

**PRODUCCIÓN A ESCALA LABORATORIO DE XILITOL A PARTIR DE LA
SEMILLA DE TAMARINDO POR MEDIO FERMENTATIVO CON *CANDIDA
TROPICALIS* Y *CANDIDA GUILLERMONDII***

MARÍA FERNANDA GONZÁLEZ MARTÍNEZ

**PROYECTO INTEGRAL DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

DIRECTOR:

GINNA PAOLA TRUJILLO PÉREZ

MAGÍSTER EN CIENCIAS QUÍMICAS

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTÁ D.C

2024

NOTA DE ACEPTACIÓN

Ginna Paola Trujillo Pérez

Firma del director

Torres Galeano Carolina

Firma del presidente Jurado

Suesca Díaz Adriana

Firmas del Jurado

Nombre

Firmas del Jurado

Bogotá. D.C. de 2024

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector de Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica

Dra. MARÍA FERNANDA VEGA DE MENDOZA

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RAMIRO AUGUSTO FORERO CORZO

Vicerrectora de Investigación y Extensión

Dra. SUSAN MARGARITA BENAVIDES TRUJILLO

Secretario General

Dr. JOSÉ LUIS MACÍAS RODRÍGUEZ

Decana de Facultad de Ingenierías

ING. NALINY PATRICIA GUERRA PRIETO

Directora del Departamento de Ingeniería Química

Ing. NUBIA LILIANA BECERRA

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a la autora.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a papás y a mi hermana por estar siempre para mí, porque son las personas que me han apoyado durante todo este tiempo de carrera y me motivaron a ser mejor. Por ellos he logrado formarme como la buena ingeniera que considero que soy y me siento feliz de darles este orgullo tan grande, porque no es solo un logro propio, sino también es nuestro. Los amo con todo mi corazón y espero poderles devolverles el apoyo que me han brindado y hacerlos muy feliz.

A mis pequeños de la familia, mi linda Amy y mi peludito Ronnie, que se convirtieron en una de mis más grandes motivaciones por los cuales siempre daré todo lo mejor que tengo para que no les falte nada y verlos feliz, porque gracias a ellos dos he tenido las mejores alegrías de mi vida y desde que llegaron a mi vida son parte fundamental de la misma y por eso mismo quiero ser cada día mejor para ellos, en especial demostrarle a mi Amy que si yo pude tú también muñequita, el límite no existe porque sé que serás una excelente astronauta o ingeniera aeroespacial, siempre te apoyare pase lo que pase.

Le quiero agradecer a mi familia Martínez, en especial a mi abuelita, por ser la luz de mis ojos, por darme un abrazo cada vez que lo necesitaba o sus palabras de apoyo cada vez que sentía que no podía más, en parte por ella estoy acá y por ella seguiré haciendo muchas cosas más porque quiero ser como ella y parecerme más a ella con el pasar de los tiempos.

Y finalmente le quiero agradecer y dedicar mi tesis a todos mis amigos, porque cada uno son unas personas magnificas que han aportado tanto en mi vida durante estos años, que sinceramente no tendré como pagarle a cada uno todo lo que han hecho por mí, por las risas que me han sacado, por el apoyo incondicional que me han brindado, los ánimos y abrazos que me ayudaron a querer levantarme y seguir adelante. Todos ustedes se han convertido en mi familia y doy gracias a Dios porque los puso en mi camino, son las mejores personas que he conocido y los llevare siempre en mi corazón.

Agradecimientos

Quiero iniciar agradeciéndole a Dios y a la vida por permitirme llegar hasta este punto de mi carrera profesional.

Adicionalmente, a la universidad y a los docentes por todo el apoyo y conocimientos proporcionados durante este tiempo académico. Doy las gracias a la profesora Ginna Trujillo, mi directora de tesis, por colocar su voto de confianza en mí y el proyecto, gracias infinitas por apoyarme en cada momento, enseñarme y guiarme en cada paso que di durante todo este proceso de la elaboración de mi tesis, el cual siempre estaré agradecida por haberme brindado tanta sabiduría. Asimismo, a la profesora Carolina Torres por su apoyo en el laboratorio, puesto que fue parte fundamental en el desarrollo de esta tesis de grado.

Quiero agradecerles a todos los chicos de laboratorio los cuales han aportado un granito de arena en el desarrollo de mi proyecto, puesto que con una palabra o una acción me han ayudado bastante o en los días no tan buenos con su excelente actitud positiva durante este tiempo de desarrollo de tesis junto con la ingeniera Yenny Hernández, la cual me ha animado las veces que he sentido que no podía y me ha ayudado desde su conocimiento profesional y personal.

Adicionalmente, quiero agradecerles en especial a las personas que estuvieron conmigo cuando tuve momentos difíciles en la elaboración de la tesis, en especial a Santiago Ramírez, mi mejor amigo, que con una palabra de apoyo me motivaste a que siempre podía y con todo lo que hiciste por mi dentro y fuera del laboratorio. También quiero agradecerle a Aura Valderrama, mi linda de energías, quien sin saber nada de química me ayudo en el laboratorio con tal de sacar todo adelante. A mis chicas y chico Tijuana, Dianita, Ais, Mariangel y David, porque son las personas más bonitas que he conocido, que han alegrado mis días y me han sabido apoyar en cada momento que he dado con este trabajo de grado, en especial Mariangel, poniéndose la 10 y aportando con las semillitas de tamarindo al final cuando sentía que no tenía esperanzas de continuar con mi proyecto. Sin el apoyo en especial de cada uno de ustedes no estaría acá logrando culminar mi trabajo. Gracias infinitas, los quiero con todo mi corazón.

TABLA DE CONTENIDO

	pág
INTRODUCCIÓN	15
RESUMEN	14
OBJETIVOS	17
1. GENERALIDADES	18
1.1 Xilitol	18
1.1.1 Propiedades Fisicoquímicas	18
1.1.2 Usos y Propiedades	19
1.2 Métodos de Obtención del Xilitol	19
1.2.1 Géneros y especies de levaduras usadas	20
1.2.2 Usos convencionales	22
1.3 Tamarindo	22
1.3.1 Producción Mundial	23
1.3.2 Producción Nacional	23
1.3.3 Usos y Propiedades	23
1.4 Semillas de Tamarindo	24
1.4.1 Propiedades Fisicoquímicas	25
1.4.2 Usos y Propiedades	26
1.5 Generalidades – Microorganismos	26
2. METODOLOGÍA	28
2.1 Materiales y Métodos	28
2.1.1 Molienda	28
2.1.2 Porcentaje de Cenizas	29
2.1.3 Porcentaje de Humedad Relativa	30
2.1.4 Granulometría	31
2.1.5 Hidrólisis Ácida	32
2.1.6 Fermentación	35
3. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	38
3.1 Metodología Planteada	38
3.2 Diseño de Experimentos	40
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1 Caracterización de la materia prima	41
4.1.1 Porcentaje de Cenizas	41
4.1.2 Porcentaje de Humedad Relativa	44
4.1.3 Granulometría	47
4.2 Hidrólisis Ácida	50

4.3 Fermentación	54
5. DISEÑO TEÓRICO A ESCALA PILOTO	75
5.1 Diagramas planteados para el proceso	75
5.2 Descripción del proceso	78
5.3 Balance de masa del proceso	80
6. CONCLUSIONES	111
REFERENCIAS	113

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Fruta de Tamarindo con su semilla	13
Figura 2. Semillas de Tamarindo	23
Figura 3. Resultados estadísticos para el % de Cenizas	39
Figura 4. Resultados estadísticos para el % de Humedad Relativa	41
Figura 5. Resultados estadísticos de la curva granulométrica	43
Figura 6. Centrifugado muestras posteriores al hidrolizado	43
Figura 7. Crecimiento inicial de las levaduras	43
Figura 8. Crecimiento final de las levaduras.	44
Figura 9. Distribución en los Erlenmeyers para la fermentación del inóculo	45
Figura 10. Conteo celular – fermentación inóculo	45
Figura 11. Fermentación inóculo	46
Figura 12. Formato para calcular el conteo celular de la cámara de Neubauer	46
Figura 13. Resultados estadísticos para el % de Cenizas	46
Figura 14. Resultados estadísticos para el % de Humedad Relativa	47
Figura 15. Resultados estadísticos de la curva granulométrica	47
Figura 16. Centrifugado muestras posteriores al hidrolizado	47
Figura 17. Crecimiento inicial de las levaduras	48
Figura 18. Crecimiento final de las levaduras.	48
Figura 19. Distribución en los Erlenmeyers para la fermentación del inóculo	48
Figura 20. Conteo celular – fermentación inóculo	49
Figura 21. Fermentación inóculo	49
Figura 22. Formato para calcular el conteo celular de la cámara de Neubauer	49
Figura 23. Conteo celular – Vaso 1 – Candida Tropicalis 24 horas	51
Figura 24. Conteo celular – Vaso 1 – Saccharomyces cerevisiae 24 horas	51
Figura 25. Resultados Crecimiento microbiano	52

Figura 26.	Conteo celular – Vaso 1 – Candida Tropicalis 72 horas	53
Figura 27.	Conteo celular – Vaso 1 – Saccharomyces cerevisiae 72 horas	53
Figura 28.	Muestras finales en tubos eppendorf para prueba de HPLC.	53
Figura 29.	Resultados HPLC - Blanco Xilitol	55
Figura 30.	Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 24h – 0,710 mm	56
Figura 31.	Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 72h – 0,710 mm	56
Figura 32.	Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 24h – 0,381 mm	57
Figura 33.	Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 72h – 0,381 mm	57
Figura 34.	Resultados HPLC - Candida Tropicalis 24h – 0,710 mm	58
Figura 35.	Resultados HPLC - Candida Tropicalis 72h – 0,710 mm	58
Figura 36.	Resultados HPLC - Candida Tropicalis 24h – 0,381 mm	59
Figura 37.	Resultados HPLC - Candida Tropicalis 72h – 0,381 mm	59
Figura 38.	Diagrama de bloques para la producción de xilitol.	62
Figura 39.	Diagrama PFD para la producción de xilitol.	63
Figura 40.	Tanque de almacenamiento - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	66
Figura 41.	Secador 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	67
Figura 42.	Molino de martillos - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	68
Figura 43.	Reactor CSTR - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	69
Figura 44.	Torre de destilación flash - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	73
Figura 45.	Bomba centrífuga 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol	75
Figura 46.	Intercambiador de calor 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol	75
Figura 47.	Mezclador - Diagrama PFD para la producción de xilitol	77
Figura 48.	Centrífuga de Disco 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	79
Figura 49.	Bomba centrífuga 2 - Diagrama PFD para la producción de xilitol	80
Figura 50.	Filtro de membrana 1- Diagrama PFD para la producción de xilitol	81
Figura 51.	Bomba centrífuga 3- Diagrama PFD para la producción de xilitol.	82
Figura 52.	Biorreactor - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	83

Figura 53.	Intercambiador 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.	84
Figura 54.	Centrífuga de Disco 2 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.	85
Figura 55.	Filtro de membrana 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol	86
Figura 56.	Cristalizador- Diagrama PFD para la producción de xilitol.	87
Figura 57.	Secador 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.	88

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Composición química de las semillas de tamarindo	25
Tabla 2. Generalidades de los microorganismos a usar	26
Tabla 3. Diseño Experimental	40
Tabla 4. Peso cápsula vacía y con materia prima para % de Cenizas	41
Tabla 5. Resultados de % de Cenizas	42
Tabla 6. Resultados estadísticos para el % de Cenizas.	42
Tabla 7. Peso cápsula vacía y con materia prima para % de Humedad Relativa	43
Tabla 8. Resultados de % de Humedad Relativa	44
Tabla 9. Resultados estadísticos de % de Humedad Relativa	45
Tabla 10. Tamaño de Partícula y malla final	46
Tabla 11. Resultados de Granulometría.	47
Tabla 12. Distribución de partículas para hidrólisis ácida	46
Tabla 13. Preparación H ₂ SO ₄ hidrólisis ácida	46
Tabla 14. Cantidades totales para el proceso de hidrólisis ácida	47
Tabla 15. Cantidades totales para la neutralización de la hidrólisis ácida por vaso.	47
Tabla 16. Condiciones de las cajas de Petri para el cultivo de los inóculos	47
Tabla 17. Condiciones de fermentación de los inóculos	47
Tabla 18. Conteo celular por cada levadura y diferente tamaño de partícula	49
Tabla 19. Condiciones de fermentación	50
Tabla 20. Conteo celular de la fermentación final.	52
Tabla 21. Fermentación Final – Obtención de xilitol.	54
Tabla 22. Diseño de Experimentos - Diseño Factorial 2x2x2	60
Tabla 23. Resumen de cálculos del diseño de experimentos	60
Tabla 24. Máquinas a usar para el proceso de producción semi industrial de xilitol	64
Tabla 25. Propiedades de la materia prima	65

Tabla 26.	Propiedades del producto	66
Tabla 27.	Conversión y selectividad porcentual en la reacción	70
Tabla 28.	Resumen de balance de masa por corrientes del proceso	89

RESUMEN

Este proyecto de investigación tuvo como objetivo inicial realizar un comparativo entre dos levaduras *Candida Tropicalis* y *Candida Guillermondii* para la producción de xilitol a partir de la semilla de tamarindo. El cual, por razones de disponibilidad, se termina realizando un comparativo entre las levaduras *Candida Tropicalis* y *Saccharomyces Cerevisiae*, en donde este corresponde a un estudio a escala laboratorio, en el que por medio de una hidrólisis ácida se busca romper los enlaces de la glucosa con la D-xilosa provenientes de la semilla a razón de obtener la D-xilosa como el producto de interés y posteriormente fermentarla con las levaduras anteriormente nombradas para así conocer cuál de ellas obtiene mayor producción de este azúcar orgánico.

La variable de estudio estuvo enfocada en dos partes, la primera correspondiente a la cantidad de D-xilosa obtenida en el proceso de hidrólisis y la segunda a la cantidad de xilitol producido en el comparativo entre levaduras durante el proceso de la fermentación. En razón a la segunda parte del proceso, se cuantificaron los resultados por medio del método de la cromatografía líquida (HPLC), arrojando como resultado que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtuvo una mayor producción de xilitol a las 72 horas de 1,629 g/L para un tamaño de partícula de 0,381 mm, mientras que la levadura *Candida Tropicalis* obtuvo una producción de xilitol de 0,627 g/L para el mismo tamaño de partícula.

