos en tiempo e insumos. Una alternativa para reducir la carga experimental es mediante los modelos dinámicos del proceso, los cuales mejoran la comprensión del sistema bajo diferentes condiciones de operación como pH, temperatura, sustrato, fuente de carbono, tipo de reactor, etc. Asimismo, reducen los costos y los riesgos operacionales (Appels *et al.*, 2008; Donoso-Bravo *et al.*, 2011).

Se han desarrollado diferentes trabajos que proponen modelos matemáticos en la producción de xilitol, sin embargo, los modelos reportados en la literatura se ven condicionados a las simplificaciones que cada autor hace. Por ejemplo, Aranda-Barradas *et al.*, (2000) proponen un modelo para describir los perfiles dinámicos de sustrato y producto en la fermentación de un medio sintético de xilosa en un reactor de 0.12 L manteniendo el pH a 4.5. Analizaron el efecto del oxígeno sobre el rendimiento, identificando que a mayor concentración de oxígeno mayor crecimiento de biomasa, mientras que a moderados niveles de oxígeno se favorece la producción de xilitol. Tochampa *et al.* (2005) propuso un modelo matemático basado en un medio sintético de xilosa y glucosa, sin embargo, en la propuesta del modelo no se considera un balance para el etanol, el cual es un subproducto conocido en las fermentaciones para obtención de xilitol. Por otro lado, consideraron el consumo del xilitol como una forma de mantenimiento de la célula. El modelo propuesto estudia una cinética de crecimiento microbiano de tipo Monod en un reactor por lotes con volumen de 3.7 L, la operación fue llevada a cabo a una temperatura de 30 °C y el pH lo ajustaron a 4.5, el microorganismo utilizado fue *C. moguillii*, sin embargo, logra concluir que el xilitol que se puede llegar a consumir por mantenimiento de la célula es muy bajo y no es necesario incluir este fenómeno en el proceso.

Por otro lado, García *et al.* (2011) proponen el modelado del proceso de producción de xilitol en dos etapas a partir del hidrolizado de residuos de uva de la fabricación de vino. El modelo considera tres azúcares principales, xilosa, glucosa y arabinosa. En la primera etapa, el microrganismo (*Lactobacillus rhamnosus*) consume la glucosa presente en el medio,

mientras que la producción de xilitol se realiza en una segunda etapa usando *Debaryomyces hansenii*. El proceso se llevó a cabo a una temperatura de 37 °C y una velocidad de agitación de 170 rpm en un volumen de 0.1 L. En este estudio se muestra la capacidad de realizar los procesos biotecnológicos en más de una etapa y el modelamiento a partir de semi-reacciones dependiendo del sustrato consumido y producto deseado. Más adelante, Brandam *et al.* (2013) presentan un modelo matemático en donde se considera el uso de hidrolizados de residuos de trigo. En el modelo de la fermentación se incluye la influencia del oxígeno mediante un balance de entradas y salidas en el sistema. Los resultados mostraron que el crecimiento del hongo se favorece en un sistema lecho empacado. Además, se establecieron ecuaciones empíricas para el cálculo de la  $k_{LA}$ , como funciones de las velocidades de aireación.

Kumar *et al.* (2014) proponen el modelado matemático considerando el crecimiento de la biomasa, generación de productos (xilitol y etanol) y consumo de sustrato (xilosa); el microorganismo usado fue *Kluyveromyces sp.* IIPE453. La propuesta se basó en cinéticas del tipo Luong modificadas, donde los parámetros se obtienen mediante mínimos cuadrados. Por otra parte, Mohamad *et al.* (2016) proponen un modelo dinámico para la fermentación de xilosa utilizando *Candida tropicalis*, considerando una cinética de tipo Monod modificada que incluye los efectos limitantes del oxígeno en el proceso. Evaluaron distintos valores iniciales de xilosa y de agitación, y observaron que al aumentar la cantidad de sustrato se favorece la producción de biomasa, mientras que para intervalos de biomasa de 10-100 g/L aumenta la producción de xilitol. Pappu *et al.* (2016) proponen un modelo usando *Debaryomyces nepalensis* NCNY 3413, y evalúan la temperatura en un rango de 25 a 35 °C, pH de 4 a 6 y flujos de aeración de 0.14 a 0.56 1/h, obteniendo producción de 0.76 g/ L h de xilitol. Recientemente, Dorantes *et al.* (2020) propusieron el modelamiento matemático para la producción de xilitol en un fermentador por lotes, en medio libre y en medio inmovilizado, para bagazo de caña como fuente primaria de carbono y *C. guillermondii* como microorganismo. Las cinéticas consideradas fueron de tipo Monod en donde fueron considerados efectos como inhibición por sustratos y productos por el etanol, la arabinosa no fue considerada debido a la baja cantidad que este residuo tiene en su interior y evaluando la fermentación en un medio con perlas de alginato en donde fue evaluado el tamaño de estas

mismas encontrando una influencia en la producción de xilitol y haciendo la propuesta de modelarlo en diferentes condiciones de operación del reactor.

En general, la implementación del proceso de producción de xilitol mediante la fermentación de residuos lignocelulósicos ricos en xilosa exige un estudio particular para cada tipo de microorganismo y sustrato(s), así como la determinación de las condiciones de operación que optimicen el rendimiento del proceso. A pesar de los beneficios del modelado matemático del proceso, los modelos actuales son específicos para cada caso de estudio. En ese sentido, en este trabajo se propone un modelo generalizado capaz de adaptarse fácilmente a diferentes tipos de microorganismos, sustratos, configuración del fermentador y/o condiciones de operación. Para la implementación y validación del modelo propuesto se requieren un mínimo de mediciones de las variables de clave del proceso (xilosa, xilitol y biomasa). Para demostrar la aplicabilidad de este modelo se evaluaron tres casos de estudios con hidrolizados con diferente composición, así como con condiciones de operación variables, i) hidrolizado de la planta del plátano y *Pichia stipitis*, ii) hidrolizado de semilla de olivo y *Candida boidinii*; y iii) hidrolizado de residuos de trigo y arroz con *C. boidinii*.

### **Planteamiento del problema**

En los últimos años la generación de residuos lignocelulósicos generados de la agroindustria (e.g., bagazo de caña de azúcar, cáscara de trigo, arroz, la planta del plátano), han ido en aumento, por lo que ha surgido la necesidad de tratar estos residuos, que si no son adecuadamente tratados pueden generar un impacto negativo al ambiente. La producción biotecnológica de xilitol a partir de hidrolizados provenientes de residuos agroindustriales puede ser una alternativa, estos procesos requieren de estudios específicos para su aplicación, en gran medida por variabilidad en la composición de hidrolizados de diversas fuentes, así como los diferentes géneros de microorganismos que se pueden usar para realizar la fermentación. El modelado matemático puede ayudar a establecer las condiciones de operación que maximicen la producción del xilitol. Actualmente existen en la literatura diversas propuestas, la mayoría son modelos particulares lo que hace difícil su extensión a otros casos de estudios. Entonces, la generación de un modelo generalizado y flexible capaz de ser adaptado a diferentes condiciones de operación, tipos de sustrato y que sea de fácil

implementación podría contribuir en el entendimiento del proceso de fermentación, así como la determinación de las condiciones de operación para diferentes tipos de residuos agroindustriales.

## **Justificación**

La generación de un modelo matemático generalizado capaz de predecir adecuadamente el desarrollo de un proceso de producción de xilitol a partir de un hidrolizado de un residuo lignocelulósico y un microorganismo productor contribuirá en el establecimiento de las condiciones de operación que favorezcan la producción del xilitol, así como en la reducción de costos y tiempo en el trabajo experimental.

## **Hipótesis**

Es factible generar un modelo matemático generalizado que considere los fenómenos más importantes del proceso de producción biotecnológica de xilitol, el cual sea capaz de adaptarse a diferentes condiciones experimentales y pueda ser aplicado a diferentes casos de estudio en donde se consideren hidrolizados lignocelulósicos de diferente naturaleza, así como diferentes géneros de microorganismos y configuraciones de reactor.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

- Desarrollar un modelo matemático generalizado que describa el proceso de producción biotecnológica de xilitol que sea capaz de adaptarse a diferentes fuentes de hidrolizados de residuos lignocelulósicos, géneros de microorganismos y configuración del reactor.

### **Objetivos particulares**

- Establecer el modelo matemático para la fermentación de hidrolizados de residuos lignocelulósicos considerando balances para los sustratos y productos más importantes de este proceso.

- Implementar un método de estimación paramétrica para el ajuste de los parámetros del modelo de producción de xilitol usando datos experimentales reportados en la literatura.
- Realizar el análisis de sensibilidad paramétrica del modelo para obtener los parámetros más sensibles sobre las variables del proceso.
- Validar el modelo matemático con base en diferentes casos de estudio usando datos experimentales reportados en la literatura.
- Determinar las condiciones de operación que favorecen el rendimiento en la producción de xilitol.

# Capítulo 1

## Marco teórico

### 1.1 Xilitol

El xilitol es un azúcar alcohol, derivado de la D-xilosa, que posee un peso molecular de 152.15 (Figura 1.1). Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, en pequeñas cantidades en varias plantas, frutas y vegetales (Prakasham *et al.*, 2009). También es un intermediario del metabolismo de los carbohidratos en humanos y animales; un humano adulto produce alrededor de 5 a 15 g de xilitol por día el cual es metabolizado, mayoritariamente, por la flora intestinal a ácidos grasos volátiles de cadena corta o por la vía de las pentosas fosfato en el hígado (Emodi, 1978; Pepper y Olinger, 1988; Bär, 1991).

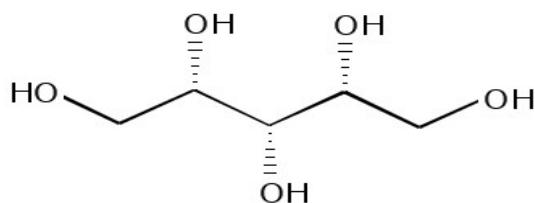


Figura 1.1. Estructura del xilitol. Kim *et al.*, (1990)

Tiene una apariencia de polvo cristalino de color blanco, inodoro, dulzura relativa equivalente a sacarosa que puede variar de 0.85 a 1.25 (con respecto al valor de 1 que se le asigna a la sacarosa) dependiendo del pH, concentración, temperatura, concentración de sales y otros factores. El xilitol es una fuente calórica de fácil disponibilidad, 1 g de xilitol corresponde a 2.4 cal/g (Kroger *et al.*, 2006).

El xilitol es un edulcorante aprobado por la Food And Drug Administration (FDA) para su uso en alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y para la salud bucal en más de 50 países (Povelainen, 2008). A pesar de esta demanda, la producción mundial de este edulcorante es relativamente escasa lo cual puede atribuirse al alto costo (126.7 pesos/kg) del método de su producción química (Yewale *et al.*, 2017). Se absorbe principalmente por el

hígado y la flora intestinal siendo estas rutas independientes de la insulina (Venkateswar *et al.*, 2016; Dasgupta *et al.*, 2017).

## 1.2 Aplicaciones

Este edulcorante se ha considerado como un aditivo alimentario de tipo humectante que, al ser impregnado en el producto ayuda a producir efectos en el organismo como la sensación de frescura en la boca (Panesso *et al.*, 2012). En combinación con otros polialcoholes aumenta su poder endulzante, a elevadas temperaturas no sufre reacciones de pardeamiento enzimático y no llega al punto de caramelización y en casos específicos retarda efectos en la fermentación ya que algunos microorganismos no logran descomponerlo para la producción de otros metabolitos secundarios (Hyvönen *et al.*, 1988; Zacharis, 2012).

Debido a que el xilitol es un poliol apto para el consumo de pacientes diabéticos, se han dado casos de estudios donde se formulan productos alimenticios con este edulcorante, principalmente de repostería y confitería tales como dulces, chocolates, mermeladas, bebidas y helados (Sokmen y Gunes, 2006). Su uso también suele darse en gomas de mascar y snacks (Burt, 2006), en la parte alimentaria y nutritiva el xilitol cumple con las características esperadas, sin embargo, en cuestiones reológicas el xilitol cambia la consistencia de productos como los chocolates o las gomas de mascar, teniendo la necesidad de realizar cambios en el proceso de fabricación para finalmente lograr un producto similar al ya existente en el mercado (Mussatto, 2012). Por otro lado, se tienen aplicaciones en el área de la salud, de donde destaca el tratamiento para enfermedades de vías respiratorias, osteoporosis, procesos inflamatorios, enfermedades renales y del colon, así como la otitis media aguda (Mussatto, 2012).

Su aplicación en la industria farmacéutica se debe a que regula la acumulación de biopelícula en la superficie dental ayudando a evitar una inflamación gingival; reduce la adherencia de ciertos microorganismos que afectan el periodonto evitando así la desmineralización del esmalte (Panesso *et al.*, 2007). También se ha reportado que muestra

propiedades antioxidantes (Chuckwuma, 2016) por lo que se usa en la generación de productos para el cuidado de la piel.

### **1.3 Obtención de xilitol**

Actualmente se tienen dos vías para realizar la producción de xilitol, la síntesis química y la producción biotecnológica. La síntesis química es el proceso que se realiza a escala industrial en donde se da la reducción química de xilosa, teniendo principalmente 5 pasos críticos en este proceso (Kumar *et al.*, 2009):

1. Despolimerización de la biomasa con el fin de realizar la obtención de los azúcares reductores.
2. Purificación de xilosa de un hidrolizado proveniente de un material de carácter lignocelulósico.
3. Conversión de xilosa en xilitol por medio catalítico en presencia de hidrógeno. El níquel es el catalizador más utilizado a nivel industrial.
4. Purificación de la muestra hidrogenada.
5. Cristalización del xilitol.

El proceso de producción de xilitol en la ruta química se realiza a temperaturas alrededor de los 80-140 °C y presiones superiores a las 50 atm. Este proceso puede ser agresivo y el consumo energético que hay que emplear para realizarlo es muchísimo mayor a un proceso del tipo biotecnológico (Kumar *et al.*, 2014). El proceso de producción de xilitol por la ruta biotecnológica ha surgido como alternativa debido a que se realiza en condiciones más suaves de temperatura y presión, además de no necesitar tratamientos previos de purificación. Como materia prima en este proceso se utiliza material lignocelulósico el cual puede provenir de residuos agroindustriales como el bagazo de la caña de azúcar, cáscara de arroz, planta de trigo, planta del plátano, entre otras. Estos residuos tienen en su estructura polímeros como la lignina, celulosa y hemicelulosa, siendo la hemicelulosa el principal componente de interés para este proceso debido a que está formado por azúcares reductores como son la xilosa,

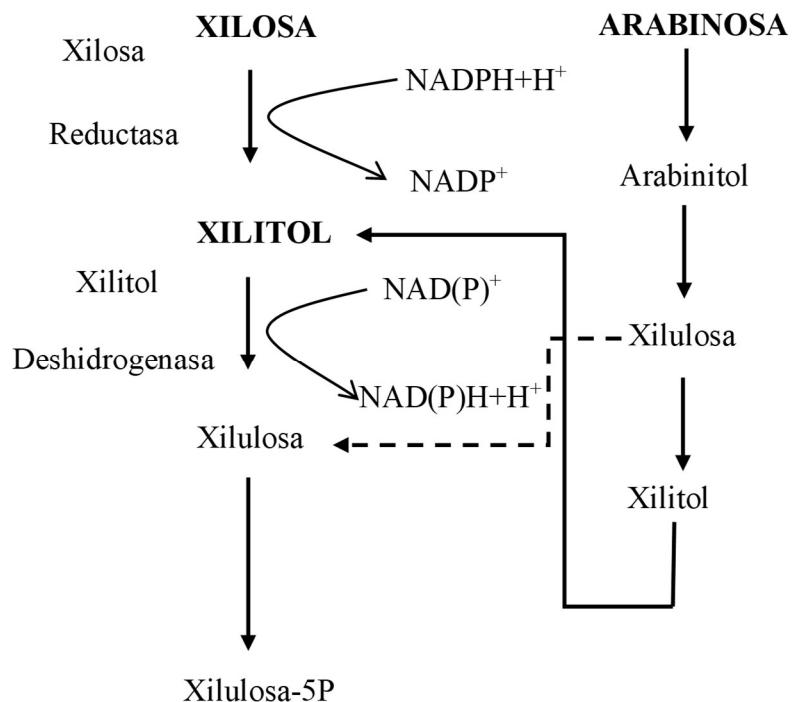
glucosa, arabinosa y maltosa (Peng *et al.*, 2011). En el proceso biotecnológico se emplean microorganismos que proporcionan la enzima que cataliza la conversión de xilosa a xilitol.

#### **1.4 Microorganismos productores de xilitol**

Los microorganismos estudiados para la producción de xilitol incluyen bacterias como *Enterobacter liquefaciens*, *Corynebacterium sp.* y *Mycobacterium smegmatis* (Rangaswamy y Agblevor, 2003); mohos como *Neurospora crassa* y levaduras de los géneros *Candida*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Monilia*, *Kluyveromyces* y *Torula* (Zhao *et al.*, 1998; Affleck, 2000). De acuerdo con la literatura se considera a las levaduras como las mejores productoras de xilitol (Prakasham *et al.*, 2009). Las levaduras del género *Candida*, son las que mejores resultados han mostrado debido a que son consumidoras naturales de D-xilosa y pueden ser cultivadas con este carbohidrato como única fuente de carbono, destacan las especies *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* (Granström *et al.*, 2007). *Pichia stipitis* recientemente se ha considerado como un microorganismo prometedor para la producción biotecnológica de xilitol, están reportado coeficientes de rendimiento superiores a 0.75 g/g (g xilitol/g de xilosa) siendo valores muy similares a los producidos el género *Candida* (Bautista, 2019).

#### **1.5 Conversión de xilosa a xilitol**

El proceso comienza con la introducción de la xilosa a través de la pared celular de la levadura (Figura 1.2), una vez dentro, la xilosa es reducida a xilitol por medio de la enzima xilosa reductasa (aldosa reductasa EC 1.1.1.21) la cual tiene como cofactor NADH + H<sup>+</sup> o NADPH + H<sup>+</sup>. Una parte del xilitol producido es secretado y el resto será convertido en xilulosa debido a la actividad de la enzima xilitol deshidrogenasa- dependiente de NAD<sup>+</sup>. La xilulosa producida se metaboliza para obtener masa celular y energía. Con azúcares como glucosa o fructosa la producción se da por medio de la enzima hexoquinasa que los convierte en glucosa/fructosa-6-fosfato. Posteriormente la hexosa monofosfato entra a una vía para la producción de xilulosa-5-fosfato, con el fin de obtener xilitol y lograr una máxima secreción.



