

## **PROCESO DE PRODUCCIÓN DE XILITOL A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS UTILIZANDO CANDIDA GUILLIERMONDII**

### **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención está relacionada con métodos biotecnológicos que utilizan residuos lignocelulósicos para producir biomoléculas de interés, y más particularmente está relacionada con un proceso de producción de xilitol a partir de residuos lignocelulósicos utilizando la levadura *Candida guilliermondii*.

### **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

El xilitol es un polialcohol que tiene un amplio mercado a nivel mundial debido a sus ventajas en el campo alimenticio y de la salud. Desde el punto de vista de su uso como edulcorante, el xilitol tiene una dulzura y un sabor similar a la sacarosa pero se absorbe mucho más lentamente y no promueve la hiperglucemia, además su metabolismo es independiente al de la insulina por lo cual resulta un edulcorante apto para diabéticos. En el campo médico, el xilitol ha demostrado tener efectos anticaries y de inhibición en la formación de placa y sarro. También hay publicaciones como por ejemplo la de Uhari, Matti et al., "A Novel Use of Xylitol Sugar in Preventing Acute Otitis Media", Pediatrics, 102 (4 Pt 1): 879-884 (Octubre 1998) y la de Jones AH., "Intranasal xylitol, recurrent otitis media and asthma: Three case studies.", Clinical Practice of Alternative Medicine, 2 (2): 112-17 (2001) que mencionan el uso del xilitol en la prevención de la otitis aguda pediátrica.

La producción industrial de xilitol se realiza mayoritariamente a través de la hidrogenación de xilosa, un proceso químico que requiere diversos pasos de purificación y en donde se obtiene un rendimiento de xilitol de aproximadamente 50-60% de la xilosa presente en los residuos hemicelulósicos. Se trata de un proceso laborioso que hace que este producto sea relativamente caro.

Una alternativa importante del método químico se realiza mediante procesos biotecnológicos utilizando levaduras de distintos géneros y teniendo como materia prima residuos lignocelulósicos. Existen varios documentos de patente que describen procesos de obtención de etanol y/o xilitol a partir de residuos lignocelulósicos tales como madera, cascarilla de arroz y olote de maíz mediante el uso de cepas del género *Pichia* y *Candida*, por ejemplo los documentos US2011/0097780, EP1306442 y WO2014/045297. También los documentos Jeevan, P et. al., "Optimization Studies on acid hydrolysis of corn cob hemicellulosic hydrolysate for microbial production of xylitol", J Microbiol. Biotech. Res., 2011, 1(4):114-123 y Villalba, M et. al., "Producción de xilitol a partir de cascarilla de arroz utilizando *Candida guilliermondii*", Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, 62(1):4897-4905 (2009) describen procesos microbianos para la obtención de xilitol, sin embargo todos estos procesos tienen el gran inconveniente de tener rendimientos muy bajos (entre 0.19 y 0.65 g xilitol/g sustrato) y de tratarse de procesos con un tiempo de fermentación muy elevado (de entre 72 a 216 horas) que incrementan el costo total de la producción de xilitol.

Además, previo al proceso fermentativo, es necesario detoxificar el licor proveniente de un tratamiento fisicoquímico del material lignocelulósico, para eliminar subproductos tóxicos para los

microorganismos que se utilizan en la fermentación, los cuales son generados durante el mismo tratamiento.

Por consecuencia de lo anterior, se ha buscado suprimir los inconvenientes que presentan los procesos biotecnológicos de producción de xilitol utilizados en la actualidad, desarrollando un proceso de producción de xilitol a partir de residuos lignocelulósicos utilizando *Candida guilliermondii* que, además de proveer una alternativa a la síntesis química del xilitol, permita hacerlo con un rendimiento aumentado y en un menor tiempo de fermentación.

### **OBJETOS DE LA INVENCION**

Teniendo en cuenta los defectos de la técnica anterior, es un objeto de la presente invención proporcionar un método de producción de xilitol alternativo a la síntesis química mediante hidrogenación de xilosa.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un proceso que tenga un rendimiento superior al método químico y a los procesos fermentativos descritos en el estado del arte en un tiempo convenientemente más corto, sin la necesidad de un proceso de detoxificación previo a la fermentación.

Otro objeto más de la presente invención es el de utilizar residuos lignocelulósicos como materia prima para la obtención de xilitol, específicamente olote de maíz el cual constituye una fuente barata y de buena disponibilidad de materia prima para obtener xilitol por la vía fermentativa que además tiene facilidad de ser purificada.