El diseño experimental se basó en tomar como variable independiente las levaduras a usar y la dependiente el tiempo que va a durar en realizarse la fermentación de la D-xilosa, que corresponde a un tiempo de 24 y 72 horas, buscando así evidenciar y comprobar según el tiempo cuál va a ser la concentración producida del xilitol. Los datos obtenidos durante esta práctica fueron procesados a través de una ANOVA.

Finalmente, para este proyecto se realiza un escalamiento de tipo semiindustrial, en el cual se planteó un flujo de materia prima de 70 kg/h de entrada y se evidenció que su masa final convertida en xilitol fue de 11,827 kg/h por hora

Palabras clave: xilitol, D-xilosa, hidrólisis ácida, fermentación, semilla de tamarindo, *Candida Tropicalis*, *Candida Guillermondii*, *Saccharomyces Cerevisiae*, semiindustrial

INTRODUCCIÓN

El xilitol ($C_5H_{12}O_5$), también conocido como azúcar de abedul, es un polialcohol de cinco átomos de carbono, se prepara por la reducción del azúcar xilosa mediante hidrogenación catalítica y es principalmente obtenido de la madera de abedul. Éste tiene el mismo potencial edulcorante que la sacarosa, pero, posee un contenido calórico de 2,4 kcal /g en comparación con 4 kcal /g de la sacarosa. Además, posee distintos beneficios para la salud, se reduce el daño ambiental causado por la producción de azúcar a través de la caña, en aspectos socioeconómicos del país y por último para la industria farmacéutica. [1]

A partir de una investigación se verificó que la fuente principal para la obtención de xilitol partía del árbol de abedul, del cual actualmente no se encuentra registro de especímenes de este tipo en Colombia, sin embargo, se encontró que el xilitol puede ser extraído a partir del uso de levaduras, en donde a partir de la biotransformación se realiza un proceso utilizando bacterias y algunos hongos capaces de asimilar y fermentar la xilosa a xilitol, etanol y otros compuestos. [1][2]

Gracias a los estudios de la producción de xilitol, se ha logrado determinar que su campo de producción es muy amplio y que aún requiere de continuas investigaciones las cuales permitan determinar que otras materias primas y familias de microorganismos se pueden usar para hacer un proceso mucho más eficiente.

En este caso, se propone realizar una investigación centrada en la producción de xilitol, usando como sustrato las semillas de tamarindo provenientes de Santa Fe de Antioquia, las cuales, según consulta de literatura, no cumplen con una economía circular y son consideradas biomasa de desecho, como se logra evidenciar en la parte inferior de la **Figura 1**. Es importante tener en cuenta que al año se genera un desperdicio del 100% correspondiente a los cultivos que se tiene de esta fruta, es decir, hay un desperdicio de 30 toneladas por hectárea cultivada. [3]

Figura 1.

Fruta de Tamarindo con su semilla



Nota. Esta figura representa la fruta de tamarindo con su semilla. Tomado de Traxco, “Cultivo del tamarindo,” El Blog De Traxco, Jun. 2023, [Online]. Available: <https://www.traxco.es/blog/produccion-agricola/cultivo-del-tamarindo>

La relevancia de este trabajo, está centrada en tres focos principales, la primera es generar economía circular en torno a los residuos de las pepas de tamarindo, que permita aprovechar estos desechos orgánicos que se dan en esta parte de la región colombiana. Segundo, que por medio de esta investigación se pueda incentivar el cultivo de esta fruta la cual podría aportar con lo propuesto en el informe 23 de United Nations Office on Drugs and Crime para Colombia con la erradicación de los cultivos ilícitos en el país, en especial en el departamento de Antioquia, dándole así la oportunidad a los campesinos de cambiar estos cultivos, por unos que les permitan dar un sustento a sus familias de forma legal.[4] Por último, se tiene la producción de xilitol, el cual como se ha dicho es un polialcohol de cinco átomos de carbono, que es obtenido por la reducción del azúcar xilosa mediante hidrogenación catalítica, este tiene el mismo potencial edulcorante que la sacarosa, el cual aportaría de forma significativa su uso en la industria alimentaria y de la salud con grandes beneficios para la salud.[5]

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la obtención de xilitol partiendo de la D-xilosa extraída de la semilla de tamarindo por medio de un proceso de hidrólisis ácida, junto con una posterior fermentación de la D-xilosa con levaduras provenientes de la familia *Candida sp.* a escala laboratorio.

Objetivos Específicos

- Extraer la D-xilosa proveniente de la semilla de tamarindo mediante una hidrólisis ácida luego de una fermentación con dos especies diferentes de levaduras correspondientes a la *Candida sp.* y así transformarla a xilitol.
- Comparar el medio fermentativo entre las dos levaduras *Candida Tropicalis* y *Candida Guillermondii* con respecto al rendimiento del xilitol.
- Realizar el diseño conceptual de una planta a escala semi-industrial del proceso productivo de xilitol proveniente de la transformación de la D-xilosa.

1. GENERALIDADES

1.1 Xilitol

El Xilitol, es un alcohol pentahidroxilado denominado como un poliol que contiene cinco átomos de carbono, el cual es obtenido gracias a la reducción de la D-Xilosa. Este azúcar puede ser producido de dos formas: química y bioquímicamente (a partir de biotransformación) [68] [69]. El xilitol fue descubierto a finales del año 1960 por el químico alemán Emil Fisher con la ayuda de su alumno en ese entonces, Rudolf Stahel, quienes adelantaron una investigación sobre los derivados de la xilosa, en donde por medio del árbol de abedul, presente en Alemania, se dieron cuenta que se podía producir un azúcar natural y que podría llegar a ser el sustituto del azúcar industrial de esa época. [15] [70]

Gracias a los estudios de la producción de xilitol, se ha logrado determinar que su campo de producción es muy amplio ya que la producción de xilitol ha tenido un impacto positivo, puesto que se encontró que la xilosa, la cual es usada como materia prima para dicha producción, no solo se encuentra en el árbol de abedul como se creía inicialmente, sino que adicionalmente se encuentra en variedad de frutas, verduras y semillas provenientes de las mismas; un claro ejemplo de ello corresponde a las fresas, coliflor, maíz, cáscaras de naranja, semillas de tamarindo, cáscara de arroz, cáscaras de Camú Camú, yucas, entre otros. [9-20] [71]

El xilitol ha tenido un gran impacto en el mercado y una participación del 12% en el mercado total de polioles, puesto que, gracias a todos los componentes nombrados anteriormente, le permite que se expanda rápidamente. El mercado global de xilitol en 2016 fue de 190,900 toneladas y se espera alcanzar 266,500 toneladas en 2022 con un precio aproximado de más de mil millones de dólares. Debido a sus múltiples beneficios, el mercado está creciendo con un aumento del 6% anual haciendo que este método químico sea de un alto costo a nivel económico y que tenga un mayor consumo de energía por el mismo. La producción biotecnológica de xilitol es ambientalmente segura y no utiliza catalizadores tóxicos. Según informes la producción anual de xilitol en Europa es de 20.000 a 40.000 toneladas al año, las cuales tienen un precio estimado de 40 a 80 millones de euros. [66] [67]

1.1.1 Propiedades Fisicoquímicas

El xilitol es un polvo cristalino que se encuentra en estado sólido, el cual es bastante soluble en agua y en etanol al 96% que posee una densidad de 1,52 kg/m³, con una masa de 152,15

g/mol, adicionalmente tiene un punto de fusión de 92-94,5°C y un punto de ebullición de 216°C. Posee un punto de inflamabilidad de -135°C y una temperatura de auto ignición de 515°C con un límite de explosividad del 3-12,5%. [74] [75]

1.1.2 Usos y Propiedades

El xilitol se utiliza en la industria farmacéutica como edulcorante, actuando como agente de recubrimiento, diluyente, emoliente, y humectante; adicionalmente tiene usos en la industria de alimentos como un edulcorante potenciador del volumen en alimentos preparados sin azúcar, ya que al tener propiedades anticariogénicas, tiene una menor probabilidad de causar caries dental que la sacarosa presente en la mayoría de productos alimenticios procesados, puesto que el xilitol logra tener el mismo nivel edulcorante con una menor cantidad de kilo calorías por gramo en comparación con la sacarosa permitiendo que se metabolice mucho más rápido junto con una generación baja de tejido adiposo y finalmente permite que sea consumido con personas con diabetes, puesto que no altera su nivel de glucosa en la sangre. [17] [75]

1.2 Métodos de Obtención del Xilitol

Para la obtención del xilitol existen dos métodos para su producción, en donde en el primer método se encuentra la conversión química, en el cual, para obtener xilitol se usa en la primera parte del proceso, una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 1%, para de esta forma lograr romper los enlaces presentes en la hemicelulosa y lignocelulosa que se encuentra en la biomasa a usar y así, realizar un proceso hidrogenación sobre un catalizador Níquel Raney, permitiendo lograr la conversión de la xilosa a xilitol.

Durante este método, dicho catalizador debe contar con unas condiciones de altas temperaturas, las cuales se encuentren alrededor de los 80 y 140°C junto con una presión mayor a 50 atm. Posterior a la hidrogenación, se debe remover por medio de una filtración para así proceder a cuantificar sus datos y cristalizar el producto final. Es importante tener en cuenta que este proceso es costoso y tiene una tendencia a producir compuestos secundarios indeseados. [72] [73]

En el segundo método, se encuentra la conversión bioquímica, que se da partir de la síntesis de la xilosa con microorganismos, en donde también se parte inicialmente de una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico, pero en este caso el ácido se encuentra al 3%, esto con el fin de lograr romper más rápido los enlaces de la hemicelulosa presente en la biomasa a usar.

Posteriormente, se procede a realizar un proceso fermentativo usando levaduras, las cuales por lo general pertenecen al género *Candida sp.* [72] [73]

Durante este método, es importante mantener las condiciones adecuadas para la fermentación como lo son mantener una temperatura de 30°C y una agitación horizontal constante de 150 rpm durante 72 horas para de esta forma obtener el producto deseado. Es de considerar que este proceso no es tan costoso como el de la hidrogenación, pero su tendencia a producir compuestos secundarios es mucho más baja y se pueden separar por el método de HPLC. [72] [73]

1.2.1 Géneros y especies de levaduras usadas

Actualmente, para la producción de xilitol se han encontrado múltiples estudios con respecto a su producción y obtención de materia prima. Entre estos estudios, se ha caracterizado el uso de materias primas como lo son las cáscaras de frutas cítricas y semillas de algunas frutas dulces; almidones y el bagazo de la caña de azúcar. Estas materias primas tienen en común el contenido de D-glucosa y D-xilosa que al momento de su hidrólisis ácida y fermentación con los microorganismos del género *Candida sp.* y el género *Kluyveromyces sp.*, han permitido la obtención de este producto azucarado orgánico biológico.

Entre esas se encuentra la cáscara de frutas cítricas como se ha nombrado anteriormente, en este caso se encuentra aplicado con el uso de la cáscara de naranja como sustrato. El estudio fue por parte de la Universidad de la Salle propuesto por Mayra Alejandra Ávila Rodríguez y Laura Carolina Olaya, el cual habla de que actualmente en el departamento de Cundinamarca existen 11.331 ton/año de desperdicios, los cuales fueron aprovechados para la transformación de xilosa que contenían dichas cáscaras en xilitol. Durante esta transformación de la materia, ellos comentan que para la degradación de esta materia prima usan inicialmente una hidrólisis ácida que les permite romper los enlaces D- glucosa y D- xilosa presentes en el sustrato los cuales posteriormente son degradados por medio del microorganismo *Candida Rugosa*, proveniente del género *Candida sp.* Este estudio resalta, que gracias a la cantidad de fibra que contiene la cáscara de naranja logran una obtención de xilitol entre 1,09 g/L y 1,3 g/L. Su aporte a esta investigación, estuvo basada, no solo la implementación de la cáscara de naranja como principal biomasa para producir xilitol, sino que adicionalmente evidenciaron cómo sería su aplicación en un biorreactor a nivel escala de una planta y allí hacen su comparativo entre las dos formas de fermentación para obtener finalmente el xilitol. [62]

Posteriormente, se tiene un estudio con las semillas de tamarindo por parte de la revista mexicana de Ingeniería Química de los autores R. Martínez-Corona, J.C. Gonzalez-Hernandez, V. Radames-Trejo , C. Cortes-Penagos, M.C. Chavez-Parga y M.A. Zamudio-Jaramillo, en donde allí hablan sobre la composición de la semilla de tamarindo presente en México, allí nombran que dicha semilla tiene un contenido del 20% de xiloglucano, el cual es útil para la obtención del xilitol por medio de una hidrólisis ácida que permite realizar un rompimiento de enlaces presentes en el xiloglucano junto con un tratamiento térmico que les permitió obtener un sustrato rico en D-xilosa, que es degradada por medio de la fermentación con el microorganismo *Kluyveromyces marxianus*; según su diseño de experimentos, lograron obtener un rendimiento final de 0,57 g/L. Su aporte con este artículo fue que no solo el género *Candida sp.* es útil para la obtención de xilitol, sino que incentiva a investigar otros géneros de levaduras que puedan aplicar a este proceso productivo. [63]

Luego, se tiene el estudio del departamento Tecnológico de Biotecnología e Ingeniería Química de la Universidad de Sao Paulo, Brasil de los autores Maria G. A. Felipe, Michele Vitlot, Ismael M. Mancilha y Silva S. Silva, en el cual utilizan un método de fermentación del bagazo de caña de azúcar, en donde dicho sustrato es hidrolizado por un medio ácido, que en este caso dicho medio corresponde al H₂SO₄. Posteriormente de que se hidroliza el sustrato elegido, se procede a la obtención del xilitol utilizando en el método fermentativo con diferentes microorganismos, pero todos provenientes del género de la *Candida sp.* (*Candida Guilliermondii*, *Candida Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Candida boidinii* y *Candida Pichia stipitis*). En este caso, obtuvieron un comparativo entre diferentes medios fermentativos a las mismas condiciones, los cuales como resultado les permitió evidenciar que el mejor microorganismo para la producción de xilitol con el bagazo de caña de azúcar es la *Candida Guilliermondii*, el cual les arrojó un rendimiento final de 2,0 g/L de xilitol. Su aporte a esta investigación está relacionado con el amplio uso de levaduras en la fermentación de la xilosa y producción del xilitol, adicionalmente utilizan como biomasa principal el bagazo de caña, el cual hoy en día es uno de las grandes problemáticas que tiene los productores de azúcar con caña. [64]