**Figura 1.2.** Metabolismo de arabinosa y xilosa en levaduras. (Modificada de Silva y Felipe, 2006).

## 1.6 Variables que afectan la producción de xilitol

La producción biotecnológica de xilitol a partir de D-xilosa en donde se ven involucrados microorganismos como levaduras suele ser dependiente de (Albuquerque *et al.*, 2014):

- La naturaleza genética de los microorganismos.
- Las variables de proceso (flujo de aireación, pH, temperatura, agitación).
- La composición del medio de cultivo.

### Efecto del pH

Se ha observado que el pH extracelular tiene gran influencia en el proceso metabólico y también en la formación de productos. En general las levaduras crecen mejor en medio ácido a un pH entre 3.5 y 4.0 (Martinez *et al.*, 1998). Sin embargo, existen variaciones reportadas en la literatura, como en *Candida boidinii* en donde el valor de pH óptimo inicial para la mejor producción de xilitol fue de 7, mientras que bajo condiciones controladas fue a pH de 5.5 (Rodrigues *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2009; Prakasham *et al.*, 2009). En general los

valores de pH que se reportan en la literatura para cepas del género *Candida* oscilan entre 5-5.5 mientras que específicamente para *Pichia stipitis* el pH reportado está entre 4.5-5.5 para una fermentación óptima (Ibarra, 2016).

### **Efecto de la temperatura**

La temperatura tiene un efecto significante en el crecimiento, metabolismo, viabilidad y capacidad fermentativa de las levaduras. En general la conversión de xilosa en xilitol parece ser estimulada por un aumento de la temperatura; Silva *et al.* (1998) utilizando hidrolizado de bagazo de caña encontraron que una temperatura de 30°C es la que más favorece la producción de xilitol por levaduras. Prakasham *et al.* (2009) reportan que el rendimiento de xilitol es independiente de la temperatura en un intervalo de 30 a 37°C, pero arriba de 37°C, el rendimiento disminuye rápidamente. Wilkins *et al.* (2008) reportaron una alta producción de xilitol arriba de los 40°C con levaduras termo tolerantes por lo que usualmente al trabajar con levaduras las temperaturas de operación van de 30-40 °C (Misra *et al.*, 2013), el modificar este rango de temperaturas llevará a una menor producción del producto deseado y en el caso extremo de aumentar demasiado llevará a una muerte del microorganismo evitando la fermentación (Ping *et al.*, 2013). Estos cambios se explican por la naturaleza que los diferentes microorganismos tienen, existen microorganismos desde psicrófilos hasta termorresistentes, los valores para microorganismos psicrófilos están en rango de operación menores a los 20 °C mientras que los mesófilos están en un rango de los 20 a 45 °C, la mayoría de las levaduras se encuentran en este rango de operación y las termorresistentes soportan temperaturas mayores a los 45 °C.

### **Efecto de la agitación**

Se ha establecido que la aireación, es un parámetro clave en el metabolismo de D-xilosa en levaduras productoras de xilitol y determina si el balance del metabolismo de esta pentosa se inclina hacia la fermentación o la respiración. Por lo tanto, es muy importante para un proceso efectivo determinar el flujo de oxígeno que pueda capacitar la utilización balanceada del

carbono, tanto para el crecimiento como para la producción de xilitol (Prakasham *et al.*, 2009). La optimización de las condiciones de aireación/agitación, es fundamental para hacer el proceso de producción de xilitol factible a escala industrial. Se ha demostrado que la disponibilidad de oxígeno es, con mucho, el factor más crítico en la producción de xilitol por diferentes levaduras. En particular, la formación de xilitol se ve obstaculizada por las condiciones anaeróbicas en esas levaduras, con una actividad de xilosa reductasa dependiente de NADH insignificante, porque el NADH acumulado en el citosol por la actividad de xilosa deshidrogenasa solo puede regenerarse parcialmente liberando etanol y glicerol para atenuar el consiguiente desequilibrio redox. Bajo exceso de aerobiosis, el oxígeno puede reoxidar NADH por la cadena respiratoria y, al mismo tiempo, inhibe más a la xilosa reductasa que la xilosa deshidrogenasa, estimulando así el crecimiento y afectando la producción de xilitol. La formación de xilitol solo puede estimularse asegurando condiciones semiaeróbicas, en las que el oxígeno es suficiente para regenerar el NADH, mientras que el NADPH producido por la vía de las pentosas-fosfato se dirige casi en su totalidad a la formación de xilitol. Por lo tanto, el control de la tasa de consumo de oxígeno es fundamental para optimizar esta bioconversión (Sampaio *et al.*, 2014). Se ha reportado en la literatura que el rango ideal está en 100-200 rpm para el género de *Pichia* y un valor aproximado de 150 rpm para el género *Candida* (Bautista, 2019).

Por otra parte, el uso de un inóculo muy alto mejora la producción de xilitol. Además, se ha reportado que la formación de xilitol es dependiente del estado fisiológico del cultivo y la concentración de la biomasa (Prakasham *et al.*, 2009).

## 1.7 Residuos lignocelulósicos

La valorización biotecnológica de residuos lignocelulósicos derivados de la agroindustria es de gran importancia en varios países con intensa agricultura para lidiar con la demanda creciente de energía y materiales, por otro lado, es importante la mitigación de gases de efecto invernadero y desechos. Buscando el desarrollo de una economía circular que lleve a un aprovechamiento a las grandes cantidades de toneladas de estos residuos generadas a nivel industrial (Bedö *et al.*, (2021). Como se ha mencionado, estos residuos tienen 3 componentes principales en su estructura (celulosa, hemicelulosa y lignina) la hemicelulosa es el

compuesto de interés en procesos fermentativos debido a los hidrolizados que se pueden generar a partir de estos. En la Tabla 1.1 se presenta la composición de varios hidrolizados generados a partir de residuos agroindustriales y su composición de azúcares reductores.

**Tabla 1.1.** Porcentaje de azúcares en hidrolizados de residuos agrícolas. (López et al. 2020; Bedö et al. 2021 y Bautista 2019).

Hidrolizado	Xilosa (%)	Glucosa (%)	Arabinosa (%)	Galactosa (%)	Manosa (%)
Bagazo de caña de azúcar	75	14	11	--	--
Cáscara de arroz	66	22	12	--	--
Cáscara de trigo	22.6	0.8	12.4	1.4	--
Semilla de olivo	4.89	23.72	4.42	3.36	0.69
Planta del plátano	74	13.1	2.5	9.1	1.3

El uso de residuos lignocelulósicos para la producción biotecnológica de xilitol es una alternativa para reducir los costos de producción final, ya que esta materia prima suele ser un residuo alimentario o agroindustrial, teniendo carácter renovable y económicamente viable; además la fermentación requiere condiciones más amigables de temperatura y presión. En el proceso se realiza la hidrólisis ácida o enzimática de la hemicelulosa proveniente de fuentes como bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, semilla de olivo, mazorca de maíz, bagazo de sorgo, aserrín de madera, cáscara de trigo, cáscara de arroz y residuos de la planta del plátano entre otros (Rafiqul *et al.*, 2013; Albuquerque *et al.*, 2014; Bautista, 2019). La estructura heterogénea de la hemicelulosa involucra pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y algunos ácidos (ácido acético, ácido D-glucurónico y ácido D galacturónico). Aproximadamente el 90% de la hemicelulosa corresponde a xilosa, contribuyendo con el 15 – 35 % del peso seco total de la biomasa constituyendo así un buen sustrato para la producción de xilitol (Peng *et al.*, 2011).

## Semilla de olivo

El aceite de olivo suele producirse por compresión hidráulica o por medio de centrifugaciones en eje horizontal, ambos métodos generan gran cantidad de residuos los cuales no son aprovechados (Göyük *et al.*, 2006). Los residuos de la semilla de olivo se han catalogado como alimento para animales y materiales para biosíntesis de glicolípidos, además, contiene una cantidad significante de fuente de carbono en su estructura, celulosa y hemicelulosa en su mayoría, este residuo es generado en el campo junto a otros residuos como pueden ser las hojas y el tallo de este, se tienen estimaciones de que se generan alrededor de 1,182,000 toneladas por año. Los hidrolizados generados con este residuo necesitarán detoxificaciones para evitar compuestos inhibitorios durante las fermentaciones tales como hidroximetilfurfural, compuestos fenólicos, ácido acético y ácido fórmico (Manzanares *et al.*, 2017).

### **Residuo de arroz**

La paja de arroz es conocida como uno de los principales y abundantes residuos lignocelulósicos con una producción anual de alrededor de 731 millones de toneladas distribuidas en África, Asia, Europa y América (Balat 2011; Cheng y Timilsina 2011). La producción anual de paja de arroz solo en Irán es de aproximadamente 6 millones de toneladas por año, de las cuales más del 50% permanece sin procesar y se quema al aire libre en los campos de arroz. Durante las últimas décadas, la biorrefinería de tales materiales lignocelulósicos para la producción de productos de alto valor y bioenergía ha ganado una gran atención. Más específicamente, la biomasa lignocelulósica podría convertirse en energía, bioquímicos y bioproductos con mayores valores económicos como bioetanol, metanol, hidrógeno, xilitol, ácidos orgánicos, disolventes orgánicos, levaduras, aminoácidos, piensos, etc. (Balat *et al.*, 2011).

### **Residuo de trigo**

El trigo y arroz son considerados como los principales cultivos en la dieta de las personas contribuyendo alrededor del 20% del consumo calórico a lo largo del día (Shiferaw *et al.*, (2013)). Las producciones estimadas globales de estos cultivos van desde los 500 hasta los 760 millones de toneladas (FAO, 2020) y se predice un aumento en la demanda de estos

productos. Debido a la alta producción se tiene una generación grande de residuos los cuales tienen un gran contenido lignocelulósico y gran potencial de uso en procesos de biorrefinería. El xilano es uno de los principales compuestos en este residuo por lo que la producción de xilitol es una de las grandes promesas para las biorrefinerías (Bedö *et al.*, 2021). Además de la producción de xilitol los residuos de trigo provenientes de la agricultura se han utilizado para la producción de etanol en países como Dinamarca, con una composición de 35-45 % de celulosa, 20-30 % de hemicelulosa y 8-15% de lignina. Es necesario un tratamiento térmico para, generar el hidrolizado necesario para la fermentación y obtención de productos secundarios como el xilitol y el bioetanol. (Kaparaju *et al.*, 2009).

### **Mazorca de maíz**

La mazorca de maíz es un residuo el cual ha sido mencionado como prometedor para la producción biotecnológica de xilitol debido a su contenido en fracción hemicelulósica, además, es un residuo muy abundante y que poco se ha aprovechado. Para la fermentación primero se necesita una hidrólisis para liberar la xilosa que está contenida en la fracción hemicelulósica, posteriormente es utilizado como medio para la producción de xilitol utilizando organismos.

### **Planta del plátano**

El plátano, es uno de los frutos que a nivel mundial presenta una gran producción; durante los años 2016 y 2017, las exportaciones fueron de 448.3 y 555.9 mil toneladas respectivamente, México se coloca en el nivel número doce en cuanto a producción de plátano se refiere y por su parte el estado de Veracruz se encuentra en tercer lugar a nivel nacional con una producción de aproximadamente 2,384,778 toneladas (SIAP, 2018). La composición de la planta de plátano es importante debido a que presenta una alta cantidad de compuestos hemicelulósicos (12 % de lignina, 25.6 % de hemicelulosa y 34.5 % de celulosa) después de someterse a un pretratamiento estos pueden ser capaces de liberar azúcares fermentables tales como la D-xilosa, sustrato para la producción del xilitol (Cordeiro *et al.*, 2004; Bautista, 2019). De la planta del plátano es de interés tanto el tallo como las partes más cercanas al fruto, en la Tabla 1.2 se observa la composición de este compuesto.

**Tabla 1.2.** Composición del pseudotallo y la fracción hemicelulósica. (Bautista 2019)

	Xilosa (%)	Glucosa (%)	Arabinosa (%)	Galactosa (%)	Manosa (%)
Pseudotallo	13.1	74	9.1	2.5	1.3
Hemicelulosa	44.1	29.3	20.2	6.4	--

## 1.8 Modelo matemático.

Donoso *et al.* (2011), define un modelo matemático como un conjunto de ecuaciones las cuales representan un fenómeno físico que permitirá predecir y establecer condiciones de operación. De igual manera autores como Mahecha *et al.* (2011) presentaron las variables a considerar para la optimización y construcción de modelos matemáticos para el desarrollo de distintos reactores, los cuales constituyen la representación de un proceso biológico, permitiendo conocer los mecanismos que lo rigen y plantear ecuaciones que describan el comportamiento del proceso real, ayudan a predecir el comportamiento a lo largo del tiempo bajo condiciones variables y permiten disminuir el trabajo experimental, costos y tiempo de estudio. Para una óptima realización de un modelo matemático se deberá buscar:

1. Simplicidad: el modelo matemático debe ser conciso y de fácil entendimiento.
2. Causalidad: Deberá existir relación causa-efecto de los fenómenos más relevantes en el sistema.
3. Identificabilidad: Posibilidad de obtener datos desconocidos a través de datos ya conocidos o planteados.
4. Capacidad predictiva: El modelo deberá seguir siendo útil y válido a pesar de una variación en los parámetros establecidos inicialmente (Donoso-Bravo *et al.*, 2011).

Actualmente en la literatura se encuentran pocos reportes de modelos matemáticos para la producción de xilitol, utilizando *C. guilliermondii* (Aguiar *et al.*, 2002), *C. parapsilos* (Aranda-Barradas *et al.*, 2000) *C. mogii* (Tochampa *et al.*, 2005) y *C. tropicalis*, (Mohamad *et al.*, 2016).

### 1.8.1 Tipos de modelos matemáticos.

Existen distintos tipos de modelos matemáticos, entre ellos se encuentran de tipo empíricos o teóricos los cuales se basan en leyes físicas que rigen un proceso, un modelo de este tipo

tiene como base relaciones significativas entre variables que son válidas en el espacio temporal en el cual fueron calculadas. Existen también modelos estocásticos o deterministas los cuales tienen su base en generadores aleatorios y modifican los valores de las variables importantes para el sistema, dando como resultado diferentes valores de salida para las distintas entradas. Por otro lado, modelos estáticos o dinámicos son aquellos donde la variable principal es el tiempo, para modelos estáticos se da un resultado considerando solo una instancia de tiempo contrario de los dinámicos en donde se considera como una variable más dentro del sistema total (Sevenois *et al.*, 2015).

### **1.8.2 Validación del modelo**

Validar un modelo es dar un cierto nivel de confianza y certeza a los resultados obtenidos por este mismo, es decir comprobar que engloba los fenómenos físicos presentes en el sistema para así obtener resultados concisos, además de los valores de los parámetros y las variables más importantes del sistema. Para la validación usualmente se pueden usar 3 pruebas, la primera es la construcción y análisis de este mismo donde se busca obtener resultados parecidos al sistema original. Por otro lado, se puede realizar un ensayo de prueba y error para observar el comportamiento de los resultados y finalmente la prueba de validación relacionada con el sistema original, es decir, la comparativa con los resultados obtenidos experimentalmente, esta última prueba tiene la mayor fiabilidad (Vergara, 1996).

### **1.9 Estimación paramétrica**

El ajuste de parámetros es una herramienta necesaria a la hora de realizar el modelamiento de sistemas biológicos, como lo es la producción de xilitol. Este tipo de métodos buscan el cálculo de los valores constantes presentes en el sistema, suele realizarse por métodos de minimización de errores cuadráticos como el método de gradiente descendente, el método de Gauss-Newton y el Método de Levenberg-Marquadt.

### **1.9.1 Método de gradiente descendente**

El método de gradiente descendente es un algoritmo catalogado en la sección de optimización el cual buscará converger hacia el valor mínimo en un proceso iterativo, el objetivo se logra encontrando la raíz de una ecuación diferencial no lineal por medio del gradiente ( $\alpha$ ). El tamaño de paso es importante a considerar debido a que el tiempo de convergencia del método numérico dependerá de éste. El tiempo de cómputo suele ser mayor a otros métodos como Gauss-Newton debido a la robustez de este último. Su forma general se representa por la Ec. (1.1) (Yu y Wilamowski, 2011)

$$h_{gd} = \alpha J^T (y - \hat{y}) \quad (1.1)$$

### **1.9.2 Método de Levenberg-Marquadt**

El método de Levenberg-Marquadt es la técnica de estimación de parámetros más adecuada para este tipo de modelos, es una combinación del gradiente descendente con el método de Gauss-Newton. Debido a que tiene consideraciones de ambos métodos, la divergencia en este procedimiento es más difícil de alcanzar. Si evaluando los datos se encontrará lejos de la raíz gracias al principio del método de Gauss-Newton el tamaño de paso se reducirá hasta la convergencia y en caso contrario al irse acercando a la raíz convergerá de manera más rápida por la disminución del tamaño de paso como en el método de gradiente descendente. La expresión que representa esté método es la Ec. (1.2):

$$[J^T J + \lambda I] h_{lm} = J^T (y - \hat{y}) \quad (1.2)$$

# **Capítulo 2**

## **Metodología**

### **2.1 Modelamiento del proceso**

En esta sección se describen los detalles para el desarrollo del modelo propuesto. El modelo se plantea mediante los balances de materia de los componentes participantes en la fermentación, asumiendo las siguientes consideraciones:

- Se consideran únicamente a la xilosa, glucosa y arabinosa como sustratos en el proceso de fermentación, ya que estos tres azúcares son los que se encuentran en mayor cantidad en los hidrolizados producidos a partir de residuos lignocelulósicos (Pérez *et al.*, 2015; González-Sánchez *et al.*, 2014).
- El crecimiento de la biomasa se representa por el modelo de Monod, considerando el consumo de cada uno de los sustratos (Desgupta *et al.*, 2020).
- El balance de oxígeno se considera en el proceso y se incluye su efecto en el modelo de crecimiento microbiano y producción de xilitol (Mohamad *et al.*, 2015).
- Se considera mezclado perfecto del fermentador, lo que permite descartar el efecto de la resistencia de los fenómenos de transporte.
- El proceso se realiza por lotes, por lo que los términos de entradas y salidas serán descartados de cada balance, considerando una carga inicial de sustratos y microorganismos que estará determinada por la naturaleza del hidrolizado utilizado.