Estos y otros objetos se logran mediante un proceso de producción de xilitol a partir de residuos lignocelulósicos utilizando *Candida guilliermondii* de conformidad con la presente invención.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION.**

La presente invención describe un proceso de producción de xilitol que comprende los pasos de: (i) fermentación con una levadura *Candida guilliermondii* de una solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz (ii) decoloración del medio resultante de la fermentación con carbón activado para obtener xilitol, en donde el paso de fermentación ocurre en menos de 65 horas.

Otro aspecto de la presente invención comprende una levadura *Candida guilliermondii* con número de acceso CM-CNRG-0032, la cual presenta un comportamiento ventajoso frente a factores de estrés como la presencia de ácido acético e hidroximetilfurfural (HMF).

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

Los aspectos novedosos que se consideran característicos de la presente invención, se establecerán con particularidad en las reivindicaciones anexas. Sin embargo, algunas modalidades, características y algunos objetos y ventajas de la misma, se comprenderán mejor en la descripción detallada, cuando se lea en relación con los dibujos anexas, en los cuales:

La figura 1 muestra la curva de crecimiento de *C. guilliermondii* No: acceso CM-CNRG-0032 en diferentes concentraciones de ácido acético añadido al medio de cultivo.

La figura 2 es una gráfica que muestra los resultados de producción de xilitol, consumo de xilosa y crecimiento microbiano (D.O) para el experimento 1 del diseño Plackett-Burman.

La figura 3 muestra los valores del rendimiento de conversión de sustrato a producto ( $Y_{P/S}$ ) para los experimentos 1 a 7.

5 La figura 4 es una gráfica que muestra los resultados de producción de xilitol, consumo de xilosa y crecimiento microbiano (D.O) para el experimento 3c del diseño de cuadrados latinos.

La figura 5 muestra los valores del rendimiento de conversión de sustrato a producto ( $Y_{P/S}$ ) para los experimentos 1a-c, 2a-c y 3a-c.

10

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

Se ha encontrado que es necesario un método de producción de xilitol alternativo a la síntesis química que tenga un rendimiento superior y que se efectúe en un tiempo convenientemente más corto que los métodos fermentativos descritos en el arte previo, ahorrándose también el proceso de detoxificación previo a la fermentación.

15 Así pues, en un aspecto de la invención, se describe un proceso de producción de xilitol que comprende los pasos de:

(i) fermentación con una levadura *Candida guilliermondii* de una solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz y que no requiere ser previamente detoxificada.

20 (ii) decoloración del medio resultante de la fermentación con carbón activado para obtener xilitol, en donde el paso de fermentación ocurre en menos de 65 horas.

La cepa de *Candida guilliermondii* depositada el 09 de Mayo de 2017 ante el Centro Nacional de Recursos Genéticos, ubicado en Jalisco, México, con número de acceso CM-CNRG-0032 utilizada en el proceso de producción de xilitol conforme a la presente invención presenta un comportamiento ventajoso frente a factores de estrés como la presencia de ácido acético e hidroximetilfurfural (HMF), los cual resulta de importancia dado que el pretratamiento que se le da al olote de maíz para obtener la solución de xilosa genera ácido acético como subproducto. Además, la cepa de *Candida guilliermondii* con número de acceso CM-CNRG-0032 puede crecer a una temperatura de hasta 40 °C sin inhibición.

25 En una modalidad preferida de la presente invención, la etapa de fermentación se realiza en lote o lote alimentado, en donde la velocidad de agitación es menor a 300 rpm. Preferiblemente, la velocidad de agitación es de entre 125 y 150 rpm.

La solución de xilosa es el medio de cultivo de la fermentación. Preferiblemente, la solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz contiene entre 20 y 100 g/L de xilosa.

35 De forma preferida, el valor de pH de la solución de xilosa está entre 6 y 8. Con mayor preferencia, el pH del medio de fermentación es de 7.

En una modalidad preferida de la presente invención, la solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz comprende adicionalmente extracto de levadura (YE), una solución de elementos traza, sales y nutriente para levadura.

Preferiblemente, la solución de xilosa contiene entre 2.5 y 3.5 g de extracto de levadura por litro. Más preferiblemente, la solución de xilosa contiene 3 g de extracto de levadura por litro.