Finalmente, se tiene un estudio de la revista científica *Biotechnology for Biofuels* por parte de los autores Ke-Ke Cheng, Jing Wu, Zhang-Nan Lin y Jian-An Zhang, donde mencionan el uso de la mazorca de maíz como sustrato principal para la obtención del xilitol. Realizan un pretratamiento con un medio ácido es decir una hidrólisis, que posteriormente es fermentada

con el género de microorganismo *Candida sp*, especialmente con el microorganismo *Candida Tropicalis*, la cual demostró que fue capaz de degradar dicha biomasa por medio de una sacarificación anaeróbica simultánea obteniendo como rendimiento final 0,32 g/L de xilitol. Su aporte estuvo relacionado con la biomasa elegida, puesto que demuestran que de manera alterna pueden producir metanol y xilitol utilizando la mazorca de maíz, dándole unas condiciones de adaptación similares y que el proceso a realizar no es complicado y que es viable realizarlo. [65]

1.2.2 Usos convencionales

Sus usos convencionales se encuentran en estudios científicos los cuales hablan de que se han implementado en gomas de mascar para la prevención de caries dental, adicionalmente se ha encontrado que se ha usado en jarabes para la otitis media aguda, cremas dentales y para endulzar alimentos que lo requieran, entre ellos se encontró que se ha usado para endulzar leches en polvo y dulces como osos de gomas. [76] [77]

1.3 Tamarindo

El tamarindo (*Tamarindus indica L.*) es una fruta procedente de África que pertenece a la familia Fabaceae, proviene de un árbol que alcanza un tamaño alrededor de los 20 metros, aunque generalmente es de crecimiento; su fruto mide de 5 cm a 12 cm de longitud, con dos a seis semillas en su interior; este fruto es de fácil cultivo y adaptación con una alta resistencia a las altas temperaturas y sequías, ya que suele darse en temperaturas entre los 20 y 38°C, pero tiene una baja resistencia a las heladas puesto que esto afecta su crecimiento. Adicionalmente su pulpa comestible, es de color café claro, que recubre la semilla y es de sabor agridulce [7]; tiene un contenido de sustancias orgánicas de las cuales entre el 8 y 12% corresponden a ácidos orgánicos tales como cítrico, acético, ascórbico, es especial presenta ácido tartárico, pectina, vitaminas y minerales y un 30 y 40% corresponde al contenido de azúcares presentes entre ellos se encuentra el xiloglucano o galactoxiloglucano, sacarosa, lactosa, maltosa, trehalosa, entre otros. una pulpa comestible de color [78] [79]

La planta de tamarindo se propaga por la semilla y esta comienza a dar sus frutos a los cinco años de haber sido plantada. Su cultivo se dio inicialmente en el continente africano, el cual para mediados del siglo XVI este fue expandiéndose llegando al continente asiático y finalmente al continente americano gracias a las condiciones ambientales. En base a lo anterior, hoy en día, esta fruta se encuentra sembrada en más de 54 países y es principalmente

reconocido por sus propiedades antioxidantes, los cuales se encuentran relacionados con la presencia de compuestos polifenólicos junto con aplicaciones en la industria alimentaria en presentaciones como jugos, dulces, jaleas, entre otros. [80] [85]

1.3.1 Producción Mundial

La producción de tamarindo a nivel mundial se encuentra alrededor de los 400-500 millones de toneladas, esto con respecto a la alta presencia de este fruto en el mundo. De los cuales la India es el país que ocupa el primer puesto frente a la producción mundial de Tamarindo, con una producción anual de 300 mil toneladas. En segundo lugar, se encuentra Costa Rica, con una producción que se encuentra alrededor de más de 220 mil toneladas de producción anual. Adicionalmente, en tercer lugar, se encuentra el país de Tailandia con una producción de 150 mil toneladas y México con una producción de 39 millones de toneladas anuales [86]

1.3.2 Producción Nacional

En Colombia, para el 2019, se estimó que la producción de tamarindo se encontraba en 219 toneladas anuales según lo reportado en un informe en conjunto entre el Jardín Botánico de Cartagena, Agroindustria Dorada S.A.S. y Pacifico Consulting S.A.S, de las cuales informan que para ese año fueron sembradas 37 hectáreas anuales siendo el 8% de las 4.680 toneladas (total promedio anual) de los frutos nativos del bosque seco tropicales sembrados en el país. Es de resaltar que una de la mayor parte de producción de tamarindo en el país proviene del municipio de Santa Fe de Antioquia, puesto que se cultivan 30 toneladas por hectárea, viéndose beneficiado su crecimiento por sus condiciones climáticas que corresponde a una temperatura de 31-33°C, junto con una humedad relativa del 77,85 % en la temporada seca; que corresponde desde diciembre hasta marzo y un 90% en temporada húmeda; que va desde marzo a noviembre. Tiene una latitud de 6,5° al Ecuador, junto con suelos profundos, que le permite tener un buen drenaje y finalmente estos suelos presentan un pH neutro. [87] [88] [89]

1.3.3 Usos y Propiedades

El tamarindo tiene propiedades antioxidantes, las cuales ayudan en la reducción de enfermedades cardiovasculares, tumores y enfermedades neurodegenerativas, asimismo funciona como un laxante natural, ya que al ser rico en fibra, ayuda al buen funcionamiento del organismo; sirve como un diurético natural por medio del jugo de tamarindo puesto que estimula una mayor producción de orina en el cuerpo; actúa como un antiinflamatorio, ayudando a reducir la inflamación en las articulaciones, en los músculos y vasos sanguíneos y

también sirve para el cuidado capilar y dermatológico, puesto que favorece el crecimiento y regeneración de células de la piel.

Por otro lado, esta fruta es utilizada comúnmente en la industria de alimentos, en especial en platos culinarios, en donde se le ha dado un uso como condimento para sazonar algunos alimentos, asimismo se ha usado para realizar salsas, jugos, jaleas y dulces artesanales, los cuales son mucho más comunes en México y la India [90] [91]

1.4 Semillas de Tamarindo

Las semillas de tamarindo se han empleado desde épocas antiguas debido a sus propiedades nutricionales y aportes a la salud; es proveniente de la planta *Tamarindo indica* y es de las pocas especies de leguminosas en las que se usan todo lo que compone al fruto en sí. La particularidad que se logra observar, es que, al momento de obtenerse las semillas de este fruto, que son albergadas en su interior, su morfología corresponde a una especie de bolsas de color marrón y de forma semi almendrada como se muestra en la **Figura 2**. [7]; adicionalmente, estas semillas tienen una forma ovalada comprimida lateralmente de color café, con un tamaño aproximado de 1 cm de largo, el cual es una legumbre que es indehiscentes, es decir que su pericarpio no se abre de forma espontánea para dispersar las semillas en el lugar donde se busque cultivar; adicionalmente presenta cotiledones gruesos y una radícula pequeña y recta; esto le permite tener la morfología que comúnmente se observa y posee una forma de reproducción de tipo hermafrodita; adicionalmente estas semillas tienen un tiempo de germinación bastante corto, puesto que la cabo de 10 días ésta ya empieza su proceso. [92] [93]

Figura 2.

Semillas de Tamarindo



Nota. Esta figura representa las semillas de tamarindo. Tomado de J. A. Mula. “Cultivo del tamarindo - Agromática”. Agromática. [En línea]. Disponible: <https://www.agromatica.es/cultivo-del-tamarindo/>

Las semillas de tamarindo contienen polisacáridos, proteínas y aceites. La composición química está integrada por: agua 11,3 %, proteína 13,3 %, grasa 5,4 %, carbohidratos 57,1 %, ceniza 4,1 % y fibra cruda 8,8 % como se muestra en la **Tabla 1.**, de los cuales entre eso encontramos la presencia de glucosa y D-xilosa útil para la producción del xilitol. [8]

Tabla 1.

Composición química de las semillas de tamarindo

Componente		Promedio (%)
Agua		11,3
Grasa		5,4
Carbohidratos		57,1
Ceniza		6,0
Fibra Cruda		8,8
Proteína		13,3
Aminoácidos contenidos en el 13,3% de proteína	Ácido glutámico	18,0
	Ácido aspártico	11,6
	Glicina	9,1
	Leucina	8,2
	Metionina, treonina, valina, cisteína, entre otros	53,1

Nota. Esta tabla muestra las propiedades fisicoquímicas de las semillas de Tamarindo

Adicionalmente, se ha encontrado que la semilla de tamarindo dentro de sus carbohidratos, contiene un 50% de un heteropolisacárido ramificado llamado xiloglucano, que consiste principalmente en D-glucosa, D-xilosa, D-galactosa y L-arabinosa., adicionalmente que contiene compuestos secundarios como alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos totales y taninos, que pueden alcanzar concentraciones de hasta 7.1 ± 0.31 % de materia seca. [94] [95]

1.4.1 Propiedades Fisicoquímicas

Las semillas de tamarindo tienen de un color café con una longitud de semilla de 1,43cm y un ancho de semilla de 1,12 cm, adicionalmente cuenta con un espesor de 0,76cm, un peso

promedio de 0,78g por semilla junto con un volumen de 0,74mL y una densidad promedio de 0,11g/mL. No se encuentran datos referentes al punto de fusión y ebullición. [96]

1.4.2 Usos y Propiedades

Según estudios, han determinado que las semillas de tamarindo tienen un gran aporte de vitaminas y minerales al cuerpo las cuales contribuyen al mejoramiento de problemas de estreñimiento junto con la regulación de los niveles de colesterol y azúcar en la sangre al consumirse de forma tostada como un snack o en harina para un mayor aprovechamiento de estos compuestos. [6] [97]

Asimismo, en los últimos años no solo se les ha dado un uso culinario a las semillas, sino que, a nivel de investigación, se ha observado y estudiado que las semillas de tamarindo tienen la capacidad de ser un coagulante natural en el tratamiento de aguas turbias en donde ha aportado en la disminución de la carga contaminante presente, ya que las semillas se encuentran compuestas de carbohidratos, proteínas, y agua, junto con la parte proteica que corresponde al ácido glutámico y el ácido aspártico los cuales serían los causantes de que el proceso de coagulación. [98]

1.5 Generalidades – Microorganismos

En el presente estudio, se buscaron 5 referencias bibliográficas con respecto a las levaduras *Candida Tropicalis* y *Candida Guillermondii* propuestas al inicio del documento en cuanto a su relación que tienen en la producción de xilitol como se observa en la **Tabla 2**. No obstante, también se presenta sustentación bibliográfica para la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, puesto que se decide cambiar la *Candida Guillermondii* por esta levadura por temas de disponibilidad y costos.

Tabla 2.

Generalidades de los microorganismos a usar

Tipo de Levadura	Sustrato usado	Producción de Xilitol	Referencia
	Maíz	0,32 g/L	[65]
	Cáscara de Camú Camú	0,67 g/L	[19]

<i>Candida Tropicalis</i>	Cáscara de nuez de areca	2,47 g/L	[99]
	Bagazo de caña de azúcar	52,10 g/L	[100]
	Corazón de Piña	4,29 g/L	[101]
<i>Candida Guillermondii</i>	Bagazo de caña de azúcar	2,00 g/L	[64]
	Cascarilla de arroz	0,57 g/L	[44]
	Paja de Trigo	23,9 g/L	[102]
	Maíz	0,87 g/L	[103]
	Residuos de palma de aceite	6,70 g/L	[104]
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	Residuos de maíz	11,8 g/L	[105]
	Cascarilla de arroz	3,00 g/L	[106]
	Paja de Trigo	45,41 g/L	[107]
	Frutos vacíos de palma de aceite	2,76 g/L	[108]
	Cáscara de avena y soja	8,17 g/L	[109]

Nota. Esta tabla demuestra las interacciones entre las levaduras a usar en el proyecto con los diferentes tipos de biomasa usada para la producción de xilitol.

Teniendo en cuenta la búsqueda bibliográfica anterior, se logra observar que las producciones de xilitol se encuentran relacionados con las condiciones de proceso, ya que la mayoría de artículos tienen condiciones de proceso para reactores de tipo batch, los cuales no solo confirman que es posible realizar esta producción a una escala semiindustrial, sino que adicionalmente hay variedad de sustratos que se repiten con las distintas levaduras, dando la oportunidad a mejorar las condiciones del proceso para así lograr un rendimiento y concentración mayor de producción.

2. METODOLOGÍA

2.1 Materiales y Métodos

Materiales

Los materiales usados para la producción de xilitol parte de 500g de semilla de tamarindo, correspondientes a la materia prima para el desarrollo de este proyecto de investigación.