#### **2.1.1 Crecimiento de la biomasa**

El balance de la biomasa está dado por la siguiente expresión

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2.1)$$

donde  $X$  es la biomasa,  $\mu$  representa la velocidad de crecimiento celular, la cual considera la contribución de cada azúcar como

$$\mu = [\mu_1 + \mu_2 + \mu_3] \quad (2.2)$$

El crecimiento microbiano depende del consumo de los tres sustratos del proceso y se considera inhibición por el etanol e inhibición por sustrato de la xilosa. La Ec. (2.3) describe la cinética de Monod,

$$\mu = \left[ \mu_{\max 1} \frac{S_x}{\left( 1 + \frac{K_{Sx}}{S_x} \right) \left( 1 + \left( \frac{P_E}{k_1} \right) \right)} + \mu_{\max 2} \frac{S_G}{K_{SG} + S_G} + \mu_{\max 3} \frac{S_A}{K_{SA} + S_A} \right] \quad (2.3)$$

donde  $\mu_{\max 1}$  representa la tasa de crecimiento máxima de la xilosa,  $S_x$  es la concentración de xilosa y  $K_{Sx}$  es la constante de saturación para la xilosa. La inhibición por etanol se representa con  $1 + \left( \frac{P_E}{k_1} \right)$ , donde si incrementa la producción de etanol ( $P_E$ ), disminuye la tasa de crecimiento de microorganismo por consumo de xilosa;  $k_1$  es la constante de inhibición para el etanol. Para la tasa de crecimiento por consumo de glucosa,  $\mu_{\max 2}$  representa la tasa de crecimiento máxima,  $S_G$  es la concentración de la glucosa y  $K_{SG}$  representa la constante de saturación. Finalmente,  $\mu_{\max 3}$  es la tasa de crecimiento máxima para la arabinosa,  $S_A$  representa la concentración de arabinosa y  $K_{SA}$  la correspondiente constante de saturación para la arabinosa.

### 2.1.2 Consumo de sustratos

La xilosa se considerará como el principal precursor del xilitol y la glucosa como el precursor del etanol, mientras que la arabinosa cuando se encuentra en cantidades no mayores a 10 g/L favorece a la producción de xilitol. (Silva *et al.*, 2001)

#### Xilosa

El balance de materia que representa el consumo de xilosa es como sigue,

$$\frac{dS_x}{dt} = - \frac{1}{Y_{x/S_x}} \mu_1 X \quad (2.4)$$

donde  $\mu_1$  es la tasa de crecimiento microbiano por el consumo de xilosa (descrito en la Ec. 2.3),  $S_x$  es la concentración de xilosa en el medio,  $Y_{x/S_x}$  es el coeficiente de rendimiento de la biomasa por la xilosa.

### **Glucosa**

El balance de materia que representa el consumo de glucosa es como sigue,

$$\frac{dS_G}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_G}} \mu_2 X \quad (2.5)$$

Donde  $\mu_2$  es la tasa de crecimiento microbiano por el consumo de glucosa (descrito en la Ec. 2.3),  $S_G$  es la concentración de glucosa,  $Y_{x/S_G}$  es el coeficiente de rendimiento de la biomasa por consumo de glucosa, la glucosa junto a la xilosa serán los primeros carbohidratos en consumirse.

### **Arabinosa**

El balance de materia que representa el consumo de arabinosa es como sigue,

$$\frac{dS_A}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_A}} \mu_3 X \quad (2.6)$$

Donde  $\mu_3$  es la tasa de crecimiento microbiano por el consumo de arabinosa (descrito en la Ec. 2.3),  $S_A$  representa la concentración de arabinosa y  $Y_{x/S_A}$  es el coeficiente de rendimiento de la biomasa por la arabinosa.

#### **2.1.2 Generación de productos**

La producción de xilitol se ve influenciada por el consumo de xilosa y arabinosa, mientras que la producción de etanol se ve afectada por el consumo de la glucosa, a continuación, se presentan los balances para la xilosa y etanol formados en el proceso.

### **Xilitol**

El balance de materia que representa la producción de xilitol es como sigue,

$$\frac{dP_X}{dt} = \frac{Y_{P_X/S_X}}{Y_{x/S_X}} \mu_1 X + \frac{Y_{P_X/S_A}}{Y_{x/S_A}} \mu_3 X \quad (2.7)$$

Donde  $Y_{P_X/S_X}$  representa el coeficiente de producción del xilitol con respecto a la xilosa,  $Y_{P_X/SA}$  es el coeficiente de producción de xilitol a partir de la arabinosa.

## **Etanol**

El balance de materia que representa la producción de etanol es como sigue,

$$\frac{dP_E}{dt} = \frac{Y_{P_E/S_G}}{Y_{x/S_G}} \mu_2 X \quad (2.8)$$

donde,  $Y_{PE/SG}$  es el coeficiente de rendimiento de etanol por consumo de glucosa.

### **2.1.3 Limitaciones del proceso**

El oxígeno influye sobre la producción de xilitol, en medios con exceso de oxígeno se ha visto beneficiada la producción de biomasa y reducido la producción de xilitol (Aranda-Barradas *et al.*, 2000; Mohamad *et al.*, 2016). Dicho efecto se incluye en el coeficiente de rendimiento del xilitol y se incluye como una función de línea recta. El balance de oxígeno en la fase gaseosa y líquida se describen en las ecuaciones 2.9, 2.10 y 2.11 como sigue,

$$\frac{dO_{2,gas}}{dt} = (O_{2,in} - O_{2,gas}) - k_L a (C_{eq,O_2} - O_2) \quad (2.9)$$

$$\frac{dO_{2,liquid}}{dt} = k_L a (C_{eq,O_2} - O_2) - \frac{1}{Y_{X/O_2}} \mu X \quad (2.10)$$

$$Y_{P_X/S_X} = -m O_2 + b \quad (2.11)$$

Donde  $O_{2,gas}$  representa el oxígeno en la fase gaseosa así como el oxígeno que no logra transferirse a la fase líquida,  $O_{2,in}$  y  $O_{2,gas}$  representan la concentración de oxígeno a la entrada y a la salida del reactor,  $k_L a$  es el coeficiente de transferencia de masa ,  $C_{eq,O_2}$  es la concentración de oxígeno en el equilibrio y  $O_2$  es la concentración de oxígeno en el medio. Para la fase líquida  $O_{2,liquid}$  es la concentración de oxígeno en la fase líquida,  $Y_{X/O_2}$  representa el coeficiente de rendimiento del oxígeno por consumo de la biomasa.

El modelo propuesto consta de ocho ecuaciones diferenciales Ecs. (2.1), (2.4), (2.5), (2.6), (2.7), (2.8), (2.9) y (2.10) y una ecuación de tipo algebraica (2.11) las cuales describen el

proceso de producción de xilitol a partir de un hidrolizado rico en xilosa, glucosa y arabinosa y la producción de xilitol y etanol, además, del crecimiento microbiano y el efecto del oxígeno en el proceso. El modelo cuenta con trece parámetros a estimar. El modelo se resuelve por medio del software Matlab utilizando un método de Runge-Kutta haciendo uso de la función ode23tb.

## 2.2 Ajuste de parámetros

### 2.2.1 Datos experimentales

El ajuste paramétrico se realiza utilizando datos experimentales obtenidos de la literatura, los casos de estudio considerados se describen como sigue,

- Hidrolizado de semilla de olivo, trigo y arroz, y *Candida boidinii*: Bedö *et al.*, (2021) presenta datos obtenidos de la fermentación de residuos de trigo utilizando *C. boidinii*, el efecto del oxígeno no fue evaluado, pero si los tres sustratos presentados por el modelo matemático. Se realizó el proceso iterativo y obtuvieron los valores estimados que ajustaran a los datos experimentales. También, fueron tomados los datos presentados por López-Linares *et al.*, (2020) en donde evaluaba la fermentación del hidrolizado y un medio sintético, en este proceso no fue considerada la glucosa en el medio debido a la escasa cantidad de este sustrato en este hidrolizado.
- Mazorca de maíz y *Pichia sp*: Jeevan *et al.*, (2011) realizaron la fermentación de un hidrolizado de mazorca de maíz, la materia prima fue secada por luz solar con una composición de 32% de celulosa, 35% de hemicelulosa y 4% de lignina, la hidrólisis fue realizada a 121 °C. Posteriormente se evaluó el efecto del pH y la temperatura con experimentos que van de 28-36 °C y 4-6 respectivamente. Solo consideraron la xilosa como sustratos y las mediciones de la biomasa.
- Hidrolizado de planta de plátano y *Pichia stipitis* como biomasa, donde se evaluó el efecto de temperatura y velocidad de agitación. Los datos experimentales usados constan de nueve sets experimentales en la fermentación en las cuales se realizaron muestreos cada doce horas determinando las concentraciones de biomasa, sustratos y productos.

## 2.2.2 Métodos de estimación

Se aplica el método de Levenberg-Marquardt (LM) o también denominado mínimos cuadrados amortiguados, cuya expresión matemática se define como:

$$P_{k,i+1} = P_{k,i} + (J^T J + \lambda I)^{-1} J^T (y_i - y_{m,i}^k) \quad (2.12)$$

Donde:  $P_{k,i}$  y  $P_{k,i+1}$  son el parámetro a calcular con un valor inicial y final después de aplicársele un incremento,  $J$  es la matriz Jacobiana que relaciona los términos de las ecuaciones diferenciales implicadas en el modelo con respecto a cada uno de los parámetros a determinar,  $J^T$  es la matriz Jacobiana transpuesta,  $\lambda$  es el término de amortiguamiento,  $I$  es la matriz de identidad,  $y_i$  es el vector de datos reales  $y$ ,  $y_{m,i}^k$  es el vector de datos a partir del modelado con valores de parámetros iniciales. El método LM consiste en resolver problemas de mínimos cuadrados no lineales y se encarga de ajustar las curvas de datos obtenidos con parámetros iniciales propuestos a las curvas reales de datos obtenidos de manera experimental.

## 2.3 Análisis de sensibilidad

### 2.3.1 Sensibilidad local

Para el análisis de sensibilidad local se tienen dos propuestas, por un lado, una metodología basada en el diferencial de los estados con respecto a las variables y otro en donde se pueden hacer las variaciones de los parámetros directamente y observando la respuesta del modelo permitiendo identificar el efecto que tienen las variables sobre este proceso y así poder encontrar condiciones que ayuden a mejorar el proceso, esto se puede representar en el siguiente vector:

$$Z_P = \frac{dZ}{dP} \quad (2.13)$$

donde  $Z$  son las variables de estado del sistema y  $P$  son los parámetros del proceso (coeficientes de rendimiento, tasas de crecimiento máximas y constantes de saturación). En forma de componente se expresa como en la Ec. (2.14):

$$(Z_P)_{ij} = \frac{dZ_i}{dP_j} \quad (2.14)$$

La ecuación para el análisis del cambio de los datos con respecto al espacio se muestra en la Ec. 2.15:

$$\frac{\partial Z(x)}{\partial x} = f(Z(x), x) \quad (2.15)$$

La sensibilidad paramétrica se obtiene de la siguiente expresión:

$$\frac{\partial Z(x)}{\partial z} = \frac{\partial f}{\partial z} Z_p(x) + \frac{\partial f}{\partial P} \quad (2.16)$$

donde expresada de forma matricial:

$$\frac{\partial f}{\partial z} = \begin{pmatrix} \mu & X\mu_{\max 1} \frac{-K_{SX}}{(K_{SX} + S_X)^2} & \bullet & \bullet & \bullet & 0 & X\mu_{\max 3} \frac{-K_{SA}}{(K_{SA} + S_A)^2} \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \frac{Y_{P_x/S_x}}{Y_{X/S_x}} \mu_1 + \frac{Y_{P_x/S_A}}{Y_{X/S_A}} \mu_3 & \frac{Y_{P_x/S_x}}{Y_{X/S_x}} \mu_{\max 1} X \frac{-K_{SX}}{(K_{SX} + S_X)^2} & \bullet & \bullet & \bullet & 0 & \frac{Y_{P_x/S_A} X \mu_{\max 3}}{Y_{X/S_A}} \frac{-K_{SA}}{(K_{SA} + S_A)^2} \end{pmatrix} \quad (2.17)$$

$$\frac{\partial f}{\partial P} = \begin{pmatrix} X\mu_{\max 1} \frac{-S_X}{(K_{SX} + S_X)^2} & 0 & \bullet & \bullet & \bullet & \frac{XS_G}{K_{SG} + S_G} & \frac{XS_A}{K_{SA} + S_A} \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet & \bullet \\ \frac{Y_{P_x/S_x} X \mu_{\max 1}}{Y_{X/S_x}} \frac{-S_X}{(K_{SX} + S_X)^2} & -\frac{Y_{P_x/S_x}}{(Y_{X/S_x})^2} \left( \mu_{\max 1} \frac{S_x}{K_{SX} + S_x} \right) X & \bullet & \bullet & \bullet & 0 & \frac{Y_{P_x/S_A} X}{Y_{X/S_A}} \left( \frac{S_A}{K_{SA} + S_A} \right) \end{pmatrix} \quad (2.18)$$

Cada uno de los términos de la ecuación anterior se componen por medio de vectores y matrices, y mediante el programa de MATLAB® se puede llevar a cabo la simulación para la demostración de la sensibilidad de los parámetros con respecto a la distancia del reactor empleando los términos expresados en las Ecs. 2.19 y 2.20:

$$P' = [K_{S_x}; Y_{x/S_x}; K_{S_G}; Y_{x/S_G}; K_{S_a}; Y_{x/S_a}; Y_{P_x/S_x}; Y_{P_E/S_G}; \mu_{máx1}; \mu_{máx2}; \mu_{máx3}; Y_{x/O_2}] \quad (2.19)$$

$$Z = [X; S_x; S_G; S_a; P_x; P_E; O_2] \quad (2.20)$$

Las Ecs. (2.17) y (2.18) se evalúan al mismo tiempo que se resuelve el modelo matemático para los parámetros considerados en el proceso y poder describir la sensibilidad de cada una de las variables de estado con estos mismos.

### 2.3.2 Generalización del modelo

Con los datos obtenidos en el análisis de sensibilidad se pueden identificar los parámetros más sensibles y establecer rangos de operación en donde no habrá variaciones significativas de los parámetros, caso contrario identificar aquellos que con pequeños cambios de magnitud tendrán una influencia más representativa en el proceso. Esto ayudará para la generación de funciones en las cuales se podrán incluir los efectos de variables que no se habían considerado en el modelado (agitación, temperatura y pH), podrán ser funciones individuales o funciones tipo plano para considerar más de una variable a la vez, este tipo de funciones suelen ser polinomios de forma general:

$$f(X, Y) = p_{00} + p_{10}X + p_{01}Y + p_{20}X^2 + p_{11}XY + p_{02}Y^2 \quad (2.21)$$

donde  $f(X, Y)$  representa el parámetro del modelo,  $X$  y  $Y$  las variables incluidas en el proceso y los valores  $P_{00}, P_{01}, P_{10}, P_{20}, P_{11}, P_{02}$  son los parámetros constantes que deberán ser estimados en el proceso.

# Capítulo 3

## Resultados y discusión

El ajuste del modelo con las Ecs. (2.1)-(2.11) se realizó a partir de simplificaciones al modelo considerando los componentes que están presentes en el hidrolizado utilizado y los productos generados en la fermentación. Finalmente se evaluó el análisis de sensibilidad del proceso para observar que variables tienen mayor influencia en los parámetros del sistema y poder incluir estas variaciones en variables del proceso como temperatura y agitación.

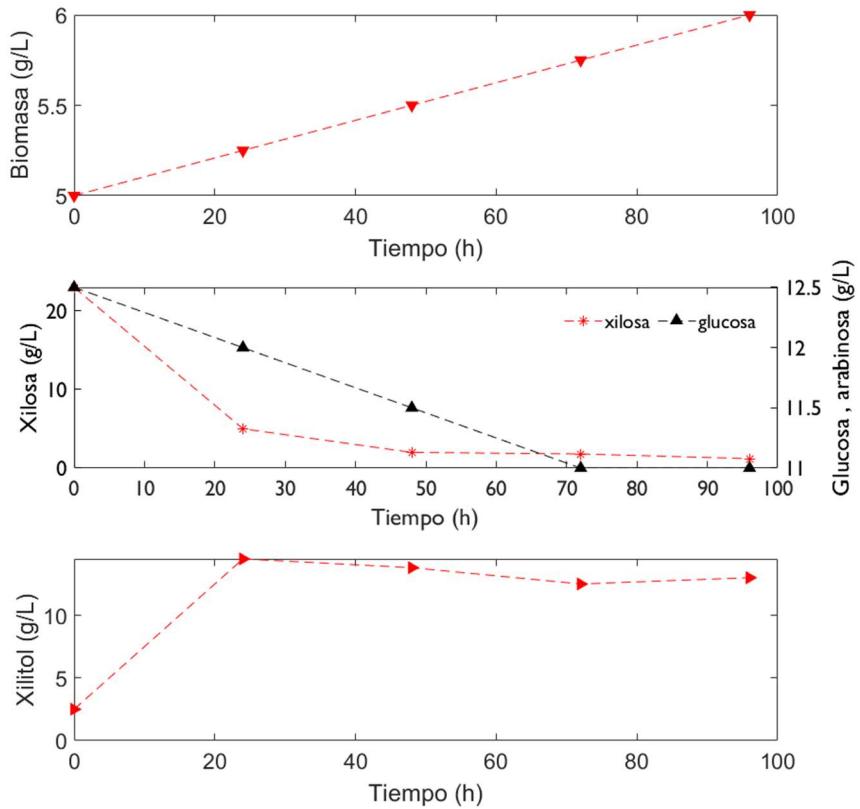
### 3.1. Hidrolizado de semilla de olivo, trigo y arroz, y *Candida boidinii*

Este caso de estudio aborda, en primera instancia, la fermentación de un hidrolizado de residuos de semilla de olivo, los cuales fueron generados en una industria de aceite de oliva (Spuny SA, España). La composición general de los residuos se enlista en la Tabla 3.1

**Tabla 3.1.** Composición del residuo de semilla de olivo. (López-Linares *et al.*, 2020)

Compuesto	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Cenizas	acetilos	Otros
Composición	10.4	11.5	22.1	9.4	2.1	42

La fermentación fue realizado a 30 °C y 150 rpm en matraces Erlenmeyer de 100 mL con una concentración inicial de biomasa de 5 g/L. Tomaron muestras cada 24 horas para analizar la producción de xilitol y etanol, el pH fue ajustado a 6.0 para las diferentes fermentaciones realizadas. Los hidrolizados utilizados contenían 4.9 g/L de glucosa, 23.7 g/L de xilosa y 4.4 g/L de arabinosa para el primer caso y para el segundo fue la misma composición, pero sin glucosa presente en el hidrolizado.