La composición de la solución de elementos traza es preferiblemente la siguiente: 15 g/L de EDTA, 5.75 g/L de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.32 g/L de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 g/L de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.47g/L de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.48 g/L de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2.9 g/L de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 2.8 g/L de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . En el medio de cultivo esto equivale a 17.25 ppm de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.96 ppm de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1.5 ppm de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 1.41 ppm de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 1.44 ppm de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 8.7 ppm de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 8.4 ppm de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Preferiblemente, las sales se seleccionan del grupo que comprende  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  o  $\text{CaCl}_2$ .

De conformidad con la presente invención, debe entenderse por nutriente para levadura a la mezcla de nitrógeno inorgánico, vitaminas y minerales, que puede variar según la empresa que la provea.

De conformidad con la presente invención, el medio de cultivo después de terminada la fermentación se centrifuga a 2000 rpm por 20 minutos para la separación de biomasa. Posteriormente, el líquido separado es filtrado y se procede a realizar una decoloración del líquido haciéndolo pasar a través de una columna de carbón activado en donde la relación de carbón activado- líquido en la columna es de 70 a 100 g/L.

Los parámetros más importantes de la decoloración con carbón activado son: el tiempo de contacto y la velocidad lineal del fluido. Para la decoloración total del líquido de conformidad con la presente invención, el tiempo de contacto se mantiene entre 6 y 30 minutos, mientras que la velocidad lineal se mantiene entre 5 y 20 m/h.

La presente invención será mejor entendida a partir de los siguientes ejemplos, los cuales se presentan únicamente con fines ilustrativos para permitir la comprensión cabal de las modalidades preferidas.

### **Ejemplo 1: Resistencia de *Candida guilliermondii* No. de acceso CM-CNRG-0032 a factores de estrés relevantes en la producción de xilitol.**

Se probó la resistencia de la cepa con No. de acceso CM-CNRG-0032 al ácido acético, inhibidor presente en el licor de xilosa proveniente de residuos lignocelulósicos, midiendo su velocidad de crecimiento y analizando su morfología en medios de cultivo con y sin ácido acético.

En la Figura 1 se observa que la levadura crece más rápido con la adición de ácido acético, ya que sorprendentemente logra asimilar dicho compuesto a pesar de que en el arte previo se encuentra evidencia de que dicho microorganismo es sensible a la presencia de ácido acético, según lo demostrado por Silva et al (2004), Sene et al (2001), y Pereira (2011).

**TABLA 1**

| Inhibidor | Concentración (g/L) | Φ a las 24 h | Φ a las 96 h |
|-----------|---------------------|--------------|--------------|
| HMF       | 0                   | 1.1 cm       | 1.5 cm       |
|           | 0.45                | 1 cm         | 1.4 cm       |
|           | 0.95                | 1 cm         | 1.4 cm       |
|           | 1.9                 | 0.9 cm       | 1.2 cm       |
|           | 2.85                | 0.6 cm       | 1.1 cm       |
|           | 3.8                 | 0.6 cm       | 1.2 cm       |
| NaCl      | 0                   | 1.1 cm       | 1.5 cm       |
|           | 25                  | 1 cm         | 1.3 cm       |
|           | 37.5                | 1 cm         | 1 cm         |
|           | 50                  | 1 cm         | 1 cm         |
|           | 75                  | 0.9 cm       | 0.9 cm       |
| Glc       | 0                   | 0.7 cm       | 1 cm         |
|           | 20                  | 1.1 cm       | 1.5 cm       |
|           | 40                  | 1 cm         | 1 cm         |
|           | 50                  | 0.5 cm       | 1.1 cm       |
|           | 60                  | 1 cm         | 1.2 cm       |
|           | 70                  | 0.9 cm       | 1.1 cm       |

5 Sin embargo se analizó su resistencia a varios compuestos, tanto inhibidores  
provenientes del tratamiento termoquímico como a concentraciones altas de azúcares y sales, que son  
condiciones que pueden encontrarse en medios de cultivo. Se prepararon placas de petri con medio YPD  
estándar (10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de peptona, 20 g/L de dextrosa y 15 g/L de agar)  
adicionado con hidroximetilfurfural (HMF), cloruro de sodio (NaCl) o glucosa (Glc) en diferentes  
concentraciones, se inocularon las placas y se midió el diámetro de crecimiento de la colonia de *Candida*  
10 *guilliermondii* a las 24 y 96 horas de incubación a 27°C. En la Tabla 1 se muestran los resultados,  
expresados como la medida en cm del diámetro (Φ) de la colonia de levadura.