Método

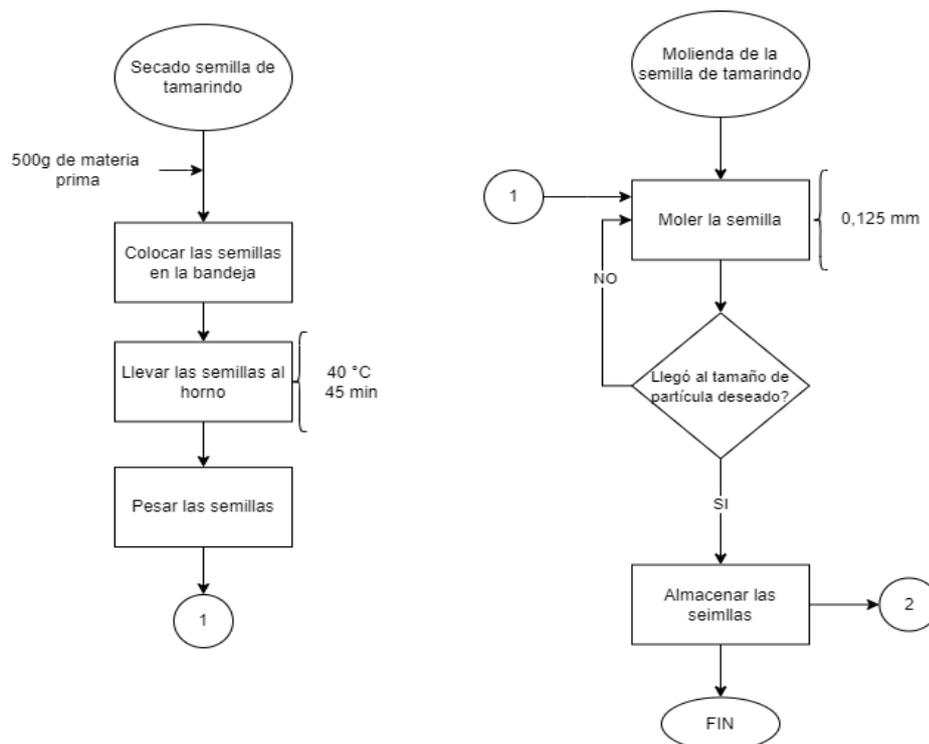
Durante la realización de este proyecto se plantearon seis (6) etapas para poder llegar a la producción de xilitol que se presentan a continuación:

2.1.1 Molienda

Para la molienda de la semilla de tamarindo, esta se realizó por medio de un molino de martillos para lograr la reducción en el tamaño de partícula. Se tuvo en cuenta las referencias bibliográficas con respecto al tamaño las cuales indicaban que esta debe encontrarse en un tamaño aproximado de 0,125 mm. Esta primera parte del proceso es de suma importancia porque define cuanto podría llegarse a obtener de xilosa. [21]

Figura 3.

Diagrama de procesos para la molienda



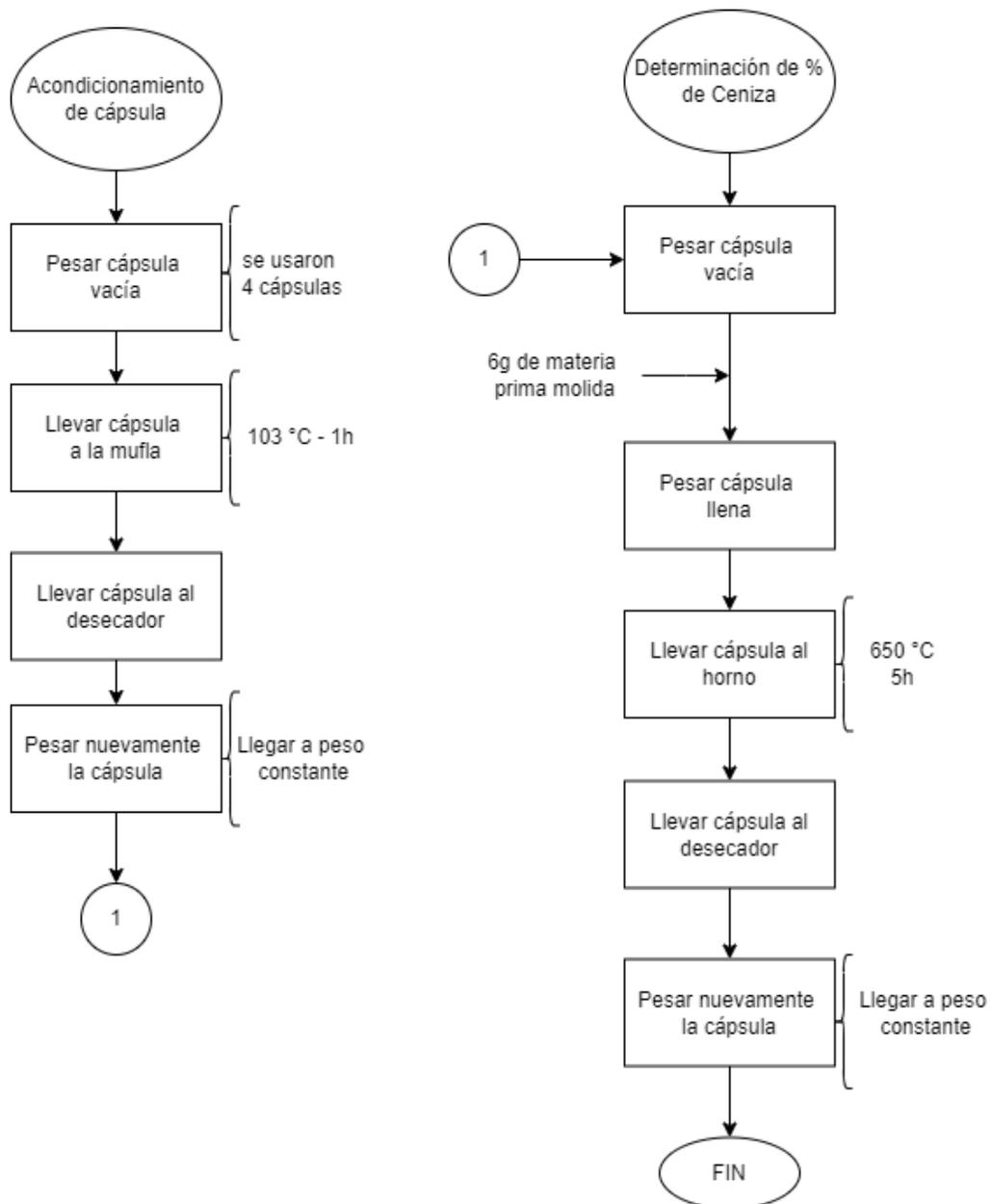
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso de molienda de la materia prima

2.1.2 Porcentaje de Cenizas

Para la determinación del porcentaje de cenizas de las semillas de tamarindo ya molidas y tamizadas se tiene en cuenta que por bibliografía este porcentaje se encuentra alrededor del 6% en donde estas se determinaron a partir del protocolo de cenizas según la norma NTC-ISO 2171:2021 [22],

Figura 4.

Diagrama de procesos para determinar el porcentaje de cenizas



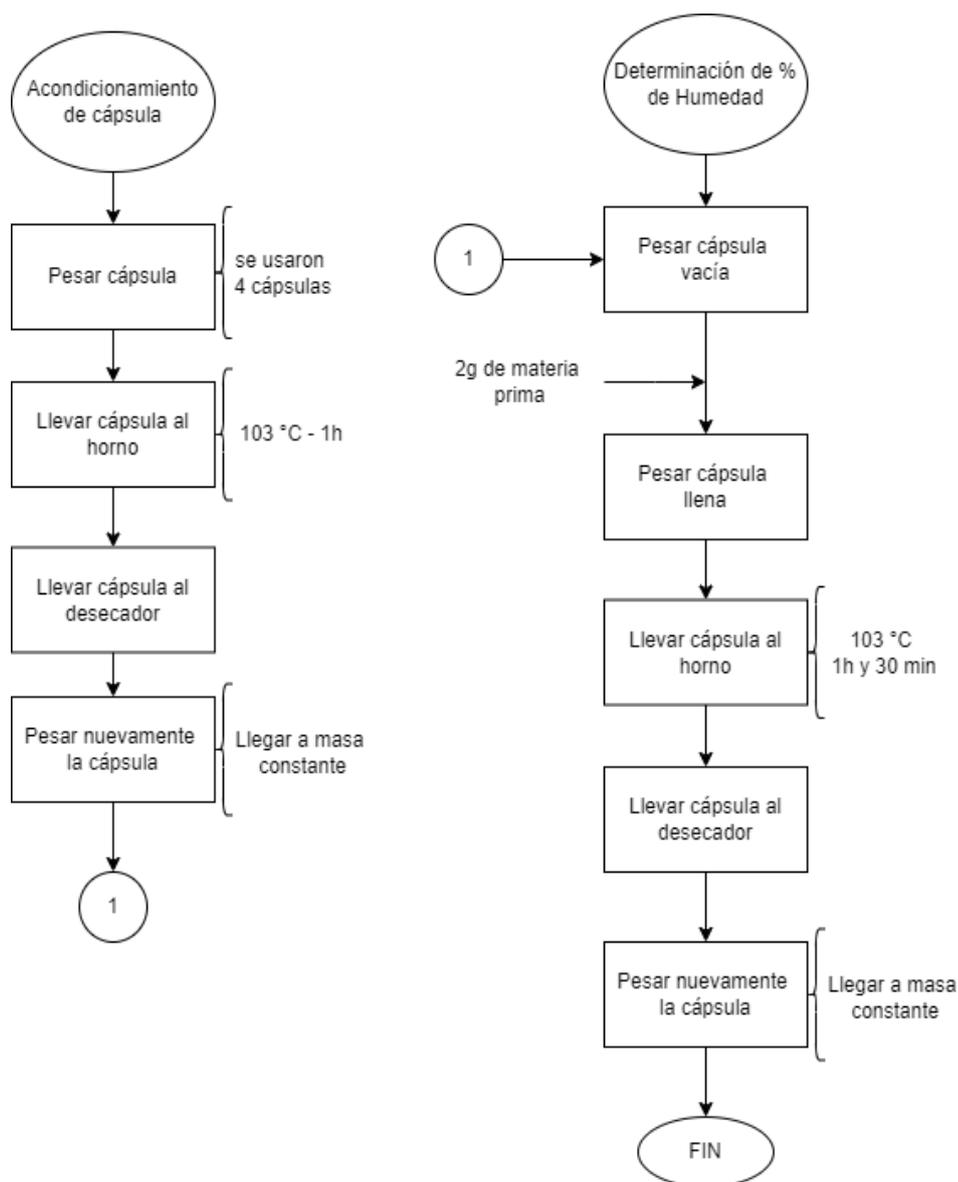
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para la determinación del porcentaje de cenizas de la materia prima

2.1.3 Porcentaje de Humedad Relativa

Para la determinación del porcentaje de humedad relativa para las semillas de tamarindo, se tuvo en cuenta la norma NTC 6375:2019 [23], en donde por medio de este método se logra establecer la cantidad de humedad presente en las semillas en relación con su capacidad máxima de retención de humedad la cual según bibliografía corresponde a un 11,3%.

Figura 5.

Diagrama de procesos para determinar el porcentaje de humedad relativa



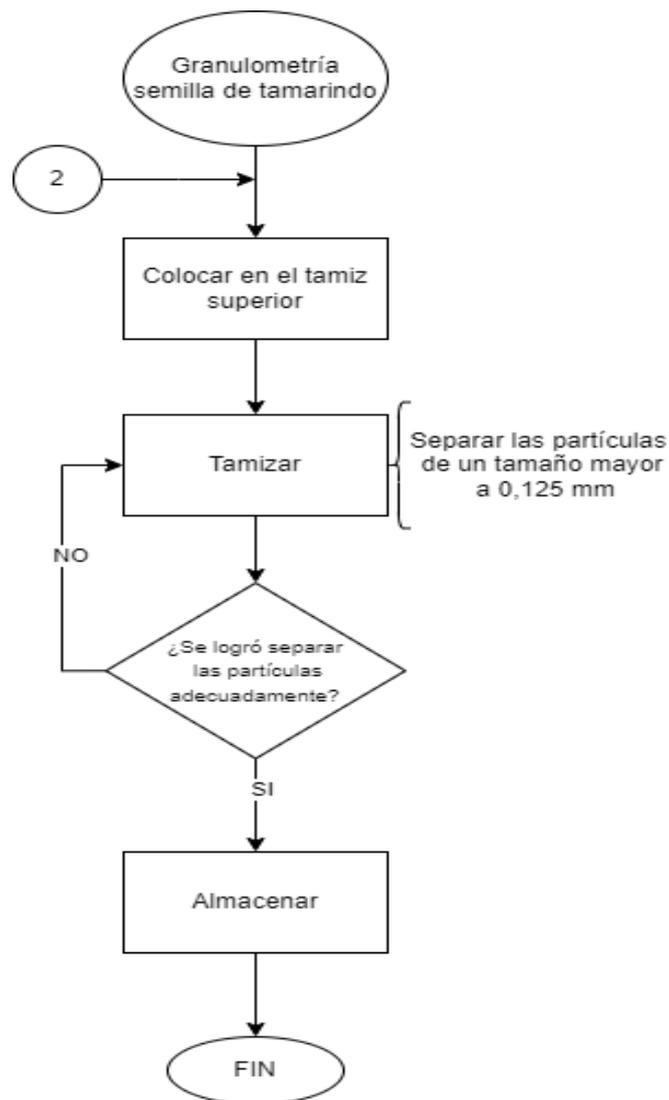
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para la determinación del porcentaje de humedad relativa de la materia prima

2.1.4 Granulometría

En el análisis granulométrico que se le va a realizar a las semillas de tamarindo, es necesario usar todas las mallas de los tamices junto con su agitador mecánico, esto con el fin de verificar si el tamaño de partícula deseado es el adecuado o en efecto es necesario realizar nuevamente el proceso. A razón de lo anterior, este procedimiento se basa en la NTC 77, [24]

Figura 6.