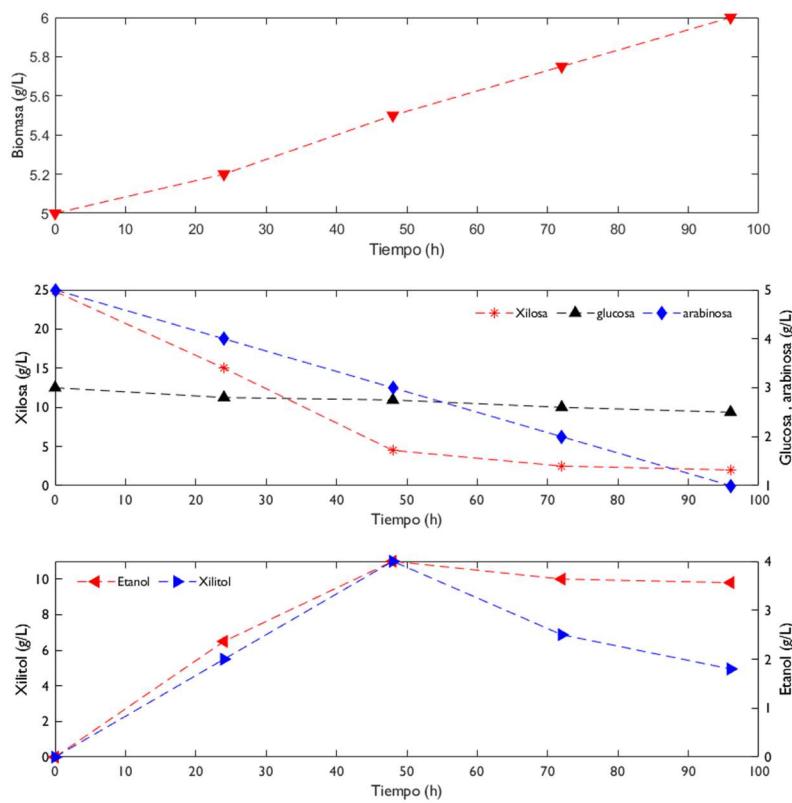
**Figura 3.1.** Mediciones experimentales para la fermentación de un hidrolizado de semilla de olivo considerando el crecimiento de la biomasa y los sustratos y productos generados. Bedo *et al.*, (2020)

Por otro lado, también se evaluaron los efectos de las condiciones iniciales de xilosa para la producción de xilitol utilizando *C. boidinii*, buscando optimizar la producción de este producto usando hidrolizados ricos en xilosa obtenidos de residuos de trigo y arroz. La composición de los hidrolizados se presenta en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2.** Composición de hidrolizados de residuos de trigo y arroz. (Bedo *et al.*, 2021)

Compuesto	Xilosa	Glucosa	Arabinosa	Proteína
Residuo de trigo	22.6	0.8	12.4	7.3
Residuo de arroz	21.1	1.0	9.1	7.0

El pH fue ajustado a un valor de 6 y la muestra fue tratada para una detoxificación previa al proceso, para ello se añadieron 2 g/L de amonio, una segunda etapa se incluyó una clarificación con carbón activado y al mismo tiempo se agregaron 2 g/L de peptona. La fermentación fue llevada a cabo en matraces de 100 mL, una temperatura de 30 °C y a una velocidad de agitación de 125 rpm por un periodo de 96 horas las muestras fueron tomadas cada 24 horas para su posterior análisis. La concentración inicial de biomasa fue de 5 g/L y las determinaciones fueron realizadas por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés).



**Figura 3.2.** Datos experimentales para hidrolizado de cáscara de arroz. Lopez-linares *et al.*, (2020)

### 3.1.1 Reducción del modelo

Para evaluar los hidrolizados provenientes de los residuos de trigo y arroz se tuvieron las siguientes consideraciones: i) el consumo de los 3 sustratos propuestos, ii) generación de xilitol, etanol y biomasa, iii) el medio fue considerado como saturado de oxígeno en todo

momento por lo que las ecuaciones (2.9) – (2.11) serán descartadas en este caso de estudio, quedando el modelo reducido:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (3.1)$$

$$\frac{dS_x}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_x}} \mu_1 X \quad (3.2)$$

$$\frac{dS_G}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_G}} \mu_2 X \quad (3.3)$$

$$\frac{dS_A}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_A}} \mu_3 X \quad (3.4)$$

$$\frac{dP_X}{dt} = \frac{Y_{P_X/S_X}}{Y_{x/S_X}} \mu_1 X + \frac{Y_{P_X/S_A}}{Y_{x/S_A}} \mu_3 X \quad (3.5)$$

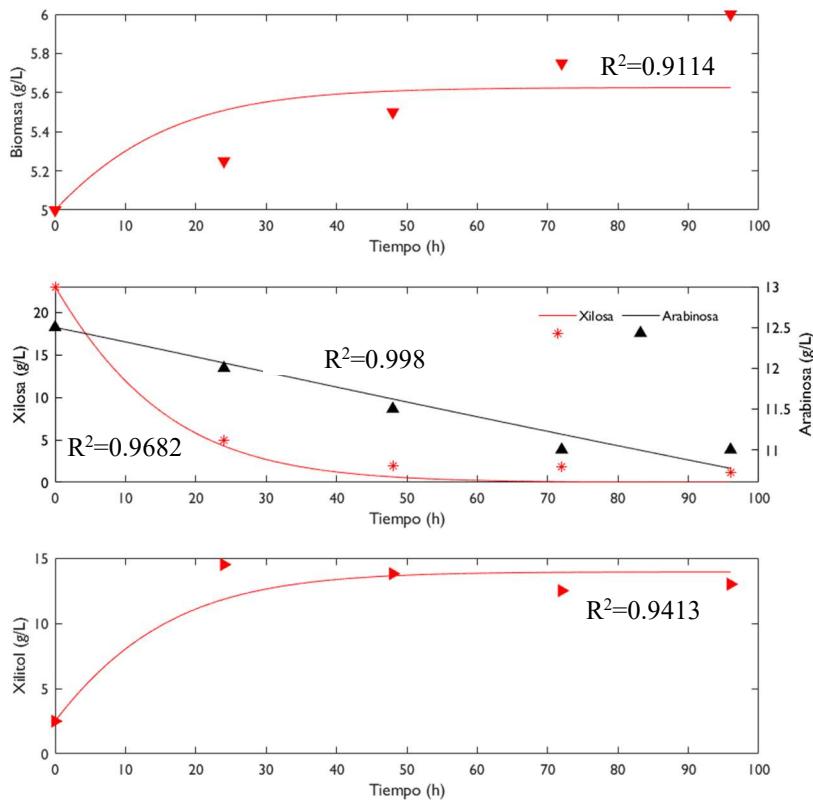
$$\frac{dP_E}{dt} = \frac{Y_{P_E/S_G}}{Y_{x/S_G}} \mu_2 X \quad (3.6)$$

Para evaluar el hidrolizado de semilla de olivo se tuvieron las siguientes consideraciones, i) medio saturado de oxígeno en la fermentación, ii) la glucosa no está presente en el hidrolizado por lo tanto no habrá producción de etanol durante la fermentación, iii) no hay inhibición por productos, y iv) el único producto del proceso será el xilitol. Por lo tanto, las ecuaciones (2.3) y (2.6) no se tomarán en cuenta. En la figura 3.2 se muestran los datos experimentales obtenidos por Bedö *et al.*, (2021), los datos muestran un crecimiento en la biomasa y como es esperado un consumo de la xilosa de manera acelerada, un consumo en menor medida para la arabinosa y glucosa, de igual manera, la producción de xilitol y etanol,

en donde la concentración máxima de xilitol **máximo** se obtuvo a las 48 horas de fermentación mientras que el etanol tuvo su máximo valor alrededor de las 50 horas.

### 3.1.2. Estimación de los parámetros

Se realizó la estimación de parámetros en el modelo reducido presentado en donde solo se consideró a la xilosa y la arabinosa como sustratos y al xilitol como único producto del proceso además de considerar el crecimiento de la biomasa. La figura 3.3 muestra los perfiles dinámicos del consumo de xilosa y arabinosa, así como la producción de xilitol y biomasa obtenidos con el modelo propuesto y su comparación con los datos experimentales. Se puede notar que los coeficientes de determinación  $R^2$  para todos los casos son mayores al 95%, lo cual indica que es posible describir la dinámica del proceso de producción de xilitol con estas condiciones de operación y configuración de reactor.



**Figura 3.3.** Perfiles de concentración para el hidrolizado de semilla de olivo sin glucosa.

La Tabla 3.3 presenta los parámetros del modelo estimados, los cuales son correspondientes con los reportados en la literatura, es decir, son el mismo orden de magnitud. Nótese que, los parámetros  $K_{Sx}$  y  $Y_{Px/Sa}$ , difieren de los valores reportados en la literatura debido a las diferentes configuraciones de reactor con las que fueron obtenidos, también cada microorganismo consume los sustratos de diferente manera.

**Tabla 3.3.** Estimación de parámetros para la fermentación de semilla de olivo

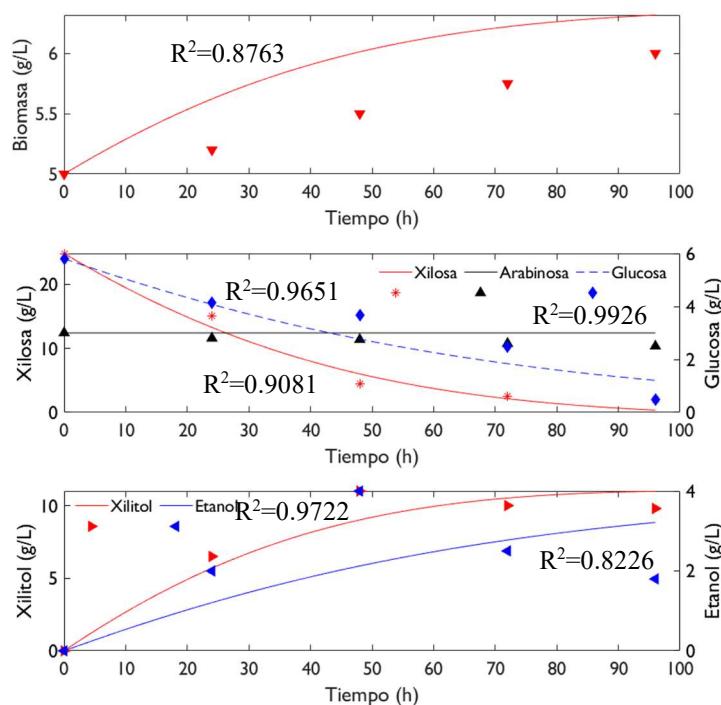
Parámetro	Unidades	Valor	Reportado	Referencia
$K_{Sx}$	g/L	161.97	3.35	Dasgupta <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{x/Sx}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.03179	0.035	Chen <i>et al.</i> , (2006)
$K_{Sa}$	g/L	15.8898	13.4	Dasgupta <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{x/Sa}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sa</sub>	0.1938	0.08	Farias <i>et al.</i> (2013)
$Y_{Px/Sa}$	g <sub>Px</sub> /g <sub>Sa</sub>	0.0022	0.1222	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{Px/Sx}$	g <sub>Px</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.5128	0.242	Chen <i>et al.</i> , (2006)
$\mu_{max1}$	1/h	0.0296	0.029	Chen <i>et al.</i> , (2006)
$\mu_{max3}$	1/h	0.0040	0.051	Wisselink <i>et al.</i> , (2007)

De igual manera se evaluó la fermentación utilizando hidrolizados de residuos de trigo y arroz a partir de los datos experimentales reportados por Bedö *et al.*, (2020) y se realizó la estimación paramétrica del modelo en donde el efecto del oxígeno no fue considerado debido a la saturación en el sistema. Para este caso de estudio no hay variaciones de temperatura ni agitación, es un único experimento. Los parámetros estimados se reportan en la Tabla 3.4, estos valores son similares a los reportados en la literatura con excepción de algunas constantes de saturación que varían dependiendo del género del microorganismo utilizado y su afinidad con el hidrolizado utilizado y el medio de inoculación preparado.

**Tabla 3.4.** Estimación de parámetros para un hidrolizado de cáscara de trigo

$K_{Sx}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sx</sub>	$K_{Sg}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sg</sub>	$K_{Sa}$	$Y_{x/Sa}$	$Y_{Px/Sa}$	$Y_{Px/Sx}$	$Y_{Pe/Sx}$	$\mu_{max1}$	$\mu_{max2}$	$\mu_{max3}$
390.8	0.033	134.8	0.1321	408	0.003	0.0093	1.5388	0.7190	0.0221	0.0708	0.0036

A partir de los datos estimados se realiza la simulación del proceso y comparación con los datos experimentales reportados en la literatura, los datos en general tienen un ajuste bueno con  $R^2$  mayores al 90% con desviaciones en la curva de la biomasa en donde el coeficiente disminuye a un valor de 0.8763, esto se puede atribuir a que en los sets experimentales la biomasa tiene un crecimiento muy pequeño y en este tipo de procesos se ha reportado un crecimiento más grande (Kumar *et al.*, 2014), las condiciones de operación del medio de cultivo reportan que contienen compuestos como hidroximetilfurfural y compuestos fenólicos los cuales es sabido que causa inhibición en el crecimiento microbiano como lo reportan autores como Ur-Rehman *et al.*, (2013) y Rao *et al.*,(2006), a pesar de las etapas de detoxificación previas, pequeñas cantidades restantes pueden producir este efecto negativo en la fermentación. La figura 3.4 muestra los perfiles obtenidos para este caso de estudio. Las curvas que representan el consumo de sustratos presentan  $R^2 > 0.90$  mientras que las correspondientes a los productos la curva que representa el etanol tiene una desviación con un  $R^2$  de 0.8226. Con base en estos resultados se puede comprobar que el modelo puede particularizarse y usar en diferentes casos de estudio donde se realicen fermentaciones para la producción de xilitol utilizando hidrolizados provenientes de residuos agroindustriales.

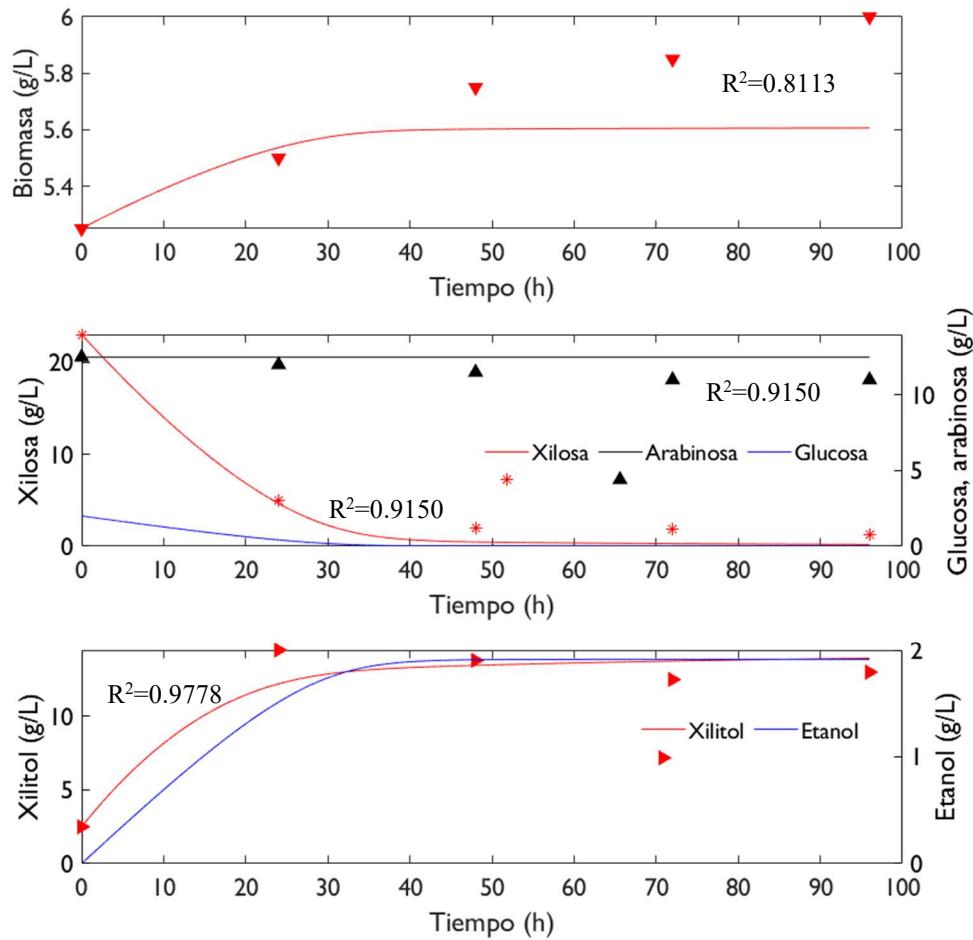


**Figura 3.4.** Perfiles de concentración estimados para el hidrolizado de cáscara de arroz.

Por otro lado, se evaluaron las variables que no se habían contemplado como la producción de etanol, la figura 3.5 muestra el ajuste que el modelo tiene con los datos experimentales. Los coeficientes de  $R^2$  superan los valores de 0.95 exceptuando el caso de la biomasa para este experimento. Los datos reportados en la Tabla 3.5 corresponden a la estimación paramétrica para este set experimental, los datos se encuentran en el rango reportado en la literatura.