Los resultados anteriores muestran que la levadura *Candida guilliermondii* No. de acceso  
CM-CNRG-0032 presenta osmotolerancia y resistencia a la presencia de ácido acético, lo que permite se  
evite un proceso de detoxificación del licor de xilosa proveniente de un tratamiento fisicoquímico al  
15 material lignocelulósico, reduciendo costos del proceso.

### **Ejemplo 2: Identificación de parámetros con mayor influencia en la producción de xilitol**

20 Se emplea la metodología Plackett-Burman estableciendo siete variables o parámetros y  
sus límites de variación como se exponen en la Tabla 2.

| <b>Parámetro</b>                 | <b>Símbolo</b> | <b>-</b>        | <b>+</b>      |
|----------------------------------|----------------|-----------------|---------------|
| pH (licor)                       | A              | 6.5 (6.0 medio) | 7 (6.5 medio) |
| Velocidad de agitación           | B              | 125 rpm         | 175 rpm       |
| Relación Carbono/Nitrógeno (C/N) | C              | 15              | 20            |
| Extracto de levadura (YE)        | D              | 1.5 g/L         | 3 g/L         |
| Solución de elementos traza      | E              | 2 mL/L          | 3 mL/L        |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | F              | 1 g/L           | 2 g/L         |
| MgSO <sub>4</sub>                | G              | 0.1 g/L         | 0.3 g/L       |

Deberá entenderse que por relación carbono/nitrógeno (C/N) se refiere a la relación en peso entre carbono orgánico y nitrógeno en un medio de cultivo.

5 Se realizaron ocho experimentos de acuerdo a la matriz de variación establecida para este diseño experimental que se muestra en la Tabla 3.

**TABLA 3**

| <b>Parámetro</b><br><br><b>Experimento</b> | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> | <b>F</b> | <b>G</b> |
|--------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>1</b>                                   | +        | -        | -        | +        | -        | +        | +        |
| <b>2</b>                                   | +        | +        | -        | -        | +        | -        | +        |
| <b>3</b>                                   | +        | +        | +        | -        | -        | +        | -        |
| <b>4</b>                                   | -        | +        | +        | +        | -        | -        | +        |
| <b>5</b>                                   | +        | -        | +        | +        | +        | -        | -        |
| <b>6</b>                                   | -        | +        | -        | +        | +        | +        | -        |
| <b>7</b>                                   | -        | -        | +        | -        | +        | +        | +        |
| <b>8</b>                                   | -        | -        | -        | -        | -        | -        | -        |

10 Independientemente de los siete parámetros descritos arriba, el medio de cultivo mantuvo valores fijos para los parámetros que a continuación se muestran en la Tabla 4.

**TABLA 4**

| Parámetro                                       | Concentración (g/L) |
|-------------------------------------------------|---------------------|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1.2                 |
| CaCl <sub>2</sub>                               | 0.1                 |
| Nutriente para levadura                         | 0.5                 |

Cada experimento se llevó a cabo por triplicado empleando matraces Erlenmeyer de 500 mL. A cada matraz se le agregaron 100 mL de medio de cultivo y 5 mL de inóculo.

Se tomaron muestras a las horas 0, 6, 12, 22, 28, 36, 46, 54 y 60 de fermentación para la medición de densidad óptica, concentración de azúcares y xilitol. Las lecturas de densidad óptica se realizaron mediante el uso de espectrofotometría a una longitud de onda de 660 nm, mientras que la cuantificación de la concentración de azúcares y xilitol se realizó mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

La gráfica de la cinética obtenida en el experimento 1, el cual registró el mejor rendimiento de conversión de xilosa a xilitol con un valor de  $Y_{P/S} = 0.55$ , se muestra en la Figura 2. Los resultados de los rendimientos de conversión de sustrato a producto de todos los experimentos se muestran en la Figura 3.