Diagrama de procesos para determinar la granulometría



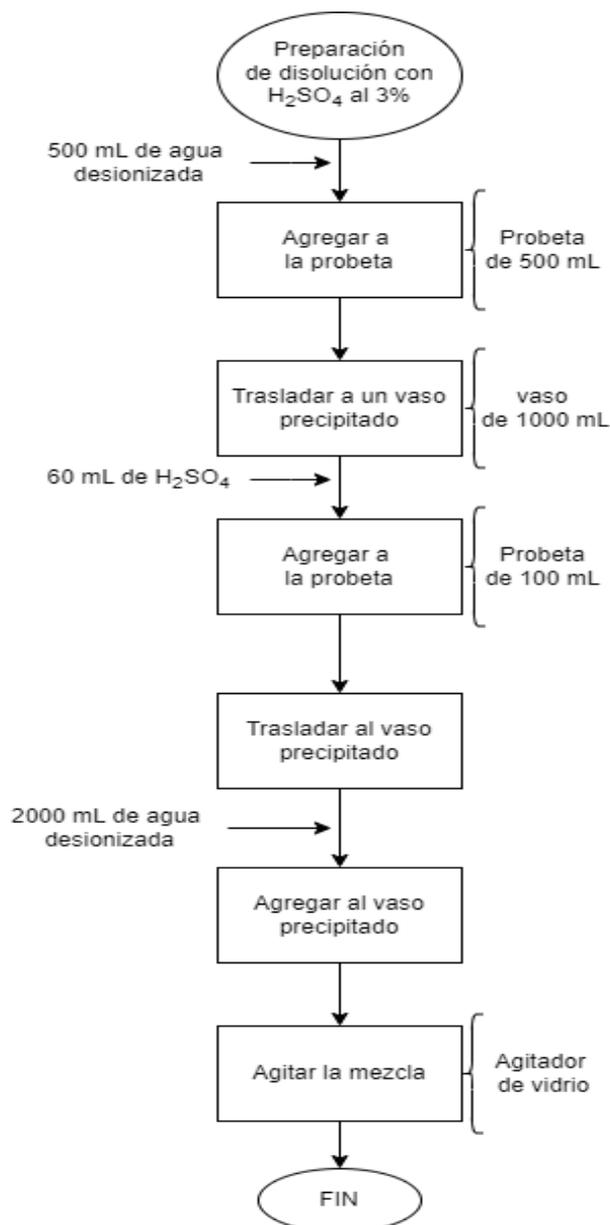
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para el análisis de granulometría de la materia prima

2.1.5 Hidrólisis Ácida

2.1.5.a Preparación de disolución de ácido sulfúrico al 3%: En la preparación de la disolución de ácido sulfúrico, se tiene en cuenta la NTC 1084:1998 [25], la cual explica el procedimiento adecuado para realizar la hidrólisis ácida.

Figura 7.

Diagrama de procesos para la disolución de ácido sulfúrico al 3%

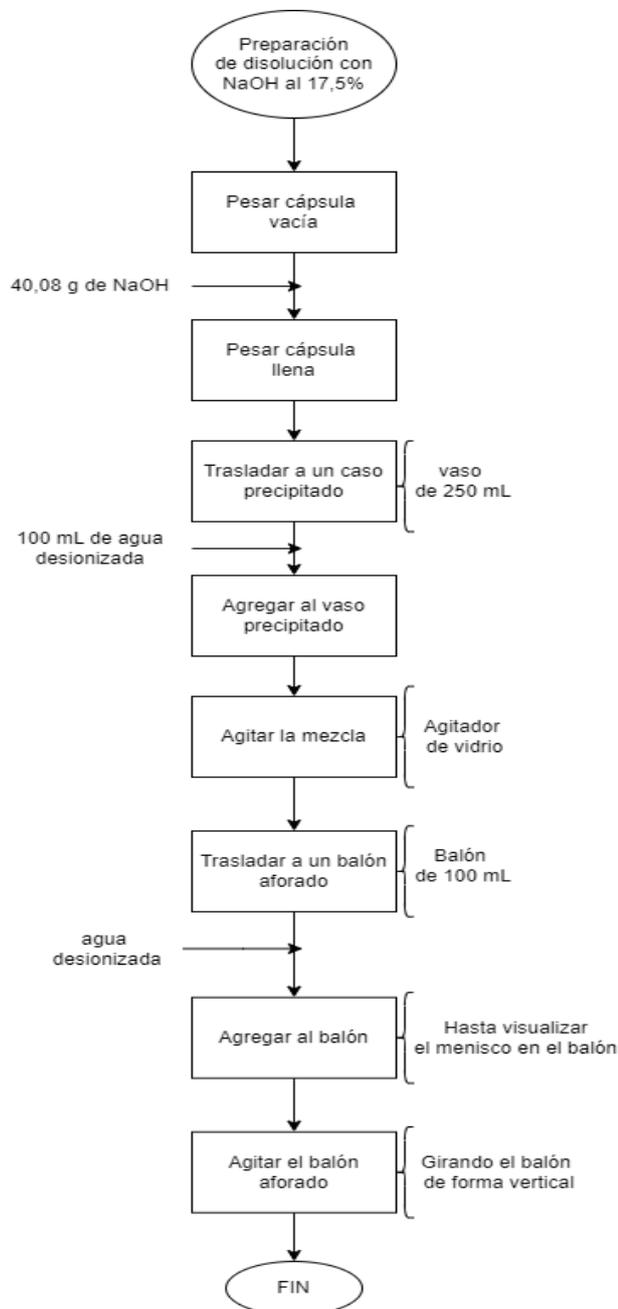


Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso de la preparación de la disolución de ácido sulfúrico al 3% para la hidrólisis ácida.

2.1.5.b Preparación de disolución con NaOH 17, 5%: El protocolo de la preparación de la disolución de hidróxido de sodio, se siguió la NTC 1019 [26]

Figura 8.

Diagrama de procesos para la disolución de ácido sulfúrico al 3%

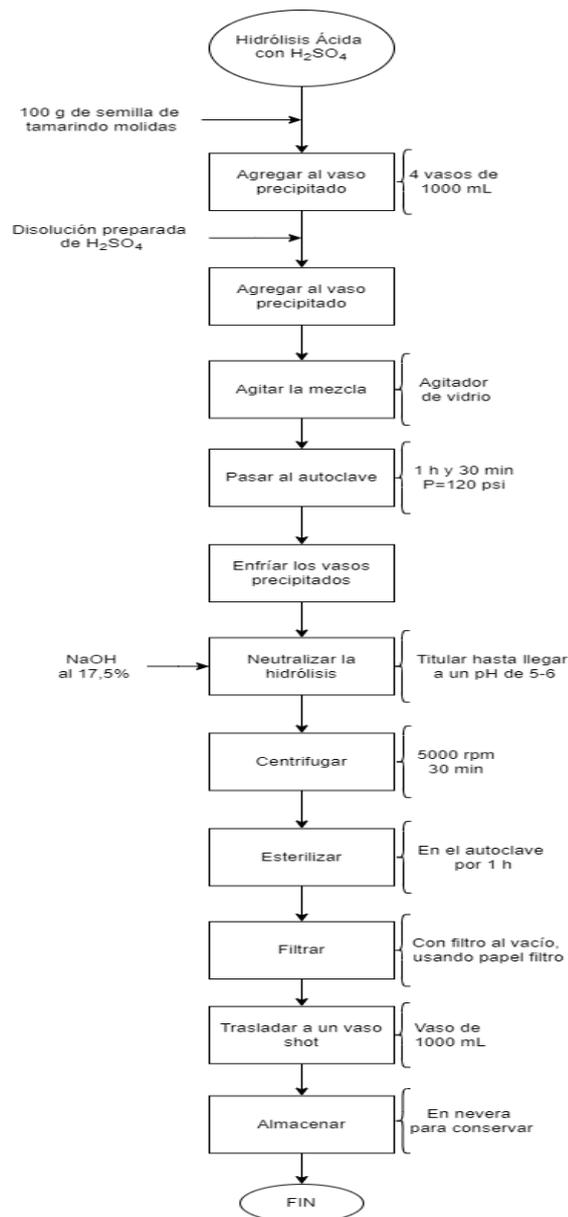


Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso de la preparación de la disolución de hidróxido de sodio para la neutralización del ácido sulfúrico en la hidrólisis ácida.

2.1.5.c Hidrólisis ácida: para la hidrólisis ácida, se basó en la metodología planteada por la AOAC para la hidrólisis ácida [84], la cual detalla los lineamientos de este procedimiento, ya que con esto se busca romper los enlaces de glucosa y xilosa presentes en la semilla de tamarindo. Este procedimiento va a hidrolizar a un tamaño de partícula mayor a 0,125 mm

Figura 9.

Diagrama de procesos para el proceso de hidrólisis ácida



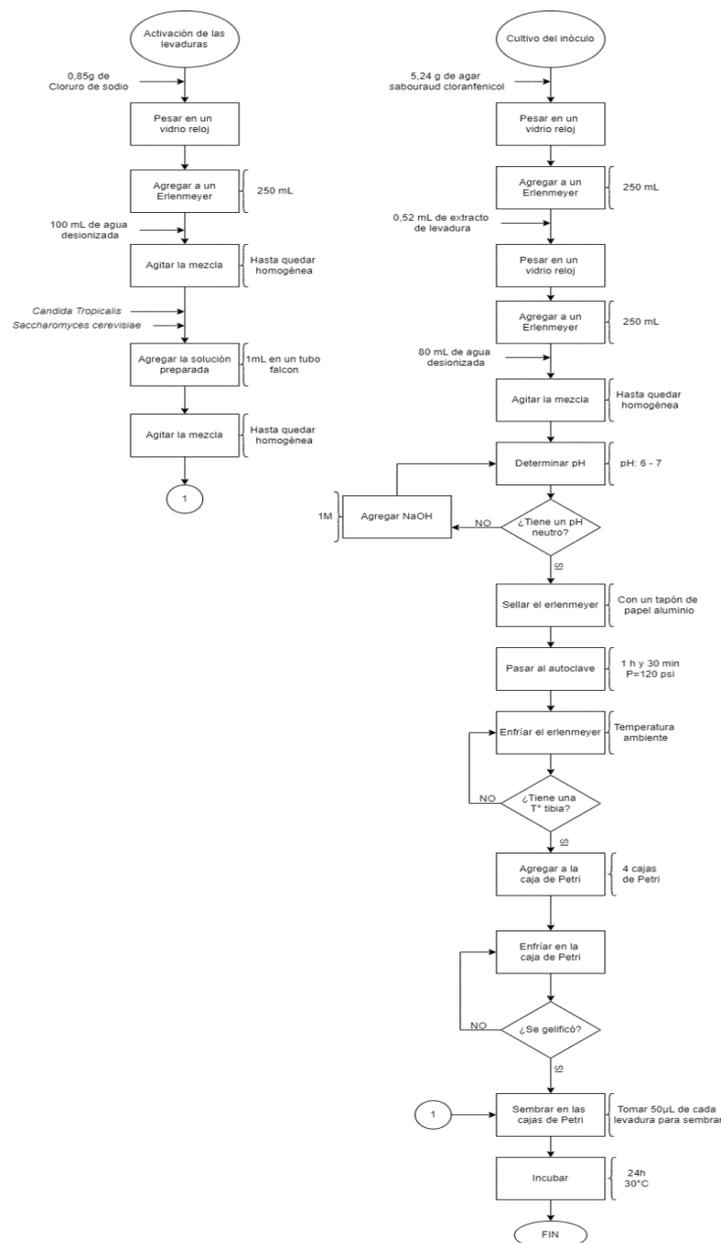
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para la realización de la hidrólisis ácida

2.1.6 Fermentación

2.1.6.a Cultivo del Inóculo: Para el procedimiento del cultivo del inóculo, se planteó el procedimiento para el cultivo de la *Candida Tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae*, en donde se basó en la NTC 1807 [27], NTC 4093 [28] y en la metodología modificada planteada en bibliografía, en la cual da un paso detallado de cómo realizar correctamente el cultivo para ambas levaduras y que estas crezcan adecuadamente

Figura 10.

Diagrama de procesos para el cultivo del inóculo

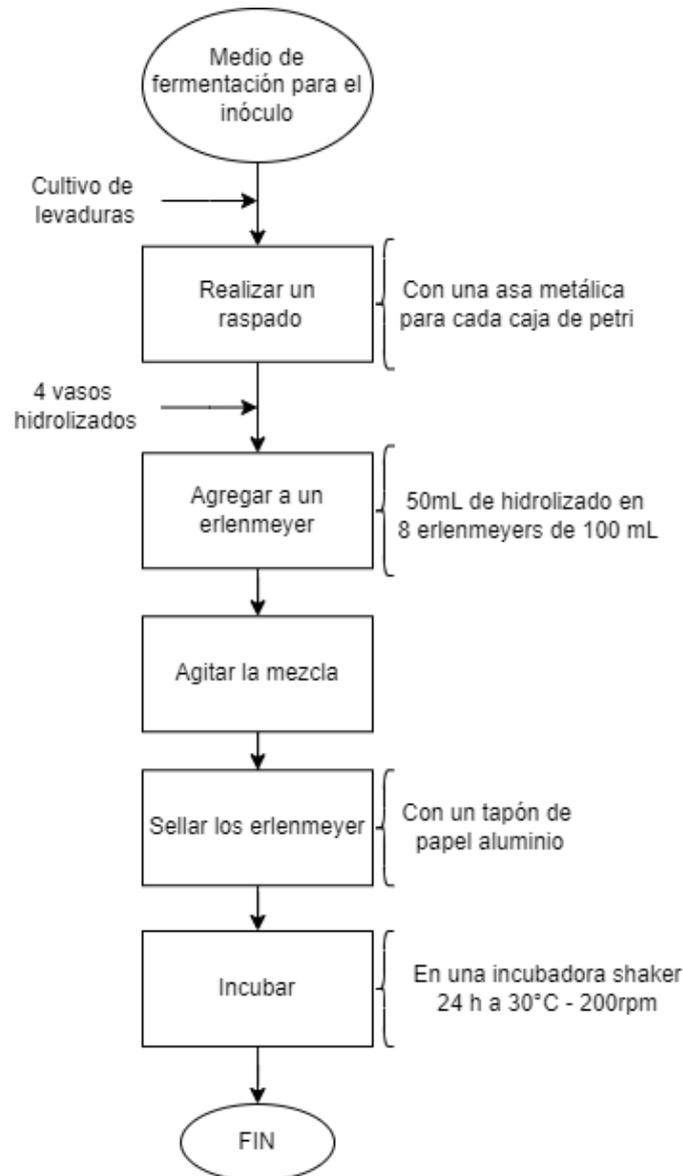


Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para el cultivo del inóculo

2.1.6.b Medio de fermentación del Inóculo: Para el procedimiento de la fermentación del inóculo es aplicado para *Candida Tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae* y se basó en la NTC 1807 [27] y NTC 4093 [28] en la cual da un paso detallado de cómo realizar correctamente para ambas levaduras y que estas crezcan en el medio descrito adecuadamente y se dé la fermentación deseada.

Figura 11.