**Tabla 3.5.** Parámetros estimados para el hidrolizado de semilla de olivo con glucosa.

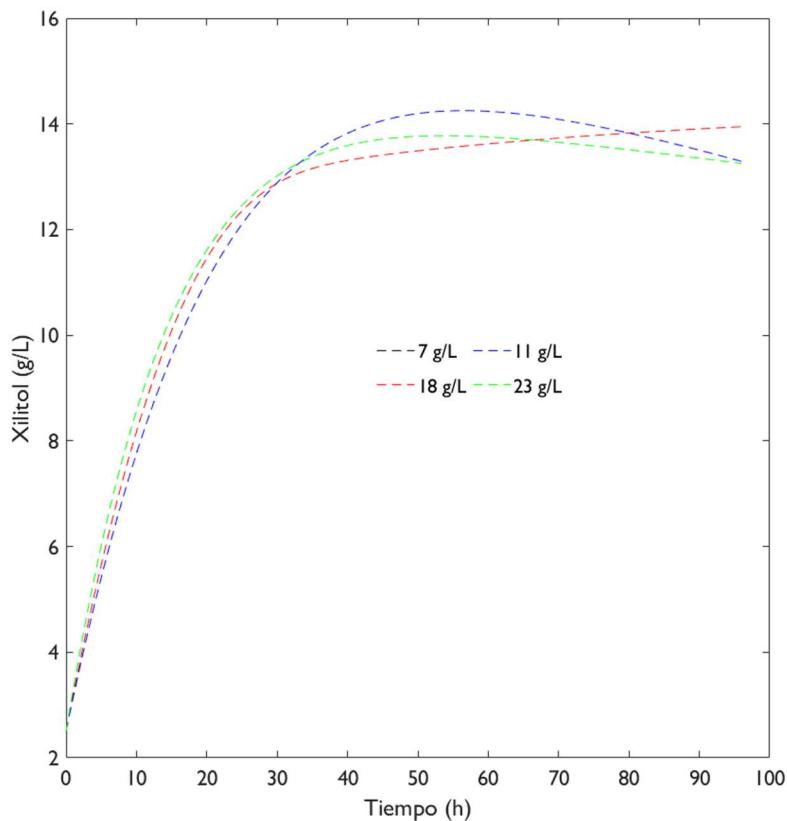
$K_{Sx}$	$g_x/g_{Sx}$	$K_{Sg}$	$g_x/g_{Sg}$	$K_{Sa}$	$Y_{x/Sa}$	$Y_{Px/Sa}$	$Y_{Pe/Sx}$	$\mu_{max1}$	$\mu_{max2}$	$\mu_{max3}$	
236.7	0.0318	3.1993	0.0023	141	0.0250	0.00057	0.502	1.2498	0.0997	234.358	0.0010



**Figura 3.5.** Perfiles de concentración para un hidrolizado de semilla de olivo con glucosa en su composición.

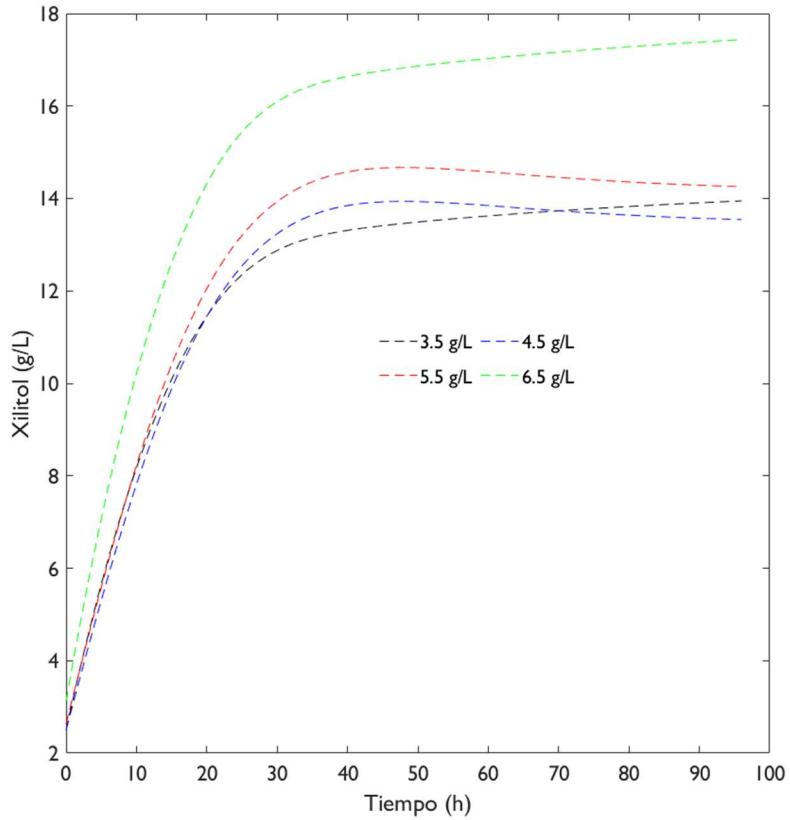
### 3.1.3. Evaluación de condiciones de operación

Se realizó una variación de los parámetros que el modelo permite, tales como la concentración inicial de xilosa y la concentración inicial de biomasa, como se muestra en la figura 3.6 y 3.7, en donde se observa que para el caso de la concentración inicial de xilosa en valores que van desde los 10 g/L hasta los 35 g/L se tienen rendimientos similares mientras que en valores mayores de 40 g/L el modelo presenta variaciones para predecir el perfil de concentración de xilitol, sin embargo, los hidrolizados de residuos agroindustriales no suelen tener concentraciones mayores a 40 g/L, González-Sánchez *et al.*, (2014) reportan concentraciones similares a las que fueron evaluadas. Por otro lado, de acuerdo con autores como Chen *et al.*, (2006) y Carvalho *et al.*, (2005) reportan que los valores adecuados para la concentración inicial de biomasa está en los valores que van de 2 g/L hasta 6 g/L, de acuerdo con el modelo matemático los mejores rendimientos se encuentran en valores que



**Figura 3.6.** Perfil de concentración de xilitol para distintos valores de concentración de xilosa

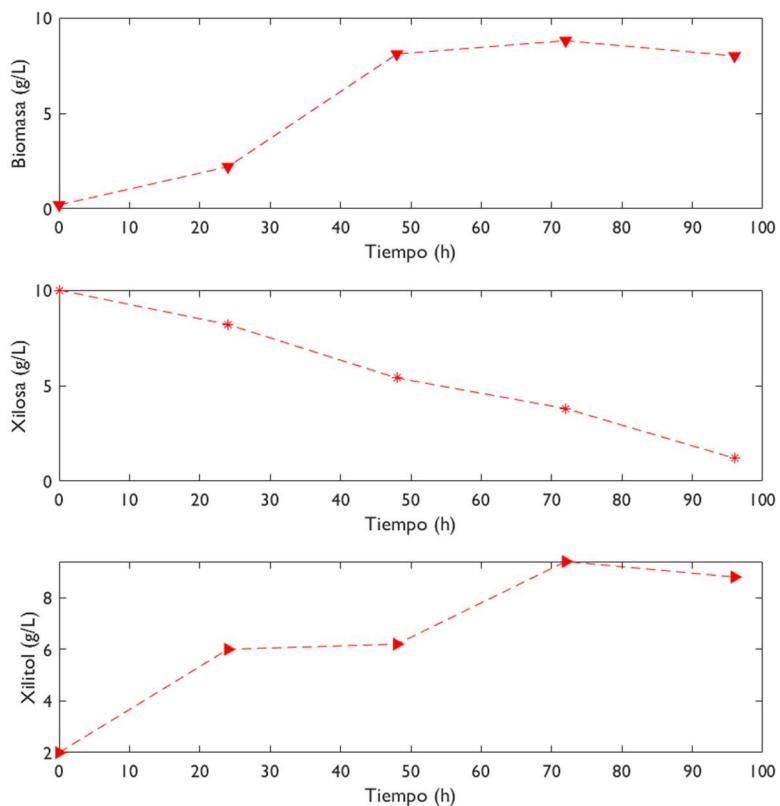
van de 5.5 – 6.5 g/L teniendo correspondencia con lo reportado en la literatura. En la estimación paramétrica donde se tuvieron coeficientes de correspondencia más bajos fue con el crecimiento de la biomasa debido a la baja producción obtenida, estas predicciones por parte del modelo servirán como punto de partida para la planeación de nuevos experimentos y así buscar encontrar la maximización del xilitol y lograr una estimación más adecuada. Con base en los resultados anteriores, pudo ser comprobado que el modelo se puede particularizar para el uso de hidrolizados de distinta naturaleza como lo son los de semillas de olivo, trigo y arroz, así como microorganismos del género *Candida*, también se pudo observar que puede predecir de manera adecuada la fermentación y que los valores reportados coinciden con los reportados en la literatura.



**Figura 3.7.** Perfil de concentración de xilitol para distintos valores de concentración inicial de biomasa.

### 3.2 Hidrolizado de mazorca de maíz y *Pichia sp*

Para este caso de estudio Jeevan *et al.*, (2011) presentan la producción de xilitol por medio de la fermentación de hidrolizados provenientes de mazorcas de maíz, utilizando la levadura *Pichia sp*. Los experimentos se realizaron bajo diferentes condiciones de temperatura, agitación y pH en un tiempo de 72 horas. El proceso fue llevado a cabo en un reactor por lotes con agitación continua. Las concentraciones de xilitol fueron determinadas por medio de HPLC. Las variaciones de temperatura fueron de 28-36 °C con intervalos de 4 °C mientras que para la agitación fueron valores de 100-200 rpm con intervalos de 50 rpm, finalmente las variaciones de pH fueron desde 4-6 con intervalos de 1. Las mediciones solo consideran el crecimiento de la biomasa, el consumo de la xilosa y la producción de xilitol como único producto de la fermentación.



**Figura 3.8.** Datos experimentales para la fermentación de un hidrolizado de mazorca de maíz

### 3.2.1 Reducción del modelo

Para el presente trabajo se evaluaron los experimentos con las variaciones de temperatura y pH. La reducción del modelo se realiza considerando: i) xilosa como sustrato, ii) la producción de xilitol como único producto, iii) la cinética del xilitol se reduce ya que al no tener arabinosa su contribución se ve descartada en el modelo, iv) los balances de oxígeno no serán considerados y la cinética de la biomasa solo tendrá la contribución de la xilosa, contando con 4 parámetros a estimar y 3 variables de estado. Por lo tanto, para este caso de estudio las ecuaciones (2.1) - (2.11) se ven reducidas a:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_1 X \quad (3.7)$$

$$\frac{dS_x}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S_x}} \mu_1 X \quad (3.8)$$

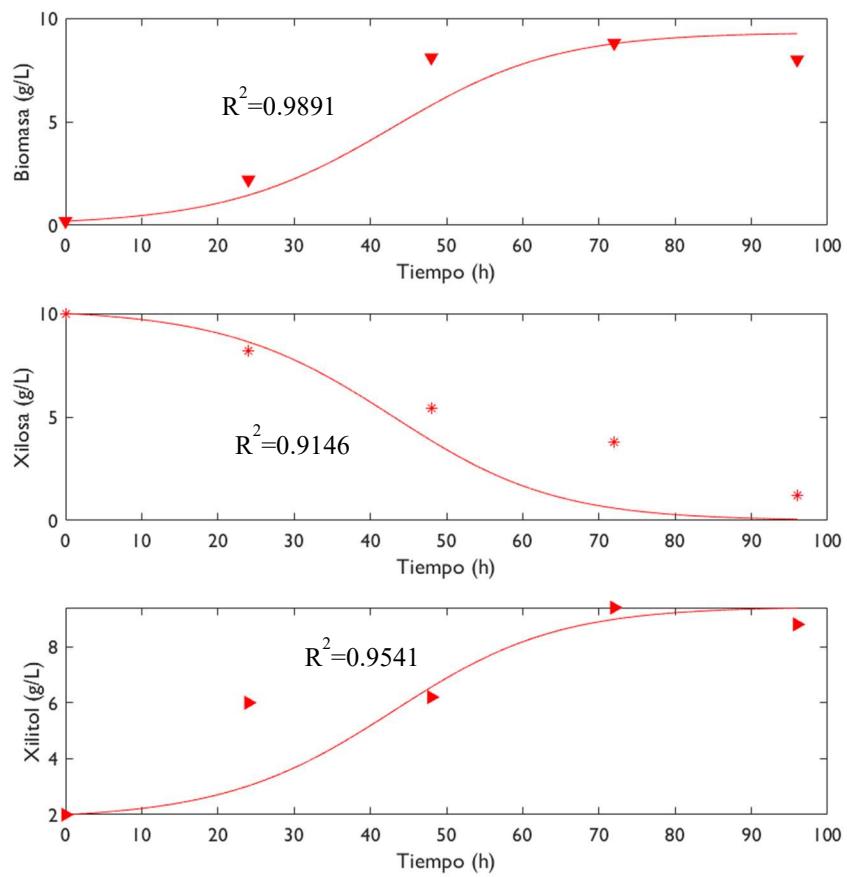
$$\frac{dP_x}{dt} = \frac{Y_{P_x/S_x}}{Y_{x/S_x}} \mu_1 X + \frac{Y_{P_x/S_A}}{Y_{x/S_A}} \mu_3 X \quad (3.9)$$

### 3.2.2 Estimación de parámetros

En términos generales se encuentran valores de correspondencia mayores de 0.9 en donde el valor máximo se encuentra en la correspondencia con el xilitol de 0.9891, los valores obtenidos para los coeficientes de rendimiento del consumo de xilosa y de la producción de xilitol coinciden con los reportados en la literatura mientras que la constante de saturación de la ecuación de Monod y la  $\mu_{max1}$  tienen variaciones debido a las condiciones en las que se realizó el experimento, esto es presentado en la Tabla 3.6.

**Tabla 3.6.** Parámetros estimados para hidrolizado de mazorca de maíz a 28 °C

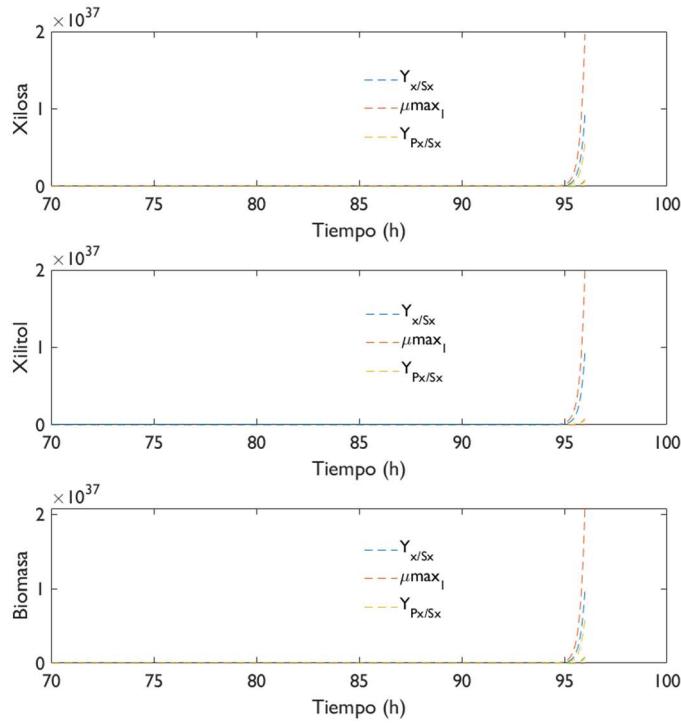
Parámetro	Unidades	Valor	Reportado	Referencia
K <sub>sx</sub>	g/L	202.6759	30.774	Dorantes et al., (2020)
Y <sub>x/Sx</sub>	g <sub>x</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.913457	0.4126	Mohamad et al., (2016)
Y <sub>Px/Sx</sub>	g <sub>Px</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.839204	0.771	Bautista., (2019)
$\mu_{max1}$	1/h	1.85425266	0.1611	Dorantes et al., (2017)



**Figura 3.9.** Dinámica de biomasa, xilosa y xilitol para hidrolizado de mazorca de maíz.

### 3.2.3 Análisis de sensibilidad

Realizando el análisis de sensibilidad (figura 3.10) para obtener los parámetros más sensibles en el proceso se obtiene que la  $\mu_{max_1}$  es el parámetro más sensible mientras que el coeficiente de rendimiento del consumo de xilosa también es un parámetro sensible en menor medida, los otros parámetros de la fermentación según el análisis de sensibilidad no son significativos , por lo que se podrá mantener constante estos parámetros ya que no existe mucha variación a pesar de cambiar las condiciones de operación.



**Figura 3.10.** Análisis de sensibilidad para un hidrolizado de mazorca de maíz.

A partir de esto también se buscará incluir el efecto de la temperatura y el pH al modelo matemático ya que esta variable no había sido considerada en los parámetros del sistema. Para realizar esto se proponen funciones polinomiales de segundo orden.

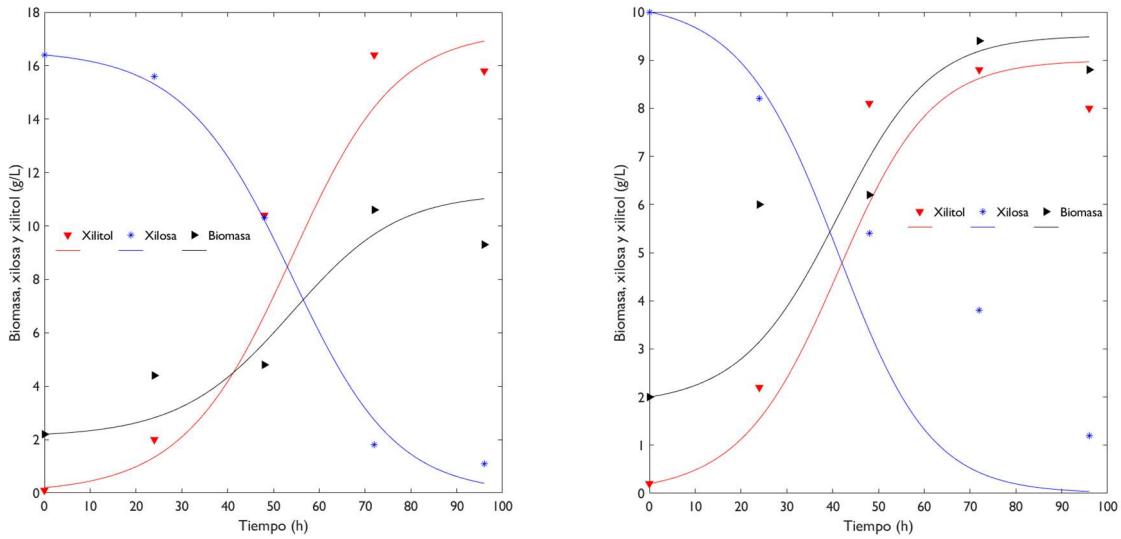
$$f(X) = aX^2 + bX + c$$

Donde  $f(X)$  representa los parámetros del modelo,  $a$ ,  $b$  y  $c$  son parámetros constantes para estimar: con base en el análisis de sensibilidad, se propusieron funciones para temperatura y pH con forma  $\mu_{\max 1} = aT^2 + bT + c$  y  $Y_{p_x/S_x} = a_1 pH^2 + b_1 pH + c_1$ . Se realizó la estimación de los parámetros necesarios y se incorporaron en el modelo generalizado para posteriormente evaluar el comportamiento del modelo incluyendo el efecto de estas dos variables. Los parámetros estimados se presentan en la Tabla 3.7.