Se efectuó un análisis estadístico, que consiste en realizar la suma algebraica de las respuestas, de acuerdo con los experimentos diseñados según la tabla 3. De dicha suma se genera un modelo lineal de acuerdo con la influencia de cada factor, resultando una ecuación general:

$$Y = b_0 + A + B + C + D + E + F + G$$

Donde:

Y = respuesta esperada

b<sub>0</sub> = respuesta promedio o gran promedio

A...G = influencia de cada parámetro

Los resultados de dicho análisis estadístico arrojaron una ecuación específica para la matriz generada en la Tabla 2 como se muestra a continuación:

$$Y = 0.3244 + 0.09631A - 0.05459B - 0.00367C + 0.05244D + 0.03146E + 0.01495F + 0.03171G$$

Para interpretar dicha ecuación se considera que el valor absoluto del coeficiente de cada parámetro evaluado es el criterio para determinar cuáles son los parámetros con mayor influencia en el rendimiento de producción. Es decir el coeficiente con el valor más alto resulta el parámetro más influyente.

De acuerdo con la presente invención, el parámetro más influyente es el pH (A), seguido de la velocidad de agitación (B) y de la concentración de extracto de levadura (D), mientras que la relación carbono nitrógeno (C) resultó ser el menos influyente.

### **Ejemplo 3: Optimización de los parámetros con mayor influencia en la producción de xilitol**

Una vez que se lograron identificar los parámetros más influyentes para la producción de xilitol, se realizó una optimización de dichos parámetros. En este caso el método elegido para lograr este objetivo es emplear un diseño experimental de cuadrados latinos.

En este diseño experimental se asignan tres valores a cada parámetro, realizándose nueve experimentos distintos. La tabla 5 a continuación muestra el diseño experimental empleado:

**TABLA 5**

| pH                  | Velocidad de agitación |            |            |
|---------------------|------------------------|------------|------------|
|                     | 125 rpm                | 135 rpm    | 150 rpm    |
| 7.5 medio (licor 8) | 2.5 g YE/L             | 3 g YE/L   | 3.5 g YE/L |
| 7 medio (licor 7.5) | 3 g YE/L               | 3.5 g YE/L | 2.5 g YE/L |
| 6.5 medio (licor 7) | 3.5 g YE/L             | 2.5 g YE/L | 3 g YE/L   |

#### Codificación alfanumérica generada para cada experimento

Experimento 1a: pH 7.5 medio (licor 8), concentración de extracto de levadura 2.5 g/L y una velocidad de agitación de 125 rpm.

Experimento 1b: pH 7.5 medio (licor 8), concentración de extracto de levadura 3 g/L y una velocidad de agitación de 135 rpm.

Experimento 1c: pH 7.5 medio (licor 8), concentración de extracto de levadura 3.5 g/L y una velocidad de agitación de 150 rpm.

Experimento 2a: pH 7 medio (licor 7.5), concentración de extracto de levadura 3 g/L y una velocidad de agitación de 125 rpm.

Experimento 2b: pH 7 medio (licor 7.5), concentración de extracto de levadura 3.5 g/L y una velocidad de agitación de 135 rpm.

Experimento 2c: pH 7 medio (licor 7.5), concentración de extracto de levadura 2.5 g/L y una velocidad de agitación de 150 rpm.

Experimento 3a: pH 6.5 medio (licor 7), concentración de extracto de levadura 3.5 g/L y una velocidad de agitación de 125 rpm.

Experimento 3b: pH 6.5 medio (licor 7), concentración de extracto de levadura 2.5 g/L y una velocidad de agitación de 135 rpm.

Experimento 3c: pH 6.5 medio (licor 7), concentración de extracto de levadura 3 g/L y una velocidad de agitación de 150 rpm.

En la Tabla 6 se muestran el resto de los componentes del medio, los cuales se mantuvieron fijos de acuerdo a los mejores resultados de los experimentos realizados en el diseño experimental de Plackett-Burman.

5

**TABLA 6**

| Componente                                      | Concentración |
|-------------------------------------------------|---------------|
| Xilosa                                          | 21 g/L        |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | 2 g/L         |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1.2 g/L       |
| MgSO <sub>4</sub>                               | 0.3 g/L       |
| CaCl <sub>2</sub>                               | 0.1 g/L       |
| Nutriente levadura                              | 0.5 g/L       |
| Solución de elementos traza                     | 2 mL/L        |

Cada experimento se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer de 500 mL, por duplicado. A cada matraz se le agregaron 100 mL de medio de cultivo y 5 mL de inóculo.