Diagrama de procesos para el medio de fermentación del inóculo



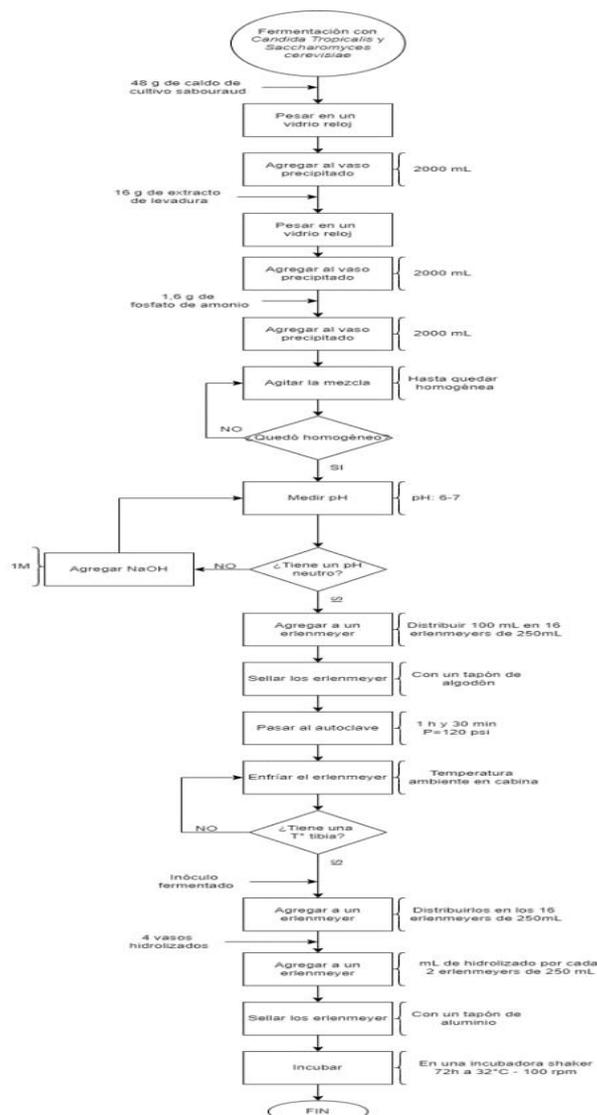
Nota. En el diagrama de flujo se observa a detalle el proceso para el medio de fermentación del inóculo

2.1.6.c Fermentación con las levaduras *Candida Tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae*: Para el procedimiento de la fermentación final, se basó en la NTC 4093 [28], la ley 34 de 1948

[29], la resolución 0939 [30] y la NTC 440 [31] en la cual no solo brinda el paso detallado de cómo realizar correctamente la fermentación para ambas levaduras, sino adicionalmente que lo regula y como debe manejarse el producto a obtener y así finalmente poder obtener el producto final que corresponde al xilitol. Es importante resaltar que el porcentaje del inóculo añadido a la fermentación final corresponde al 33% de la mezcla, ya que anteriormente se fermenta en 50mL y estos se añaden a los 100mL del caldo sabouraud.

Figura 12.

Diagrama de procesos para la fermentación con levaduras Candida Tropicalis y Saccharomyces cerevisiae



Nota. En el diagrama se observa el proceso para la fermentación de la materia prima

3. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Metodología Planteada

Se expone la forma en la que se va a realizar la obtención del xilitol por medio de la xilosa obtenida a partir de la semilla de tamarindo en base a lo planteado en el capítulo 2 con los diagramas de flujo para el desarrollo de la metodología.

Inicialmente, se realizó la obtención de la semilla de tamarindo proveniente de Santa Fe de Antioquia, Colombia, la cual se tomaron 500g de materia prima, en donde se le realizó su respectiva limpieza, extrayendo así los residuos de pulpa de tamarindo que quedaron en las semillas, con el fin de que no afecte el proceso de obtención de xilitol.

Luego, se realizó un secado de la semilla de tamarindo que va a permitir extraerle el exceso de humedad que se encuentra presente en la semilla. Esto es necesario puesto que se desea conocer si se va a trabajar con una base seca o y una base húmeda de la semilla y que afectaciones podría traer para el proceso. Durante el proceso de secado las temperaturas que se manejaron se encontraban alrededor de los 20-40°C como se nombra en el diagrama de porcentaje de cenizas y humedad relativa.

Posteriormente, se realizó la molienda y tamizaje de las semillas de tamarindo, siguiendo el procedimiento de los diagramas de granulometría y molienda, con el fin de tener una materia prima más homogénea en cuanto al tamaño de partícula; según literatura, el tamaño de partícula máximo deberá estar alrededor del 0,125-1,400 mm, el cual se caracterizó fisicoquímicamente, esto con el fin de determinar la composición de las semillas de tamarindo lo que va a permitir en medio de la investigación conocer si afectará o no la concentración y cantidad de xilitol al final de la investigación.

Ya con la molienda de la semilla de tamarindo, se procedió a realizar una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 3%, la cual va a permitir romper los enlaces de cadenas de polisacáridos presentes en la semilla de tamarindo, en donde el principal objetivo es obtener la D-xilosa, la cual tiene un enlace fuerte con la D-glucosa. Este proceso se lleva a cabo mediante una autoclave a una temperatura de 121 °C durante 20 min. Al momento de obtener la hidrólisis de la semilla, se realiza un proceso de centrifugado a 5000 rpm en un tiempo determinado de 30

min, esto con el fin de lograr separar la parte sólida de la líquida proveniente del caldo; finalmente se filtra al vacío con papel filtro.

Para la preparación del inóculo, se procede a dejar sembradas las dos levaduras (*Candida Tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae*) directamente cada una en las cajas de Petri en el medio del Agar a una temperatura de 30°C durante 48 h, junto con una parte del medio hidrolizado de la semilla que debe contener 10 g/L de glucosa, 10 g/L de azúcares en el medio de semilla de tamarindo hidrolizada, 10 g/L de bacto peptona, 10 g/L extracto de levadura y 10 g/L de agar, con el fin de realizar una pre adaptación de la levadura al medio de cultivo que posteriormente se deja aislado y refrigerado. Transcurrido el tiempo de aislamiento, la levadura almacenada se raspa utilizando un asa bacteriológica que va a permitir después pasarla al medio de fermentación del inóculo, el cual corresponde a 25 mL de la concentración inicial del sustrato en un Erlenmeyer de 50 mL, luego se incuba a 30 °C durante 24 h y finalmente se agita a 200 rpm.

Para la obtención del xilitol, es necesario realizar una etapa fermentativa, que se realiza mediante la preparación del medio fermentativo, el cual contiene el hidrolizado concentrado que posteriormente es diluido con agua destilada. Adicionalmente se le añade $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (fosfato de amonio) el cual permite la nutrición y la protección de la levadura para asegurar la fermentación completa y que además le aporta el nitrógeno necesario al proceso. Finalmente, para mantener un pH entre 5,8 y 6,0.

Posteriormente, en un Erlenmeyer pre esterilizado de 250 mL, se añadieron 100 mL del medio fermentativo anteriormente elaborado como se nombra en el diagrama, el cual se dejó incubando con una agitación de 200 rpm durante 72 h con una temperatura de 30 °C. Este procedimiento no se realizó con duplicados y se planteó tomar muestras a las 24 y 72 h.

Para corroborar que el proceso anterior se llevó a cabo con éxito, se hizo un seguimiento de las corridas experimentales para determinar el consumo de sustrato y la producción de xilitol, por medio de un análisis de cromatografía líquida (HPLC), en donde se reflejó la cantidad de xilitol obtenida durante la fermentación con las dos levaduras y así se logró comparar cuál de ellas obtuvo mejores resultados de producción. [81]

Finalmente, se realizó un diseño tipo escalamiento planta piloto de forma teórica, esto con el fin de ver cuáles serían las condiciones que podría tomar aplicadas a una planta.

3.2 Diseño de Experimentos

Para la realización de este proyecto, se planteó que el diseño de experimentos estuviera enfocado en la obtención final del xilitol, el cual se da por medio del paso final, correspondiente al fermentativo y se establecieron los siguientes parámetros:

Tabla 3.

Diseño experimental producción de xilitol

Número de ensayos	Tamaño de partícula (mm)	Levadura	Tiempo (h)
1	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	24 h
2	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	72 h
3	0,710	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24 h
4	0,710	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72 h
5	0,381	<i>Candida Tropicalis</i>	24 h
6	0,381	<i>Candida Tropicalis</i>	72 h
7	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24 h
8	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72 h

Nota. Esta tabla muestra el planteamiento del diseño experimental para la obtención de xilitol con los tiempos establecidos, tipo de levadura y tamaño de partícula

En la **Tabla 3.**, se evidencia que se realizaron 8 corridas en total, de las cuales 4 fueron enfocadas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y las 4 restantes, fueron para la levadura *Candida Tropicalis*; estableciendo como relación entre estos ensayos la variable de tiempo de toma de muestra a las 24 horas, para un total de tiempo de procedimiento experimental de 72 horas, en donde se analizó cuanto se produjo de xilitol dependiendo su tamaño de partícula y en qué grado de concentración se obtuvo de forma cuantitativa por medio de las pruebas de cromatografía líquida (HPLC). Posteriormente, los datos obtenidos fueron analizados por un ANOVA teniendo en cuenta el diseño factorial de 2x2x2, en donde se contó con 3 factores y 2 niveles, con total de 8 combinaciones posibles de comparación de grupos.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de la materia prima

4.1.1 Porcentaje de Cenizas

Para hallar el porcentaje de cenizas correspondiente a las semillas de tamarindo, se siguió el protocolo descrito en la NTC-ISO 2171:2021; en donde se usaron 4 cápsulas de porcelana llevadas a una mufla durante 5 horas a una temperatura de 650 °C. Se obtuvieron los datos de la **Tabla 4.**; en donde se encuentran datos presentes del peso de cada cápsula vacía junto con el peso final de la misma con la materia prima, en donde se logra identificar que la masa inicial promedio de la materia prima se encuentra alrededor de los 6 g.

Tabla 4.

Peso cápsula vacía y con materia prima para porcentaje de cenizas.

Cápsula	Vacía (g)	Con materia prima (g)
1	74,3128	80,3403
2	74,4786	80,4606
3	74,4594	80,4509
4	74,2802	80,2802
PROMEDIO	74,3828	80,3830

Nota. En esta tabla se observa la cantidad de masa de materia prima usada para hallar el porcentaje final de cenizas de las semillas de tamarindo

En la **Tabla 5.**, se observan los resultados finales respecto al porcentaje de cenizas obtenido. Estos resultados fueron calculados a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Cenizas} = \left(\frac{\text{Peso de cenizas}}{\text{Peso inicial}} \right) * 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ de Cenizas} = \left(\frac{P_2 - P_1}{P_i} \right) * 100 \quad (2)$$

En donde:

P₁ = Cápsula con las cenizas

P₂ = Cápsula con materia prima

P_i = Cápsula vacía

Tabla 5.

Resultados de porcentaje de Cenizas.

Cápsula	Cenizas (g)	% de Cenizas
1	74,3351	8,0810%
2	74,5505	7,9353%
3	74,4037	8,1215%
4	74,6242	7,6144%
PROMEDIO	74,4784	7,9380%

Nota. En esta tabla se observa los resultados finales para el porcentaje de cenizas de las semillas de tamarindo

Con base en los datos anteriores, se plantea un análisis estadístico en donde se realiza el cálculo de la varianza, la desviación estándar y el coeficiente de variación, obteniendo así los siguientes resultados junto con su respectiva gráfica como se muestra a continuación:

Tabla 6.

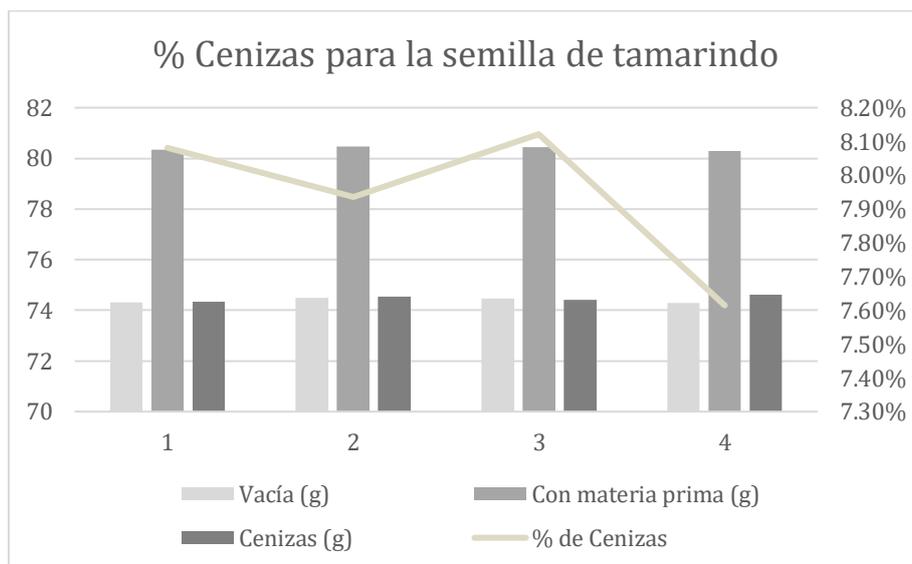
Resultados estadísticos para el porcentaje de Cenizas.

Varianza	5,2941E-06
Desviación estándar	0,0023
Coeficiente de variación	0,0290

Nota. En esta tabla se observa los resultados estadísticos para el porcentaje de cenizas obtenido en la tabla anterior

Figura 13.

Resultados estadísticos para el porcentaje de Cenizas.



Nota. En esta figura se observa los resultados estadísticos graficados para el porcentaje de cenizas de las semillas de tamarindo en donde se comparan los resultados de las 4 cápsulas usadas.

En la **Tabla 6.**, se observa que los datos obtenidos durante la práctica de laboratorio para la determinación del porcentaje de cenizas son datos representativos y coherentes estadísticamente ya que la desviación estándar se encuentra a un valor menor al 30% [32-34] [39], permitiendo analizar que no hay una variación significativa en la determinación del porcentaje de cenizas de las semillas de tamarindo.