**Tabla 3.7.** Parámetros estimados para las funciones de temperatura y pH.

Parámetro	a	b	c
$\mu_{\max 1}$	-0.1822	11.53	-178.1

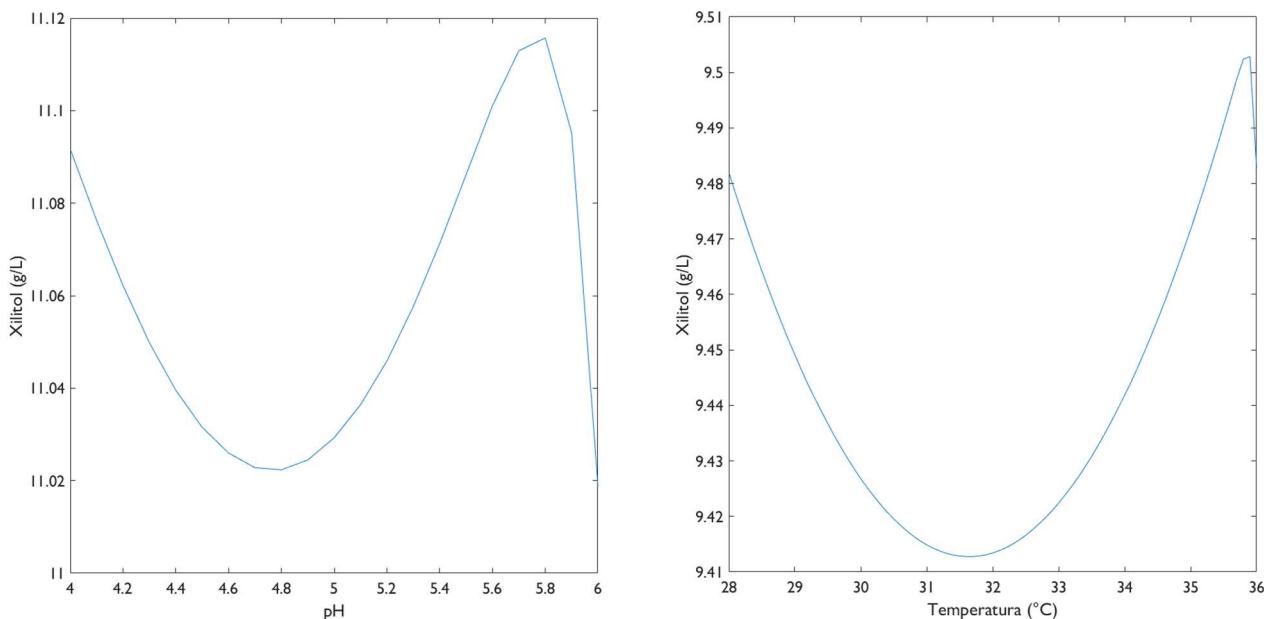
YPx/Sx	-0.2865	2.732	-5.283
--------	---------	-------	--------



**Figura 3.11.** Dinámica de la fermentación de un hidrolizado de mazorca de maíz incluyendo efectos de temperatura y pH

De acuerdo con la figura 3.11 Las correspondencias con el consumo de xilosa y producción de xilitol cuentan con valores adecuados de coeficiente de determinación, para terminar de evaluar este caso de estudio, se realiza una evaluación desde los 28 hasta los 36 °C (figura 3.12) para encontrar el punto donde se consiga la máxima producción siendo en los 35.5 °C, este valor coincide con el reportado por Bautista., (2019) en donde la temperatura ideal es de 35 °C para un hidrolizado de planta de plátano y *Pichia stipitis*, también Cao *et al.*, (1994) y Philasaphong *et al.*, (2014) reportan valores de temperatura de 35-37 °C en donde se obtiene la mayor producción de xilitol. Haciendo caso análogo para el pH se buscó encontrar el punto de pH óptimo para el hidrolizado de mazorca de maíz, se realizó un barrido en valores que van de 4-6 de pH encontrando que en valores de 5.4-5.6 se tiene la mejor producción de xilitol, por ejemplo, Dominguez *et al.*, (1999) reporta un valor de 5 como el adecuado y Bautista., (2019) reporta un valor de pH de 5.5 para favorecer la producción de xilitol. Estos valores tienen correspondencia entre sí y están en los adecuados para levaduras del género *Candida* y *Pichia*. Por lo anterior podemos corroborar que el modelo generalizado antes

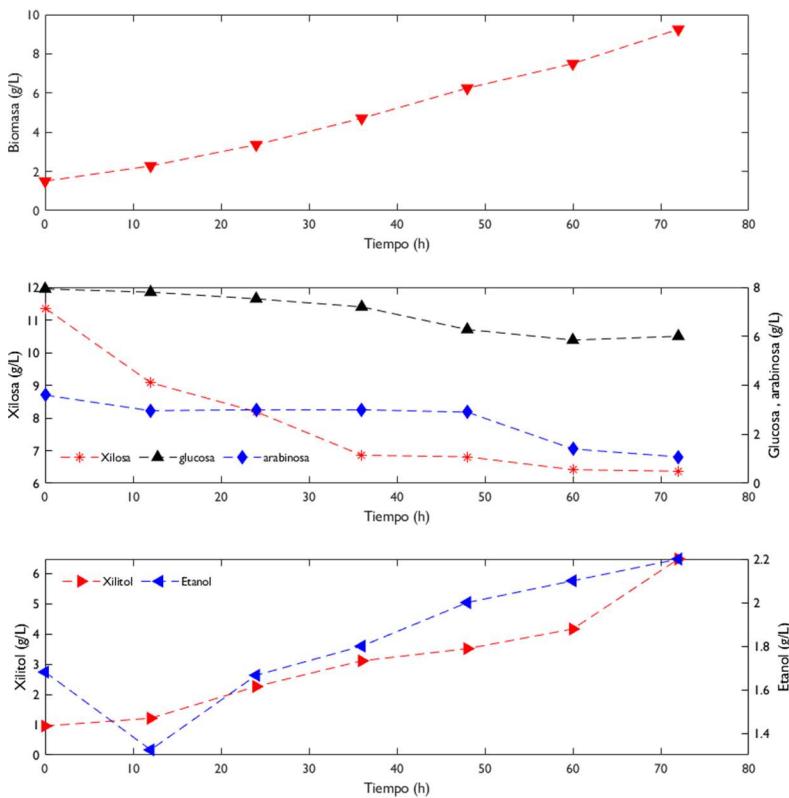
propuesto puede predecir de manera adecuada las condiciones de operación para variables que antes no se habían considerado como la temperatura y la acidez.



**Figura 3.12.** Simulación de pH y temperatura en un intervalo de 4-6 y 28-36 °C.

### 3.3. Hidrolizado de planta del plátano y *Pichia stipitis*

La fermentación de la planta del plátano la realizó Bautista (2019). Utilizó como principal sustrato tallo de plantaciones de plátano y como microorganismo *P. stipitis*. Se realizaron fermentaciones de 72 horas y la determinación de los compuestos de interés fue llevada a cabo por medio de HPLC. La fermentación contempló tres condiciones de temperatura (30, 35 y 40 °C) y tres de agitación de (100, 150 y 200 rpm) contando con 9 sets experimentales. Se ajustó el pH a 5.5 y se mantuvo el volumen constante a lo largo del proceso. Se realizaron mediciones cada 12 horas hasta un tiempo máximo de 72 horas. La representación de los datos experimentales se presenta en la Figura 3.13



**Figura 3.13.** Mediciones experimentales para la fermentación de un hidrolizado de la planta del plátano considerando el crecimiento de la biomasa y los sustratos y productos generados.

### 3.3.1. Reducción del modelo

Para el presente trabajo se evaluaron los experimentos con las variaciones de temperatura y agitación. El planteamiento del modelo se realiza considerando: i) xilosa, glucosa y arabinosa como sustratos, ii) la producción de xilitol y etanol, iii) los balances de oxígeno serán evaluados y iv) la cinética de la biomasa tendrá la contribución de los 3 azúcares, contando con 13 parámetros a estimar y 7 variables de estado. Tomando las ecuaciones (2.1) - (2.11) las cuales representan el modelo matemático propuesto se retoma en su totalidad para realizar la evaluación.

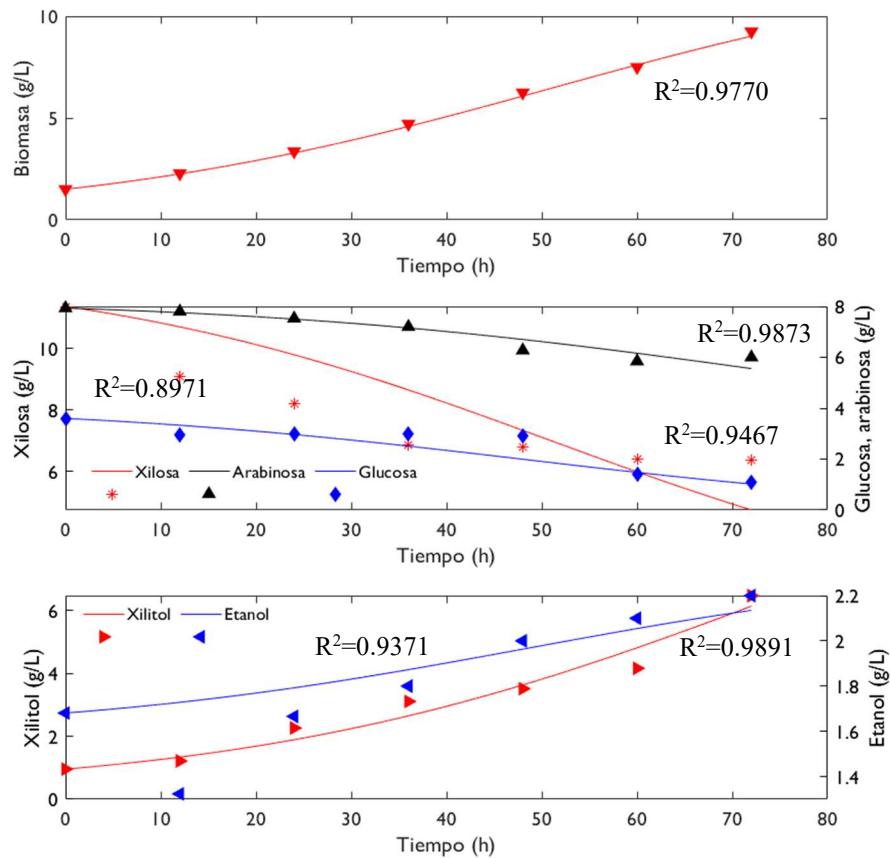
### 3.3.2. Estimación paramétrica

Utilizando los datos reportados por Bautista (2019) para concentración de biomasa, xilosa, glucosa, arabinosa, xilitol y etanol se realizó la estimación de los parámetros del sistema. La Tabla 3.8 reporta los datos obtenidos por el modelado, así como su comparación con lo reportado en la literatura por diversos autores. Los valores estimados se encuentran en el rango de los reportados por autores como Carvalho *et al.*, (2005), Mohamad *et al.*, (2016), Dorantes *et al.*, (2017) y Bautista (2019). Existen diferencias en algunos parámetros como lo es  $\mu_{max1}$  debido a que las condiciones de operación, así como el género del microorganismo utilizado fueron diferentes, de igual manera  $Y_{x/SG}$  es un parámetro que se ve afectado y se puede atribuir a que *P. stipitis* no consume de igual manera glucosa como lo harían microorganismos del género *Candida*.

**Tabla 3.8.** Parámetros estimados para la corrida experimental a 35°C y 150 rpm.

Parámetro	Unidades	Valor	Reportado	Referencia
$K_{Sx}$	g/L	102.0522	110.42	Carvalho <i>et al.</i> , (2005)
$Y_{x/Sx}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sx</sub>	1.1563	0.111	Luong <i>et al.</i> , (1986)
$K_{Sg}$	g/L	25.4347	5.0456	Carvalho <i>et al.</i> , (2005)
$Y_{x/SG}$	g <sub>x</sub> /g <sub>SG</sub>	2.5082	0.12	Mohamad <i>et al.</i> , 2016
$K_{Sa}$	g/L	11.0237	9.994	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{x/Sa}$	g <sub>x</sub> /g <sub>Sa</sub>	0.0455	0.01510	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{Px/Sa}$	g <sub>Px</sub> /g <sub>Sa</sub>	2.1941	0.1222	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{Px/Sx}$	g <sub>Px</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.7	0.771	Bautista (2019)
$Y_{PE/Sg}$	g <sub>PE</sub> /g <sub>Sx</sub>	0.1577	0.1026	Carvalho <i>et al.</i> , (2005)
$\mu_{max1}$	1/h	0.185	0.1611	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$\mu_{max2}$	1/h	0.3017	0.2935	Carvalho <i>et al.</i> , (2005)
$\mu_{max3}$	1/h	0.0008048	0.00092	Dorantes <i>et al.</i> , (2017)
$Y_{x/O_2}$	g <sub>x</sub> /g <sub>O<sub>2</sub></sub>	0.3884	0.52	Mohamad <i>et al.</i> , 2016

Los perfiles de concentración ajustados por medio del modelado matemático y comparado con los datos experimentales se muestran en la figura 3.14 en donde se observa que el coeficiente de determinación  $R^2$  es superior a 0.89 en todos los casos indicando que el modelo matemático predice de manera adecuada la fermentación del hidrolizado de planta del plátano y *P. stipits*.



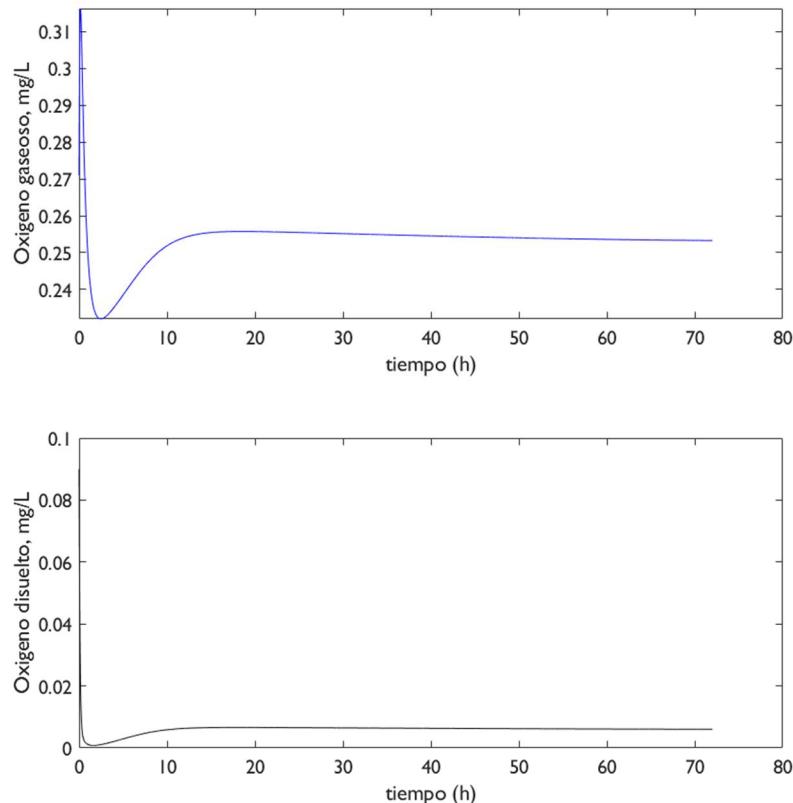
**Figura 3.14.** Dinámicas del modelo matemático para biomasa, sustratos y productos del sistema.

los coeficientes de rendimiento nos indican la relación que hay en los productos generados (biomasa, xilitol y etanol) por el consumo de materia (biomasa, xilosa, glucosa y arabinosa), estos valoren se espera que tengan variaciones debido a que la cantidad de microorganismo varía entre experimentos.

### 3.3.3. Efecto del oxígeno

A partir de las ecuaciones (2.1) - (2.11) se modeló el efecto del oxígeno en el fermentador y en la fase líquida del mismo. El coeficiente de rendimiento del oxígeno fue parte de la

estimación de los parámetros mientras que valores como la tasa de transferencia de oxígeno ( $K_{La}$ ) fue tomada de los reportados en la literatura. El flujo de aire se consideró de una bomba de aire comercial y la concentración del oxígeno a la entrada fue calculada por medio de la ecuación del gas ideal.



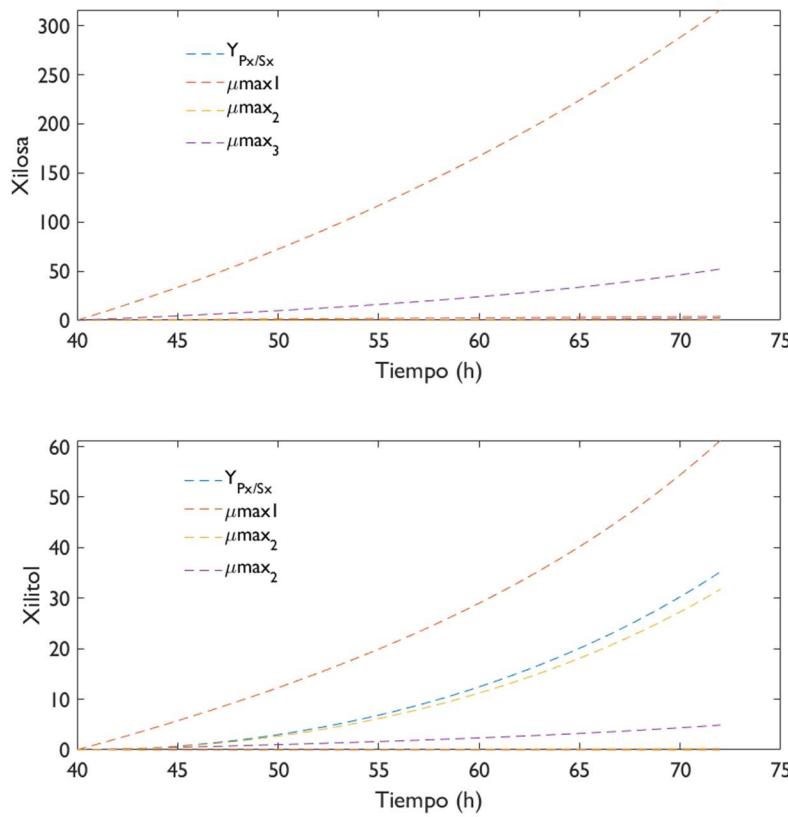
**Figura 3.15.** Perfiles de oxígeno gaseoso y disuelto para la fermentación a 35 °C y 150 rpm

Finalmente se consideró saturación en el sistema al inicio del proceso con una concentración de 0.009 g/L. El coeficiente de rendimiento de xilitol  $Y_{Px/Sx}$ , se modeló como una línea recta en donde a mayor saturación el rendimiento de xilitol se vería disminuido. La figura 3.15 muestra el comportamiento del oxígeno en ambas fases, en la fase gaseosa se observa un pequeño aumento en la concentración en las primeras horas para posteriormente comenzar a disminuir por efecto del crecimiento microbiano por otro lado el oxígeno disuelto se consume en el sistema que estaba en saturación en un inicio hasta el punto de consumo total alrededor

de las 3 horas de fermentación, a partir de las 10 horas se empieza a observar el incremento en la concentración en ambas fases indicando la disminución en consumo por parte del microorganismo. Considerando el efecto del oxígeno en el sistema el coeficiente de rendimiento de xilitol estimado fue de 0.7 mientras que en el caso contrario se obtuvieron valores superiores a 1 mostrando el efecto que se tiene sobre este parámetro el no mantener la saturación del sistema a lo largo del proceso. Esto se puede describir ya que en condiciones de no saturación del sistema la ruta oxidativa se ve limitada causando una acumulación de NADH evitando que la enzima xilosa reductasa produzca el xilitol en el sistema, Este comportamiento hace sentido ya que el oxígeno es utilizado principalmente para el crecimiento de la biomasa, reducir estos consumos de oxígeno llevarían a un incremento en la producción de xilitol. (Mohamad *et al.*, 2016).