Se tomaron muestras a las horas 0, 6, 12, 22, 28, 36, 46, 54 y 60 para la medición de densidad óptica, concentración de azúcares y xilitol. Las lecturas de densidad óptica se realizaron mediante el uso de espectrofotómetros a una longitud de onda de 660 nm, mientras que la cuantificación de la concentración de azúcares y xilitol se realizó mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

La figura 4 muestra la cinética obtenida en el experimento 3c, el cual registró el mejor rendimiento de conversión de xilosa a xilitol con un valor de  $Y_{P/S} = 0.77$ . Los resultados de los rendimientos de conversión de sustrato a producto del resto de los experimentos se muestran en la Figura 5.

Como se puede apreciar de la Figura 5, el experimento 3c registró un rendimiento sorprendentemente superior al resto de los experimentos los cuales oscilan entre valores de productividad de 0.4 y 0.54, los cuales son incluso menores al rendimiento inicial obtenido en el experimento 1 del ejemplo 1.

De acuerdo con lo anteriormente descrito, será evidente para un técnico en la materia que la modalidad preferida del proceso de producción de xilitol ilustrado anteriormente se presenta con fines únicamente ilustrativos mas no limitativos de la presente invención, ya que un técnico en la materia puede realizar numerosas variaciones de la misma, siempre y cuando se diseñen de conformidad con los principios de la presente invención.

Por consecuencia de lo anterior, la presente invención incluye todas las modalidades que un técnico en la materia puede plantear a partir de los conceptos contenidos en la presente descripción, de conformidad con las siguientes reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un proceso de producción de xilitol, caracterizado porque comprende los pasos de: (i) fermentar una solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz con una levadura *Candida guilliermondii* con número de acceso CM-CNRG-0032 (ii) decolorar el medio resultante de la fermentación con carbón activado para obtener xilitol, en donde el paso de fermentación ocurre en menos de 65 horas.

2. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el paso de fermentación se realiza en lote o lote alimentado.

3. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el paso de fermentación se realiza a una velocidad de agitación menor a 300 rpm.

4. El proceso de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque el paso de fermentación se realiza a una velocidad de agitación de entre 125 y 150 rpm.

5. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque la solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz contiene entre 20 y 100 g/L de xilosa.

6. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el valor de pH de la solución de xilosa está entre 6 y 8.

7. El proceso de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado además porque el valor de pH de la solución de xilosa es 7.

8. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque la solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz comprende adicionalmente extracto de levadura (YE), una solución de elementos traza, sales y/o nutriente para levadura.

9. El proceso de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado además porque la solución de xilosa comprende entre 2.5 y 3.5 g de extracto de levadura por litro.

10. El proceso de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado además porque la solución de xilosa comprende 3 g de extracto de levadura por litro.

11. El proceso de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado además porque la solución de elementos traza comprende 15 g/L de EDTA, 5.75 g/L de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.32 g/L de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 g/L de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.47g/L de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.48 g/L de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2.9 g/L de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 2.8 g/L de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

12. El proceso de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado además porque las sales se seleccionan del grupo que comprende  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  o  $\text{CaCl}_2$ .

13. El proceso de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado además porque el nutriente para levadura es una mezcla de nitrógeno inorgánico, vitaminas y minerales.

14. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque después del paso (i) el medio de cultivo se centrifuga a 2000 rpm por 20 minutos.

15. El proceso de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado además porque el líquido separado que fue centrifugado es filtrado.

16. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el paso (ii) se realiza en una columna de carbón activado.

17. El proceso de conformidad con la reivindicación 19, caracterizado además porque la relación de carbón activado-líquido en la columna es de 70 a 100 g/L.

5 18. El proceso de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado además porque el tiempo de contacto entre el líquido y el carbón activado en el paso (ii) se mantiene entre 6 y 30 minutos.

19. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el paso (ii) se lleva a cabo a una velocidad lineal de entre 5 y 20 m/h.

10 20. Una levadura *Candida guilliermondii*, caracterizada porque tiene No. de acceso CM-CNRG-0032.

## RESUMEN

5 La presente invención consiste en un proceso de producción de xilitol a partir de residuos lignocelulósicos utilizando *Candida guilliermondii* que busca suprimir los inconvenientes que presentan los procesos biotecnológicos de producción de xilitol utilizados en la actualidad en términos del rendimiento y en un tiempo convenientemente más corto, sin la necesidad de un proceso de detoxificación previo a la fermentación; así se describe un proceso que comprende fermentar una solución de xilosa obtenida a partir de la hidrólisis de olote de maíz con una levadura *Candida guilliermondii* y decolorar el medio resultante de la fermentación con carbón activado para obtener xilitol.