Es importante resaltar que el resultado obtenido no se encuentra dentro del rango establecido reportado en bibliografía el cual corresponde al 4,1% [35-36]. Esto se podría deber a que hay una alta probabilidad de que los cultivos de tamarino seleccionados absorbieron una mayor cantidad de nutrientes o no durante la etapa de crecimiento del árbol de donde se extrajo la materia prima, los cuales corresponden a un abono orgánico rico en fósforo y el estiércol de aves de corral los cuales son los que favorecen el desarrollo de los frutos del árbol. [37].

Para la **Figura 13.**, se evidencia la relación que se tiene entre las 4 cápsulas evaluadas con la materia prima, en donde se logró determinar las cenizas y su respectivo porcentaje, dando al final como constancia que su valor promedio se encuentra alrededor del 7,9380%.

4.1.2 Porcentaje de Humedad Relativa

Para hallar el porcentaje de humedad relativa correspondiente a las semillas de tamarindo, se tomaron 4 cápsulas de las cuales se realizó en un tiempo de 1 hora y 30 minutos a una temperatura de 105 °C y se obtuvieron los siguientes datos iniciales que se observan en la **Tabla 7**; en donde se encuentran datos presentes del peso de cada cápsula vacía junto con el peso final de la misma con la materia prima

Tabla 7.

Peso cápsula vacía y con materia prima para porcentaje de humedad relativa.

Cápsula	Vacía (g)	Con materia prima húmeda (g)
1	78,3412	81,0326
2	78,4522	80,6191
3	86,8815	89,0491
4	79,1230	81,8215
PROMEDIO	80,6995	83,1306

Nota. En esta tabla se observan los pesos por cápsula vacía y con materia prima para hallar el porcentaje de humedad relativa.

En la **Tabla 8**, se observan los resultados finales respecto al porcentaje de humedad relativa obtenida. Estos resultados se sacaron a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Humedad Relativa} = \left(\frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \right) * 100 \quad (3)$$

En donde:

A = Peso cápsula seca vacía

B = Peso cápsula con materia prima húmeda

C = Peso cápsula con materia prima seca

Tabla 8.*Resultados de porcentaje de humedad relativa.*

Cápsula	Humedad (g)	% de Humedad Relativa
1	80,6623	13,7586%
2	80,3312	13,2863%
3	88,7489	13,8494%
4	81,4484	13,8262%
PROMEDIO	82,7977	13,6801%

Nota. En esta tabla se observan los resultados finales obtenidos para el porcentaje de humedad relativa de las semillas de tamarindo

Con base en los datos anteriores, se plantea un análisis estadístico en donde se realiza el cálculo de la varianza, la desviación estándar y el coeficiente de variación para el porcentaje de humedad relativa, obteniendo así los siguientes resultados junto con su respectiva gráfica como se muestra a continuación:

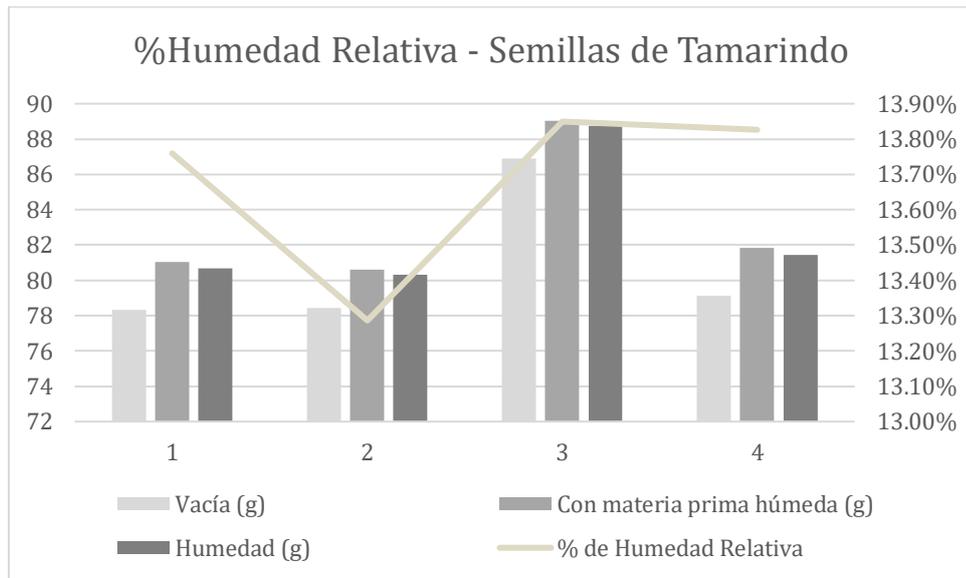
Tabla 9.*Resultados estadísticos de porcentaje de Humedad Relativa.*

Varianza	7,0430E-06
Desviación estándar	0,0027
Coeficiente de variación	0,0194

Nota. En esta tabla se observan los resultados estadísticos del porcentaje de humedad relativa en donde se encuentra la varianza, desviación estándar y coeficiente de variación para las semillas de tamarindo.

Figura 14.

Resultados estadísticos para el porcentaje de humedad relativa.



Nota. En esta figura se observan los resultados estadísticos graficados para el porcentaje de humedad relativa de las semillas de tamarindo en donde se comparan los resultados de las 4 cápsulas usadas.

En la **Tabla 9.**, se observa que los datos obtenidos durante la práctica de laboratorio para la determinación del porcentaje de humedad relativa, los cuales dichos datos demuestran ser representativos y coherentes estadísticamente, ya que la desviación estándar se encuentra en un valor menor al 30% [32-34] [39], permitiendo analizar que no hay una variación significativa en la determinación del porcentaje de humedad de las semillas de tamarindo.

Es importante resaltar que el resultado para este criterio obtenido no se encuentra dentro del rango establecido reportado en bibliografía el cual corresponde al 11,3% [35-36]. Esto se podría deber a una alta probabilidad de que los cultivos de tamarino seleccionados fueron afectados por las precipitaciones absorbiendo una mayor cantidad de agua durante la etapa de crecimiento del árbol de donde se extrajo la materia prima. [38].

Para la **Figura 14.**, se evidencia la relación que se tiene entre las 4 cápsulas evaluadas con la materia prima, en donde se logró determinar el porcentaje de humedad relativa promedio fue del 13,6801%, en donde en relación con los resultados obtenidos, dicho valor se mantiene constante validando el análisis estadístico ya planteado.

4.1.3 Granulometría

En el proceso de granulometría correspondiente a las semillas de tamarindo, se usó el protocolo descrito en la NTC 77 [24], en el cual la materia prima usada, pasó anteriormente por un molino de martillos que permitió reducir su tamaño de partícula dando los siguientes resultados como se observa en la **Tabla 10**.

Tabla 10.

Tamaño de partícula y malla final

Tamaño de partícula de semilla	Tipo de malla
1,400 mm	14
0,710 mm	25
0,594 mm	30
0,381 mm	40

Nota. En esta tabla se observan el tamaño de partículas que quedaron retenidas en cada una de las mallas usadas.

Las semillas de tamarindo se encontraban inicialmente con un tamaño de partícula alrededor de 1 cm de largo que es corroborado con bibliografía [40].

Teniendo en cuenta los resultados presentados en la **Tabla 10.**, es importante destacar que, según bibliografía referenciada en la metodología propuesta, el tamaño de partícula deseado debía encontrarse en 0,125 mm, pero al no obtenerla por dificultades durante la molienda se decide trabajar con 4 tipos de partícula diferentes, esto con el fin de no tener grandes pérdidas de materia prima y aprovecharla para realizar el proceso productivo del xilitol.

A partir de lo anterior, se planteó una tabla granulométrica del tamizado realizado durante la práctica de laboratorio, esto con el fin de lograr visualizar la tendencia homogénea o heterogénea que tienen los tamaños de partícula, en este caso las de las semillas de tamarindo al momento de separarse completamente el material fino del grueso como se observa en la **Tabla 11**.

Tabla 11.*Resultados de Granulometría.*

Malla	Abertura malla (mm)	Dp (mm)	Masa Retenida(g)	% Retenido	%Retenido acumulado	% Partícula que Pasa
9	1,982	---	0	0,000	0,000	100,000
14	1,400	1,691	88,500	26,152	26,152	73,848
25	0,710	1,055	120,600	35,638	61,791	38,209
30	0,594	0,652	31,000	9,161	70,952	29,048
40	0,381	0,488	93,700	27,689	98,641	1,359
Fondos			4,600	1,359	100,000	0,000
Masa Total			338,400	100,000	---	---

Nota. En esta tabla se observan los resultados finales para el proceso de granulometría que tiene en cuenta la masa retenida y especificaciones de las mallas usadas en el tamiz.

En razón de lo anterior, se observa que las mallas que más acumulan masa corresponden a las mallas 14, 25 y 40, cada una con un porcentaje del 26%, 35% y 27%, demostrando así que la mayor parte de la masa atravesó la malla con un 73%. [42] [43]

Para la columna 3 del cálculo del diámetro de partícula (Dp), se realizó sucesivamente sacando un promedio entre la abertura de malla anterior y la actual como se observa en la ecuación 4, 5 y 6

$$Dp = \left(\frac{A_{m1} + A_{m2} + A_{m3} + \dots + A_{mn}}{n} \right) \quad (4)$$

En donde:

Dp = Diámetro de partícula

A_{mn} = Abertura de malla

n = Número total de datos

$$Promedio = \left(\frac{A_{m1} + A_{m2}}{\sum A_{mn}} \right) \quad (5)$$

Luego, para la columna 5, correspondiente a él porcentaje de masa retenida, se usó la ecuación 5 que se muestra a continuación:

$$\% Retenido = \left(\frac{masa\ retenida\ (g)}{\sum masa\ retenida\ (g)} \right) * 100 \quad (6)$$

Posteriormente, para la columna 6, correspondiente a él porcentaje de masa retenida acumulada, se usó la ecuación 7:

$$\% \text{ Retenido Acumulado} = (\% \text{ retenido} + \% \text{ Retenido acumulado anterior}) \quad (7)$$

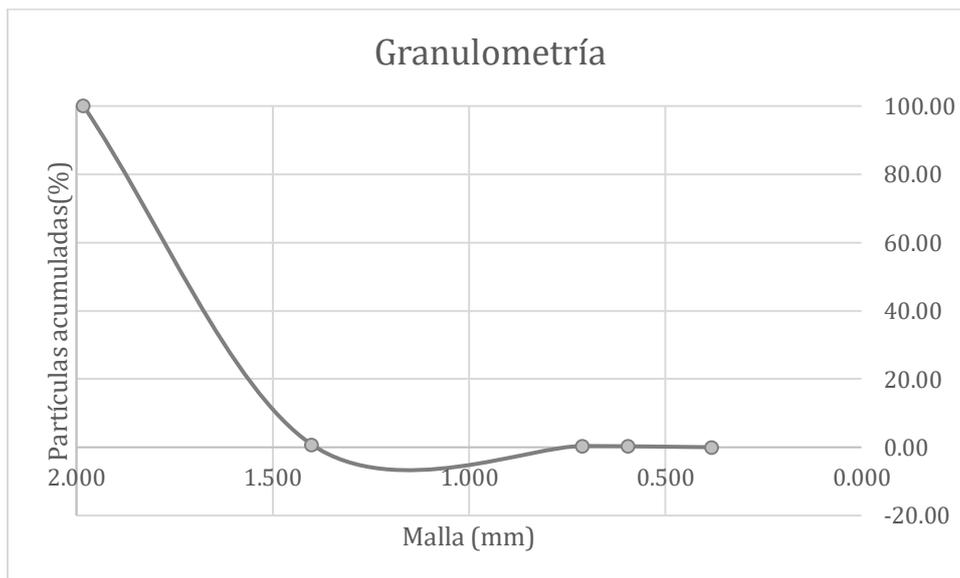
Finalmente, para la columna 7, correspondiente a él porcentaje de partícula que atravesó la malla, se usó la ecuación 8

$$\% \text{ Partícula que pasa} = (100 - \% \text{ Retenido acumulado}) \quad (8)$$

Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente, se realizó una curva granulométrica que se observa en la **Figura 15.**, la cual representa la relación entre la cantidad de masa que logró atravesar la apertura de las mallas con su porcentaje respectivo

Figura 15.

Resultados estadísticos de la curva granulométrica



Nota. En esta figura se observan los resultados estadísticos graficados para el proceso de granulometría con un comparativo entre la cantidad de materia prima que queda retenida en cada una de las mallas usadas.

Para el análisis granulométrico de las semillas de tamarindo, se logra evidenciar que tiende a tener un tamaño de partícula pequeño el cual el 36% de la materia prima se encuentra alojada

en el tamaño de malla 25, con una apertura del 0,710 mm justificando el hecho de que su proceso de molienda lo máximo que logró llegar fue hasta ese tamaño de partícula [41-43]

4.2 Hidrólisis Ácida

Para realizar la hidrólisis ácida, se tuvo en cuenta los tamaños de partícula anteriormente planteados, los cuales, al no tener una homogeneidad entre ellos, se decidió hacer un comparativo para al final poder determinar cuanta xilosa se puede llegar a producir, y así corroborar con bibliografía [44] si habría otro tamaño de partícula adecuado o si en efecto era necesario seguir la metodología ya establecida que correspondía a 0,125 mm. A razón de lo anterior, se plantea la **Tabla 12.** que se muestra a continuación:

Tabla 12.

Distribución de partículas para hidrólisis ácida.

Vaso	Tamaño de partícula de semilla (mm)	Tipo de malla	Masa agregada (g)	Peso total relativo (g)
1	1,400	14	88,500	253,800
2	0,710	25	120,600	285,900
3	0,594	30	31,000	146,300
4	0,381	40	93,700	259,000
TOTAL			333,800	945,000

Nota. En esta tabla se observan los tipos de partícula a usar para el proceso de hidrólisis ácida teniendo en cuenta su peso total relativo.

En dónde se observa que se tienen 4 tipos de tamaños de partículas diferentes y estos se distribuyeron en 4 vasos precipitados de 2000mL, los cuales dependieron de la malla en la que se encontrara. Posterior al tamizado, se pesó cada uno y se procedió a ser agregados a cada uno de los vasos, obteniendo así al final el peso de la masa agregada a cada vaso más el peso de cada vaso que se observa en la tabla el cual da inicio al proceso de la hidrólisis.