### **3.3.4. Análisis de sensibilidad**

Se realizó un análisis de sensibilidad paramétrica sobre las variables de estado del sistema, en donde para el caso de la biomasa se observa que  $\mu_{max2}$  es el parámetro más sensible y para el caso de la xilosa la  $\mu_{max1}$  y  $\mu_{max3}$  se observan como los parámetros más importantes siendo caso análogo para el xilitol. La figura 3.16 muestra la sensibilidad obtenida, por otro lado, para la dinámica de la biomasa las tasas de crecimiento máximas  $\mu_{max1}$ ,  $\mu_{max2}$  y  $\mu_{max3}$  son los parámetros más sensibles en esta variable siendo la correspondiente a la arabinosa la que más influencia tienen sobre esta variable, de igual manera, el coeficiente de rendimiento  $Y_{Px/Sa}$  también demostró una sensibilidad alta para esta fermentación y la configuración del reactor correspondiente, principalmente para el consumo de la xilosa. En la tabla 3.9 se presentan los parámetros estimados para las funciones respuesta, estos valores se pudieron obtener a partir del método de LM y así encontrar un ajuste óptimo para posteriormente incluirlas dentro del modelado.



**Figura 3.16.** Análisis de sensibilidad para el xilitol y la xilosa.

### 3.3.5 Producción de xilitol incorporando efectos de temperatura y agitación

De acuerdo con el análisis de sensibilidad realizado los parámetros que mostraron una sensibilidad más alta fueron seleccionados para introducir el efecto de la temperatura y la agitación a partir de funciones generadas. A partir de esta información se buscó generar funciones que puedan incluir el efecto de la temperatura y la agitación para este proceso ya que no se había considerado dentro del modelado anteriormente presentado. Estas funciones tienen como estructura la Ec. (3.10)

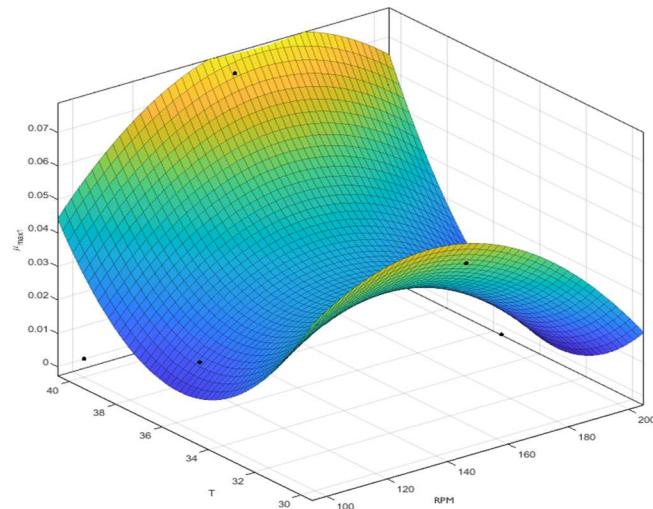
$$f(x, y) = p_{00} + p_{10}X + p_{01}Y + p_{20}X^2 + p_{11}XY + p_{02}Y^2 \quad (3.10)$$

Dependiendo del ajuste con los datos experimentales algunos términos pudieron ser despreciados.

En donde

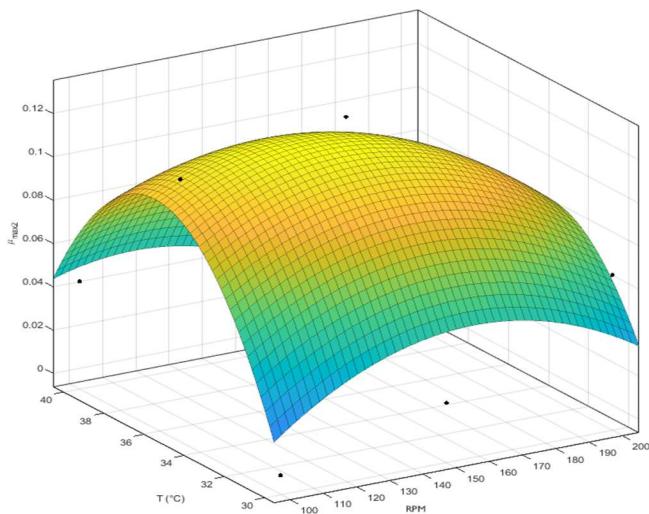
**Tabla 3.9.** Parámetros estimados para la función respuesta.

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
$p_{00}$	0.3631	$p_{00}$	0.138
$p_{10}$	-0.0024	$p_{10}$	-0.0128
$p_{01}$	-0.01558	$p_{01}$	-0.00652
$p_{20}$	0.0001573	$p_{20}$	0.0008308
$p_{11}$	2.864e-07	$p_{11}$	-3.11e-07
$p_{02}$	0	$p_{02}$	-1.081e-05



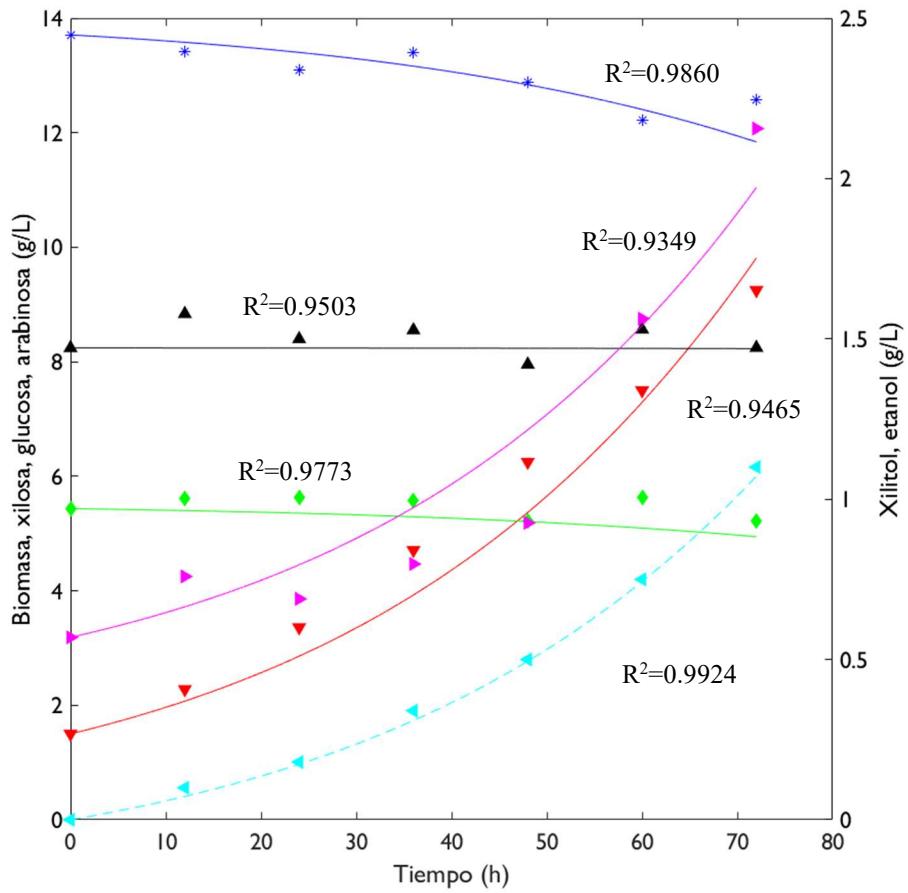
**Figura 3.17.** Función para el modelo generalizado correspondiente a  $\mu_{\max 1}$

Caso análogo se realizó para la  $\mu_{\max 3}$  y el  $Y_{P_X/S_A}$ , las funciones tuvieron ajustes adecuados y a partir de estas se realizó la simulación incluyéndolas en el modelado para observar el rendimiento del modelo generalizado en el ajuste con los efectos de la temperatura y pH incluidos. La figura 3.20 muestran la simulación de un caso incluyendo las funciones respuesta propuestas para el modelo generalizado.



**Figura 3.18.** Función para el modelo generalizado correspondiente a  $\mu_{\max 2}$

Una vez determinados los coeficientes de las funciones respuesta, así como los del modelo generalizado se evaluó que el modelo pudiera representar el proceso dinámico descrito en los sets experimentales. Se observan altos coeficientes de determinación ( $R^2 > 0.90$ ), indicando que el modelo generalizado propuesto pueda estimar con precisión el comportamiento de las variables del proceso en la fermentación para la producción de xilitol ya con los efectos de temperatura y agitación en su planteamiento. Como se muestra en la Tabla 3.10 los valores estimados en este trabajo coinciden con algunos reportados en la literatura, así como los evaluados anteriormente sin la inclusión del efecto de la temperatura y la agitación. Sin embargo, para cada set experimental evaluado, existen variaciones por las condiciones de operación en los experimentos, sin embargo, el modelo propuesto ya incluye efectos de variables como la temperatura y la agitación a diferencia de las propuestas en la literatura que no considera estos fenómenos.



**Figura 3.19.** Dinámica de las variables del proceso a condiciones de operación de  $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RPM}=150$

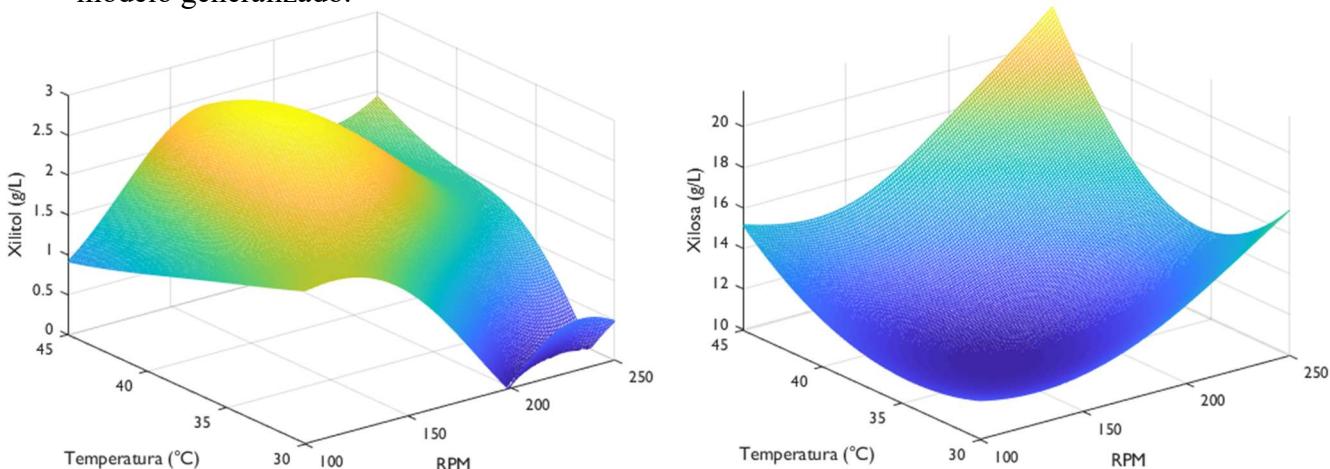
El modelo generalizado ajusta de manera adecuada en el rango en el cual se trabajó ( $T=30\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y ( $\text{rpm}=100\text{--}200$ ), las simulaciones a  $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $\text{RPM}=150$  fue donde se tuvo un mejor ajuste en general como se observa en la figura 3.19. Por otro lado, se buscará identificar la región donde se favorece la producción de xilitol y el consumo de la xilosa, evaluando en un rango de temperatura y agitación de  $30 \leq T \leq 45$  y  $100 \leq \text{RPM} \leq 250$  y un tiempo de 72 h, siendo el mismo que se realizó en la fermentación experimentalmente.

**Tabla 3.10.** Parámetros estimados para 3 sets experimentales incluyendo las funciones respuesta

Parámetro	$T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{RPM}=100$	$T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{RPM}=150$	$T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{RPM}=200$
$K_{Sx}$	206.1234	59.51865789	35.41093961

$Y_{x/Sx}$	0.13246	1.133662071	1.282019281
$K_{Sg}$	110.5134073	11.27607768	32.54927099
$Y_{x/Sx}$	0.05411282	1.99138978	0.0441963382
$K_{Sa}$	217.2350282	49.48132463	2.231986348
$Y_{x/Sa}$	0.007793506	0.105871047	4.117156571
$Y_{Px/Sa}$	1.2874	2.5954	3.9034
$Y_{Px/Sx}$	2.169676334	0.242106875	0.711768932
$Y_{PE/Sg}$	0.480150246	0.205538487	0.2864715
$\mu_{max1}$	0.0417	0.0581	0.0601
$\mu_{max2}$	0.0886	0.1202	0.0068
$\mu_{max3}$	0.0012	0.0063	0.0095
$Y_{x/O_2}$	1.001245	0.32	1.41284

De acuerdo con el modelo generalizado, se observa en la figura 3.20 que las condiciones en donde se favorece la producción de xilitol y el consumo de xirosa son  $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $rpm=175$ , de acuerdo con lo reportado por Bautista., (2019) está en los valores cercanos. Por otro lado, autores como Zhu *et al.* (2014) y Ping *et al.* (2013) reportan que las zonas óptimas de trabajo están alrededor de los  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $rpm$  de 200 siendo valores cercanos a los obtenidos por el modelo generalizado.



**Figura 3.20.** Simulación del proceso de producción de xilitol en un intervalo de  $30 \leq T \leq 45$  y  $100 \leq RPM \leq 250$  en 72 h, a) Producción de xilitol y b) Consumo de xylosa.

# **Capítulo 4**

## **Conclusiones**

En el presente trabajo se propuso y evaluó un modelo matemático simple y generalizado para la adaptación a diferentes casos de estudio los cuales consideraron distintos residuos agroindustriales como la cáscara de arroz, la semilla de olivo, trigo y la planta del plátano. El modelo consideró a los principales sustratos presentes en los hidrolizados de carácter lignocelulósicos, así como los productos más característicos de esta fermentación permitiendo incluir el uso de una amplia gama de sustratos con diferentes características. A partir de las simulaciones numéricas y la estimación de los parámetros por el método de Levenberg-Marquardt se observó una predicción adecuada de los datos experimentales para todos los casos evaluados obteniendo coeficientes de correspondencia de  $R^2$  mayores a 0.90, por otro lado, se puede describir que:

- La propuesta del modelo matemático para evaluar distintos hidrolizados de residuos lignocelulósicos resulta adecuado para evaluar las fermentaciones, obteniendo coeficientes de determinación de  $R^2 > 0.90$  para prácticamente todos los casos de estudio teniendo variaciones en pocos casos.
- El modelo presentado permite la inclusión de efectos de temperatura, pH y agitación obteniendo comportamientos equivalentes a cuando no se está evaluando, permitiendo tener un modelo más completo.
- El análisis de sensibilidad mostró que es posible establecer condiciones de mejoría para la obtención de xilitol evaluando condiciones como las concentraciones iniciales de xilosa y biomasa.
- El modelo generalizado permite la evaluación de regiones de operación para encontrar condiciones óptimas que maximicen la producción de xilitol.

#### **4.1 Perspectivas**

- Para el primer caso de estudio realizar experimentos para comprobar la predicción que el modelo realiza sobre las variables de estado que no fueron medidas.
- Para el segundo caso de estudio determinar la concentración inicial de biomasa que maximice la producción de xilitol y evaluar las condiciones de pH y temperatura donde se obtiene la mayor concentración de xilitol.
- Para el tercer caso de estudio realizar experimentos con las condiciones de temperatura y agitación que el modelo predice para la maximización de la concentración de xilitol y evaluar un rango mayor para estas variables.

## Bibliografía

- Affleck, R.P. (2000). *Recovery of xylitol from fermentation of model hemicellulose hydrolysates using membrane technology*. Blacksburg, Virginia
- Agblevor, F. A., Batz, S., & Trumbo, J. (2003). *Composition and ethanol production potential of cotton gin residues*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 105 -108, 219–230.
- Aguiar, W. B., Faria, L. F. , Couto, M. A. P. , Araujo, O. Q. , & Pereira, N. (2002). *Growth model and prediction of oxygen transfer rate for xylitol production from d-xylose by C. guilliermondii*. *Biochemical Engineering Journal*, 12(1), 49–59.
- Albuquerque TLD, Jr IJDS, Macedo GRD, Rocha MVP (2014) *Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: a review*. *Process Biochem* 49(11):1779–1789
- Alonso, J. R. (2010). *Edulcorantes Naturales*. La Granja. *Revista de Ciencias de la Vida*.
- Aranda-Barradas, J., Delia, M. & Riba, J. *Kinetic study and modelling of the xylitol production using Candida parapsilosis in oxygen-limited culture conditions*. *Bioprocess Engineering* **22**, 219–225 (2000).
- Appels, Lise & Degrève, Jan & Dewil, Raf. (2008). Principles and Potential of the Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34. 755-781.
- Balat, M. (2011). *Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review*. *Energy Conversion and Management*, 52 (2), 858–875.
- Bakal, A., & Nabors, L. O. B. (1991). *Alternative sweeteners*. Dekker: New York.
- Sara L. Baptista, Luís C. Carvalho, Aloia Romaní, Lucília Domingues, *Development of a sustainable bioprocess based on green technologies for xylitol production from corn cob*, *Industrial Crops and Products*, Volume 156, 2020, 112867, ISSN 0926-6690
- Bautista, R.Y. (2019). *Determinación de las condiciones de fermentación para la producción de xilitol a partir de un hidrolizado de los residuos de la planta del plátano*. Tesis. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Bedő, S.; Fehér, A.; Khunnonkwo, P.; Jantama, K.; Fehér, C. *Optimized bioconversion of xylose Derived from pre-treated crop residues into xylitol by using Candida boidinii*. *Agronomy* **2021**, 11, 79.

- Biswas, S., & Vashishtha, N. (1998). *Xylitol: technology & business opportunities*. *Chemical Engineering World*, 33(1), 103–108.
- Burt, B. a. (2006). *The use of sorbitol- and xylitol-sweetened chewing gum in caries control*. *Journal of the American Dental Association*, 137(2): 190–196
- Cédric Brandam, Quoc Phong LAI, Anne Julien-ortiz & Patricia taillandier (2013) *Influence of oxygen on alcoholic fermentation by a wine strain of torulaspora delbrueckii: kinetics and carbon mass Balance*, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 77:9, 1848-1853.
- Cadavid, M. V., Uribe, T. V., Zabala, M. A., & Paternina, G. A. (2009). *Producción de xilitol a partir de cascarilla de arroz utilizando Candida guilliermondii*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1), 4897-4905.
- Carvalho, W., Santos, J. C., Canillha. L-. Silva, S. S., Perego, P., & Converti, A. (2005). *Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate: Metabolic behaviour of Candida guilliermondii cells entrapped in Ca-alginate*. *Biochemical Engineering Journal*, 25(1), 25-31
- Cheng H,Wang B, Lv J, Jiang M, Lin S, Deng Z (2011) *Xylitol production from xylose mother liquor: a novel strategy that combines the use of recombinant Bacillus subtilis and Candida maltosa*. *Microb Cell Factories* 10:5
- Cheng, K. K., Zhang, J. A., Chavez, E., & Li, J. P. (2010). *Integrated production of xylitol and ethanol using corncob*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(2), 411–417.
- Cheng, J. J., & Timilsina, G. R. (2011). *Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review*. *Renewable Energy*, 36(12), 3541–3549.
- Chukwuma, C. I., & Islam, S. (2017). *Xylitol improves anti-oxidative defense system in serum, liver, heart, kidney and pancreas of normal and type 2 diabetes model of rats*. *Acta poloniae pharmaceutica*, 74(3), 817–826.
- Chukwuma C.I., Islam M.S. (2016) *Xylitol: one name, numerous benefits*. In: merillon JM., Ramawat K. (eds) *Sweeteners*.
- Coimbra, Maria do Carmo & Rodrigues, Alírio & Rodrigues, Jaime & Robalo, Rui & Almeida, Rui. (2016). *Moving Finite Element Method: Fundamentals and Applications in Chemical Engineering*.

- Cordeiro, N., Belgacem, M. ., Torres, I. ., & Moura, J. C. V. . (2004). *Chemical composition and pulping of banana pseudo-stems*. *Industrial Crops and Products*, 19(2), 147–154.
- Cruz, J. M., Domínguez, J. M., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2000). *Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion into xylitol*. *Food Biotechnology*, 14(1-2), 79–97.
- Dalmau, J., Comas, J., Rodríguez-Roda, I., Pagilla, K., & Steyer, J. P. (2010). *Model development and simulation for predicting risk of foaming in anaerobic digestion systems*. *Bioresource technology*, 101(12), 4306-4314.
- Dasgupta, D., Bandhu, S., Adhikari, D. K., & Ghosh, D. (2017). *Challenges and prospects of xylitol production with whole cell bio-catalysis: A review*. *Microbiological Research*, 197, 9–21.
- Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Martin, C., Rodríguez, J., Aceves-Lara, C. A., & Wouwer, A. V. (2011). *Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review*. *Water research*, 45(17), 5347-5364.
- Dorantes, D.P. (2017). *Modelado y simulación de un biorreactor para la producción de xilitol a partir de bagazo de caña*. Tesis. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Dorantes-Landa, D.N., Cocotle-Ronzón, Y., Morales-Cabrera, M.A. and Hernández-Martínez, E. (2020), *Modeling of the xylitol production from sugarcane bagasse by immobilized cells*. *J Chem Technol Biotechnol*, 95: 1936-1945.
- FAO. *Cereal Supply and Demand Brief*. Available online: <http://www.fao.org/worldfoods situation/csdb/en/> (accessed on 27 November 2021).
- Farias, D., de Andrade, R. R., & Maugeri-Filho, F. (2013). *Kinetic modeling of ethanol production by Scheffersomyces stipitis from xylose*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(1), 361–379.
- García-Almeida, J. M., Casado Fdez, Gracia M.<sup>a</sup>, & García Alemán, J.. (2013). *Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación*. *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 4), 17-31
- García-Diéguex C, Salgado JM, Roca E, Domínguez JM. *Kinetic modelling of the sequential production of lactic acid and xylitol from vine trimming wastes*. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2011 Sep;34(7):869-78

- Granström, T. B., Izumori, K., & Leisola, M. (2007). *A rare sugar xylitol. Part II: biotechnological production and future applications of xylitol*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(2), 273–276.
- González-Sánchez, M. E., Pérez-Fabiel, S., Wong-Villarreal, A., Bello-Mendoza, R., & Yañez-Ocampo, G. (2015). *Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia*. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 229–235.
- Hyvönen, L., Koivistoinen, P., & Voirol, F. (1982). *Food technological evaluation of xylitol*. *advances in food research*, 28, 373–403.
- Ibarra Torres, E y Niño Ferreira, R. (2016.). *Aprovechamiento de la cascarilla de arroz para la obtención de xilitol como edulcorante con pretratamiento con ultrasonido*. Universidad Francisco de Paula Santander.
- Jeevan, P., Nelson, R. and Rena, A.E. (2011) 'Microbial production of xylitol from corn cob hydrolysate using *Pichia sp*', *Advances in Environmental Biology*, Nov, 3613
- Jia, H., Shao, T., Zhong, C., Li, H., Jiang, M., Zhou, H., & Wei, P. (2016). *Evaluation of xylitol production using corncob hemicellulosic hydrolysate by combining tetrabutylammonium hydroxide extraction with dilute acid hydrolysis*. *Carbohydrate Polymers*, 151, 676–683.
- Kaparaju, P., Serrano, M., & Angelidaki, I. (2009). *Effect of reactor configuration on biogas production from wheat straw hydrolysate*. *Bioresource Technology*, 100(24), 6317–6323.
- Kim, H. S., & Jeffrey, G. A. (1969). *The crystal structure of xylitol*. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 25(12), 2607–2613.
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). *Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713–3729.
- Kumar, S., Dheeran, P., Singh, S. P., Mishra, I. M., & Adhikari, D. K. (2014). *Bioprocessing of bagasse hydrolysate for ethanol and xylitol production using thermotolerant yeast*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38(1), 39–47.

- Lima, S. F., Timossi, P. C., Almeida, D. P., & Silva, U. R. (2014). *Weed suppression in the formation of brachiarias under three sowing methods*. *Planta Daninha*, 32(4), 699–707.
- Lugani, Y., & Sooch, B. S. (2020). *Fermentative production of xylitol from a newly isolated xylose reductase producing *Pseudomonas putida* BSX-46*. *LWT*, 109988.
- López-Linares, J.C.; Ruiz, E.; Romero, I.; Castro, E.; Manzanares, P. *Xylitol Production from Exhausted Olive Pomace by Candida boidinii*. *Appl. Sci.* 2020, 10, 6966.
- Luong, J. H. (1987). *Generalization of monod kinetics for análisis of growth data with substrate inhibition*. *Biotechnology and bioengineering*, 29(2), 242-248
- Manzanares, P.; Ruiz, E.; Ballesteros, M.; Negro, M.J.; Gallego, F.J.; López-Linares, J.C.; Castro, E. *Residual biomass potential in olive tree cultivation and olive oil industry in Spain: valorization proposal in a biorefinery context*. *Spanish J. Agric. Res.* 2017, 15, e0206.
- Mardawati, Efri & Trirakhmadi, Andi & Kresnowati, MTAP & Setiadi, Tjandra. (2017). *Kinetic study on fermentation of xylose for the xylitol production*. *Journal of Industrial and Information Technology in Agriculture*.
- Martinez, E. A., Villarreal, M. L. M., Almeida e Silva, J. B., Solenzal, A. I. N., Canilha, L., & Mussatto, S. I. (2002). *uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol use of different raw materials for biotechnological xylitol production uso de diferentes materias primas para á producción biotecnoloxica de xilitol*. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(5), 295–301.
- Misra, S., Raghuwanshi, S., & Saxena, R. K. (2013). *Evaluation of corncob hemicellulosic hydrolysate for xylitol production by adapted strain of *Candida tropicalis**. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1596–1601.
- Mohamad, N. L., Mustapa Kamal, S. M., Mokhtar, M. N., Husain, S. A., & Abdullah, N. (2016). *Dynamic mathematical modelling of reaction kinetics for xylitol fermentation using *Candida tropicalis**. *Biochemical Engineering Journal*, 111, 10–17.
- Molwitz, M.; Silva, S.S.; Ribeiro, J. D.; Roberto, I. C.; Felipe, M. G. A. 1996. *Aspects of the cell growth of *Candida guilliermondii* in sugar cane bagasse hydrolysate*. *Journal of Biosciences* 51c, 404-408.
- Moraes, E. de J. C., Silva, D. D. V., Dussán, K. J., Tesche, L. Z., Silva, J. B. de A., Rai, M., & Felipe, M. das G. de A. (2018). *Xylitol-sweetener production from barley straw*:

*optimization of acid hydrolysis condition with the energy consumption simulation. Waste and biomass valorization.*

- Mussatto, S. I., & Roberto, I. C. (2002). *Xilitol: edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana*. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38(4), 401–413.
- Mussatto, S. I. (2012). *Application of xylitol in food formulations and benefits for health*. In *D-Xylitol*: (pp. 309–323). Springer Berlin Heidelberg
- Oh, E. J., Ha, S.-J., Rin Kim, S., Lee, W.-H., Galazka, J. M., Cate, J. H. D., & Jin, Y.-S. (2013). *Enhanced xylitol production through simultaneous co-utilization of cellobiose and xylose by engineered *Saccharomyces cerevisiae**. *Metabolic Engineering*, 15, 226–234.
- Panesso Suescún, Ernesto A, Calle Arroyave, María Clara, & Meneses Gómez, Edwin J. (2012). *Salud bucal y xilitol: usos y posibilidades en caries y enfermedad periodontal en poblaciones "PEPE"*. *Universidad y Salud*, 14(2), 205-215. Retrieved November 03, 2020.
- Pappu, J. S. M., & Gummadi, S. N. (2016). *Modeling and simulation of xylitol production in bioreactor by Debaryomyces nepalensis NCYC 3413 using unstructured and artificial neural network models*. *Bioresource Technology*, 220, 490–499.
- Parajó, J. C., Domínguez, H., & Domínguez, J. M. (1996). *Production of xylitol from concentrated wood hydrolysates by Debaryomyces hansenii: Effect of the initial cell concentration*. *Biotechnology Letters*, 18(5), 593–598.
- Peng, F., Ren, J. L., Xu, F., & Sun, R.-C. (2011). *Chemicals from Hemicelluloses: A Review. Sustainable production of fuels, chemicals, and fibers from forest biomass*. American Chemical Society, 219-259.
- Phisalaphong, Muenduen & Srirattana, Nuttapan & Tanthapanichakoon, Wiwit. (2006). *Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation*. *Biochemical Engineering Journal*. 28. 36-43.
- Ping, Y., Ling, H.-Z., Song, G., & Ge, J.-P. (2013). *Xylitol production from non-detoxified corncob hemicellulose acid hydrolysate by Candida tropicalis*. *Biochemical Engineering Journal*, 75, 86–91.

- Povelainen, M. (2008). *Pentitol phosphate dehydrogenases: Discovery, characterization and use in D-arabitol and xylitol production by metabolically engineered Bacillus subtilis*. *Bioresource Technology*, 112(1), 205–218.
- Prakash, G., Varma, A. J., Prabhune, A., Shouche, Y., & Rao, M. (2011). *Microbial production of xylitol from d-xylose and sugarcane bagasse hemicellulose using newly isolated thermotolerant yeast Debaryomyces hansenii*. *Bioresource Technology*, 102(3), 3304–3308.
- Prakasham, R.S., Rao, R.S., & Hobbs, P.J. (2009). *Current trends in biotechnological production of xylitol and future prospects*. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 3, 8-36.
- Rafiqul, I. S. M., & Sakinah, A. M. M. (2013). *Processes for the production of xylitol—a review*. *Food Reviews International*, 29(2), 127–156.
- Rangaswamy, S., & Agblevor, F. A. (2003). *Screening of facultative anaerobic bacteria utilizing D-xylose for xylitol production*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(1–2), 88–93.
- Rao, R. S., Jyothi, Ch. P., Prakasham, R. S., Sarma, P. N., & Rao, L. V. (2006). *Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by Candida tropicalis*. *Bioresource Technology*, 97, 1974–1978.
- Rao, R. S., Bhadra, B., & Shivaji, S. (2007). *Isolation and characterization of xylitol-producing yeasts from the gut of coleopteran insects*. *Current Microbiology*, 55(5), 441–446.
- Rehman, S., Nadeem, M., Ahmad, F., & Mushtaq, Z. (2013). *Biotechnological production of xylitol from banana peel and its impact on physicochemical properties of rusks*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(4), 747–756.
- Rodrigues, R. C., Kenealy, W. R., & Jeffries, T. W. (2003). *Xylitol production from DEO hydrolysate of corn stover by Pichia stipitis YS-30*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 38(10), 1649-1655.
- Sánchez, O.J., y Cardona, C. (2008). *Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks*. *Bioresource Technology*. 99, 5270–5295.
- Sbarciog, M., Loccufier, M., & Noldus, E. (2010). *Determination of appropriate operating strategies for anaerobic digestion systems*. *Biochemical engineering journal*, 51(3), 180-188.

- Sevenois, R. D. B., and Van Paepegem, W. (March 1, 2015). "Fatigue damage modeling techniques for textile composites: Review and comparison with unidirectional composite modeling techniques." *ASME. Appl. Mech. Rev.* March 2015; 67(2): 020802.
- Shankar, P., Ahuja, S., & Sriram, K. (2013). *Non-nutritive sweeteners: Review and update. nutrition*, 29(11-12), 1293–1299.
- Shiferaw, B.; Smale, M.; Braun, H.J.; Duveiller, E.; Reynolds, M.; Muricho, G. *Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security*. Food Secur. 2013, 5, 291–317.
- SIAP. (2017). Atlas 2017, 231.
- Silva, C. J. S. ., & Roberto, I. C. (2001). *Optimization of xylitol production by Candida guilliermondii FTI 20037 using response surface methodology*. Process Biochemistry, 36(11), 1119–1124.
- Silva, D. D. V., Dussán, K. J., Idarraga, A., Grangeiro, L., Silva, S. S., Cardona, C. A., Felipe, M. G. A. (2020). *Production and purification of xylitol by Scheffersomyces amazonenses via sugarcane hemicellulosic hydrolysate*. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*.
- Sokmen, A., & Gunes, G. (2006). *Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate*. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), 1053–1058.
- Tochampa, W., Sirisansaneeyakul, S., Vanichsriratana, W., Srinophakun, P., Bakker, H. H. C., & Chisti, Y. (2005). *A model of xylitol production by the yeast Candida mogii*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 28(3), 175–183.
- Van Paepegem, W. (2015). *The cycle jump concept for modelling high-cycle fatigue in composite materials*. *Fatigue of Textile Composites*, 29–55.
- Venkateswar Rao, L., Goli, J. K., Gentela, J., & Koti, S. (2016). *Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview*. *Bioresource technology*, 213, 299–310.
- Verde, M. V., de Mancilha, I. M., de Almeida e Silva, J. B., & Solenzar, A. I. N. (2008). *Métodos de purificación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar para la obtención de xilitol*. *Purification methods of sugarcane bagasse hydrolysates for xilitol*. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(2), 129–134.
- Vergara. M., (1996). *Técnicas de modelación en hidráulica*. Ciudad de México, México: Alfaomega.

- Vieira Cortez, D., & Conceiasalo Roberto, I. (2010). *Improved xylitol production in media containing phenolic aldehydes: application of response surface methodology for optimization and modeling of bioprocess*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(1), 33–38.
- Wannawilai, S., Chisti, Y., & Sirisansaneeyakul, S. (2017). *A model of furfural-inhibited growth and xylitol production by Candida magnoliae TISTR 5663*. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 129–140.
- Wilkins MR, Mueller M, Eichling S, Banat IM (2008) *Fermentation of xylose by the thermotolerant yeast strains Kluyveromyces marxianus IMB2, IMB4, and IMB5 under anaerobic conditions*. Process Biochem 43:346–350.
- Wisselink, H. W., Toirkens, M. J., del Rosario Franco Berriel, M., Winkler, A. A., van Dijken, J. P., Pronk, J. T., & van Maris, A. J. A. (2007). *Engineering of Saccharomyces cerevisiae for efficient anaerobic alcoholic fermentation of L-Arabinose*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(15), 4881–4891.
- Xu, Y., Chi, P., Bilal, M., & Cheng, H. (2019). *Biosynthetic strategies to produce xylitol: an economical venture*. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Xu, Y., & Hanna, M. A. (2010). *Optimum conditions for dilute acid hydrolysis of hemicellulose in dried distillers grains with solubles*. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 511–517.
- Yewale, T., Panchwagh, S., Sawale, S., Jain, R., & Dhamole, P. B. (2017). *Xylitol production from non-detoxified and non-sterile lignocellulosic hydrolysate using low-cost industrial media components*. *3 Biotech*, 7(1), 68.
- Yu, Hao & Wilamowski, Bogdan. (2011). Hao Yu and B. M. Wilamowski, *LevenbergMarquardt training industrial electronics handbook*, vol. 5 Intelligent Systems, 2nd Edition, chapter 12, pp. 12-1 to 12-15, CRC Press 2011..
- Zacharis C (2012) Xylitol. In: O'Donnell K, Kearsley MW (eds) *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*, 2nd edn. Wiley & Sons, UK
- Zhao X, Gao P, Wang Z (1998) *The production and properties of a new xylose reductase from fungus Neurospora crassa*. *Appl Biochem Biotechnol* 70–72:405–414

**“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”**

**www.uv.mx**