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado, [44-45], confirman que es necesario usar el ácido sulfúrico al 3% para que la hidrólisis se pueda dar de forma correcta, se procedió a

preparar la disolución de ácido sulfúrico, el cual se realizó por estequiometria un balance de moles como se muestra a continuación en la **Tabla 13.**:

Tabla 13.

Preparación H_2SO_4 hidrólisis ácida.

Sustancia	Cantidad
Agua des ionizada	500 mL
Ácido sulfúrico	60 mL
Agua des ionizada	2000 mL

Nota. En esta tabla se observan las cantidades exactas usadas para la preparación de la disolución de ácido sulfúrico.

$$\% v = \frac{mL [H_2SO_4]}{mL solución} * 100\% \quad (9)$$

$$3\% v = \frac{x}{mL solución} * 100\% \quad (10)$$

$$X = \frac{3\% v * 2000mL}{100\%} = 60mL de H_2SO_4 \quad (11)$$

Corroborando por la ecuación de porcentaje de volumen, se determinó que se necesitan 60mL de ácido sulfúrico para la disolución.

$$60mL H_2SO_4 * \left(\frac{1 mol de H_2SO_4}{98,07 g} \right) * \frac{98 \%}{100 \%} * \frac{1,83 g de H_2SO_4}{100 mL de H_2SO_4} * \frac{1}{2 L} = 0,55 M \quad (12)$$

Posterior a la preparación de la disolución, se agregó a cada vaso y se obtuvieron los siguientes resultados en la **Tabla 14.**:

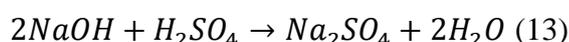
Tabla 14.*Cantidades totales para el proceso de hidrólisis ácida.*

Vasos	Masa agregada (g)	Cantidad ácido (mL)	Cantidad agua (mL)	Total g/mL
1	88,500	500	2000	2588,5
2	120,600	500	2000	2620,6
3	31,000	500	2000	2531,0
4	93,700	500	2000	2593,7

Nota. En esta tabla se observan las cantidades usadas para el proceso de hidrólisis ácida que incluye la cantidad agua a usar, ácido y la masa agregada por cada uno de los vasos.

En esta tabla, se evidencia las cantidades totales que quedaron al final en cada vaso, el cual, con base en lo anterior, entra a concluir su proceso en el autoclave para lograr exitosamente la separación de enlaces entre la glucosa y la xilosa presentes en la semilla de tamarindo y así obtener la materia prima para el proceso de la fermentación. Es por esto, que las condiciones adecuadas deben encontrarse entre 120°C de temperatura y 15 psi de presión. [46-49]

Después del proceso de hidrólisis ácida, se procede a bajar la temperatura de los vasos para poder realizar la neutralización con hidróxido de sodio (NaOH) al 17,5% para lograr obtener un pH neutro como lo sugiere la metodología planteada y sugerida por bibliografía como se evidencia en la ecuación 13, 14, 15 y 16. [46-49]



$$2,24 n \quad 1,12 n$$

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad (14)$$

$$\frac{2,24 n}{2 L} = 1,12 M NaOH \quad (15)$$

Posteriormente, se procede a neutralizar titulando los 4 vasos trasladando la sustancia hidrolizada a 4 vasos precipitados de 2000 mL, donde su pH inicial se encontraba en 1,16 en los 4 vasos y arrojando los siguientes resultados evidenciados en la **Tabla 15**. [46-49]:

Tabla 15.

Cantidades totales para la neutralización de la hidrólisis ácida por vaso.

Vaso	NaOH (mL)	pH
1	83,3	7,00
2	104,7	7,01
3	64,7	7,04
4	48,3	7,00

Nota. En esta tabla se observan las cantidades usadas de hidróxido de sodio para la neutralización del proceso de hidrólisis ácida en cada vaso.

En la tabla anterior se observan diferentes cantidades de hidróxido de sodio para neutralizar cada vaso, esto se debe a que al tener diferentes cantidades de masa inicial se ve alterada la neutralización junto con el aumento de temperatura en el autoclave, permitiendo que al final se termine usando más hidróxido del calculado a causa de la evaporación de parte del agua. Adicionalmente, en los vasos 3 y 4, se tuvo que neutralizar con hidróxido al 28% ya que el del 17% ya se había usado en su totalidad en los anteriores vasos y se prefirió dar uso a los que ya estaban preparados sin sedimentos en el laboratorio de la universidad.

Finalmente, se centrifugaron las muestras a 5000 rpm por 30 min con el fin de separar la parte sólida del hidrolizado de la líquida y así filtrarla y que quede sin residuos que puedan afectar el proceso de fermentación cómo se logra observar en la **Figura 16**.

Figura 16.

*Centrifugado muestras
posteriores al hidrolizado*



Nota. En figura se observa una de las muestras hidrolizadas posterior al proceso de centrifugado

4.3 Fermentación

Para el proceso de la fermentación, se inició realizando el cultivo de los microorganismos o del inóculo en las cajas de Petri que se van a usar en esta parte final del proceso. Es importante resaltar que no se usó el microorganismo *Candida Guilliermondii* por cuestiones de accesibilidad y economía. A razón de lo anterior, se usa el microorganismo *Saccharomyces cerevisiae* presente en la universidad y se cultivan ambos bajo las mismas condiciones como se muestran a continuación en la **Tabla 16**.

Tabla 16.

Condiciones de las cajas de Petri para el cultivo de los inóculos.

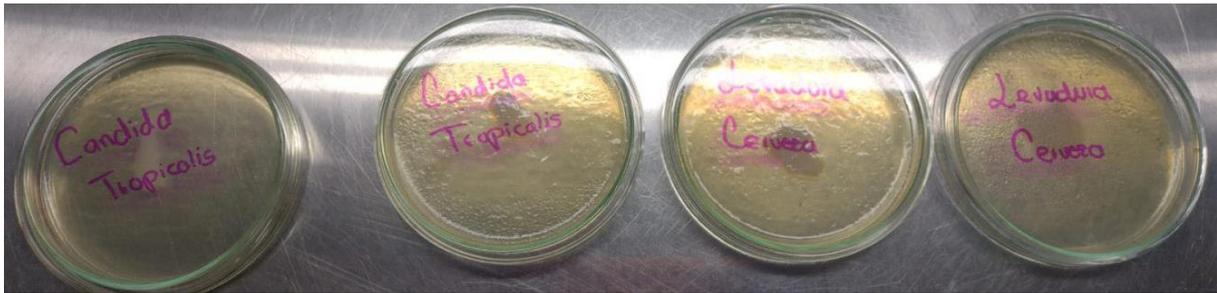
Caja de Petri	Inóculo	Cultivo (μL)	Temperatura	pH
1	<i>Candida Tropicalis</i>	50	30 °C	7,02
2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50		
3	<i>Candida Tropicalis</i>	50		
4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50		

Nota. En la siguiente tabla se observa las condiciones establecidas para las 4 cajas de Petri en donde se realizaron el cultivo de los inóculos de cada una de las levaduras.

En la tabla anterior se evidencia lo cultivado en cada una de las cajas de Petri, las cuales tienen un contenido de 5,24 g de Agar Sabouraud Cloranfenicol diluidos en 50 mL de agua desionizada, adicionalmente tiene 520 μ L de extracto de levadura, 80 mL adicionales de agua desionizada y por último se le agregaron 8 gotas de NaOH al 1M para neutralizar el medio de cultivo del inóculo preparado y quedara en 7,02. Este cultivo duro en incubación 48 horas en la incubadora para tener un crecimiento exitoso como se observa en la **Figura 17 y 18**.

Figura 17.

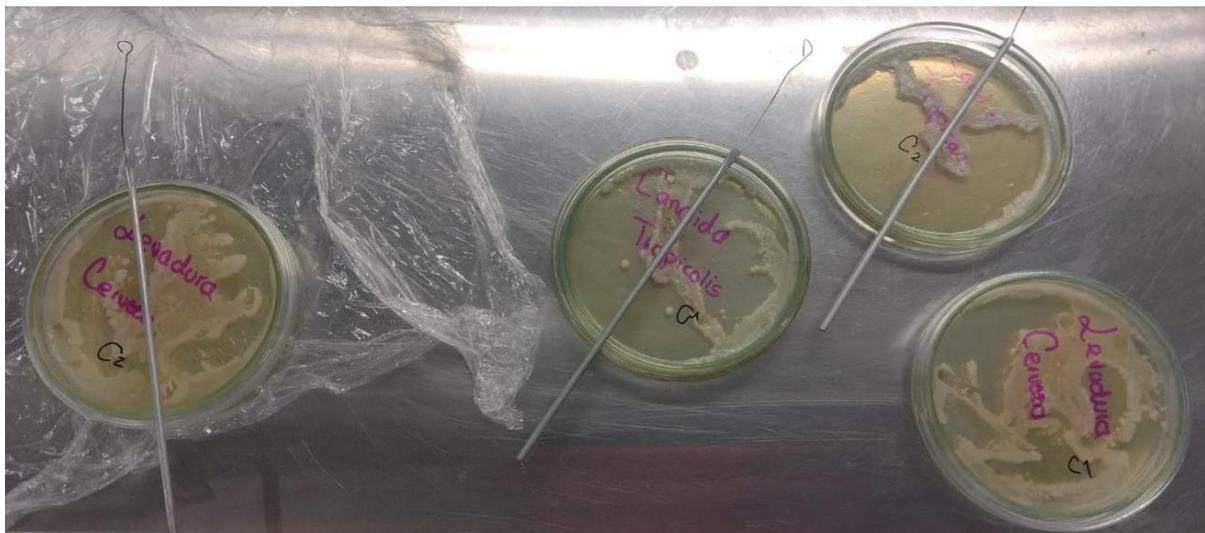
Crecimiento inicial de las levaduras.



Nota. En figura se observa el crecimiento de las levaduras al día 0 en las cajas de Petri.

Figura 18.

Crecimiento final de las levaduras.



Nota. En figura se observa el crecimiento final de las levaduras al día 2 en las cajas de Petri.

Posterior al cultivo, se procedió a realizar la fermentación del inóculo, raspando con un asa metálica el microorganismo de la caja de Petri y agregándola a 4 Erlenmeyer de 100 mL del

hidrolizado de semilla de tamarindo como se evidencia en la **Figura 19.** junto con las siguientes condiciones en la **Tabla 17.:**

Tabla 17.

Condiciones de fermentación de los inóculos.

Erlenmeyer	Vaso (mL)	Hidrolizado (mL)	Temperatura (°C)	Agitación (rpm)
1	1	100	32	200
2	2	100		
3	3	100		
4	4	100		

Nota. En esta tabla se observan las condiciones establecidas para la fermentación de los inóculos de cada una de las levaduras, teniendo en cuenta que eran 4 muestras.

Figura 19.

Distribución en los Erlenmeyers para la fermentación del inóculo.



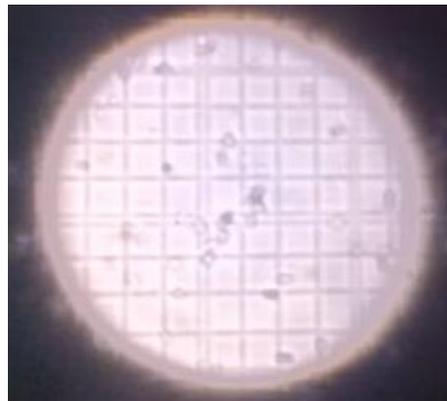
Nota. En figura se observa las 4 muestras de los inóculos antes de ingresarlas a la incubadora para su proceso de fermentación.

Partiendo de la tabla anterior, se estableció que este proceso de fermentación del inóculo iba a tener una duración de 24 horas, en las cuales la levadura interactúa con el medio fermentativo, alimentándose y permitiendo que este empiece a crecer en este medio líquido, invadiendo los 100mL del hidrolizado, ya que las levaduras propuestas interactúan acertadamente con la xilosa y glucosa, dando, así como resultado la fermentación.

Para corroborar que hubo un crecimiento de las levaduras durante la fermentación del inóculo pasadas las 24 horas, se realizó un conteo celular manual por los 100mL que se adicionaron al inicio del proceso, esto con el fin de corroborar el crecimiento microbiano, como se evidencia en la **Tabla 18.** y visualmente de forma microscópica como se observa en las **Figuras 20 y 21.** tomada de forma visual externa desde la incubadora.

Figura 20.

Conteo celular – fermentación inóculo.



Nota. En esta figura se observa el crecimiento celular en la hora 0 presente en la fermentación del inóculo.

Figura 21.

Fermentación inóculo.



Nota. En esta figura se observa las 6 muestras de los inóculos el momento de ingresarlas en la incubadora para su fermentación.

Tabla 18.

Conteo celular por cada levadura y diferente tamaño de partícula

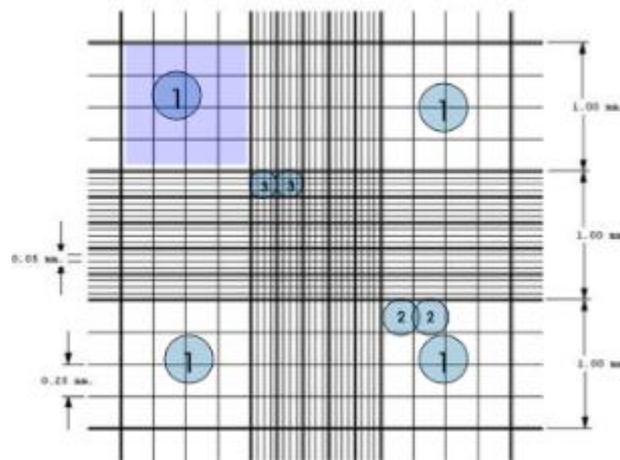
Erlenmeyer	Tamaño de partícula (mm)	Levadura	Conteo Celular
1	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	1950
2	0,710	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1800
3	0,381	<i>Candida Tropicalis</i>	1200
4	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2000

Nota. En esta tabla se observa el conteo celular para los dos tipos de tamaño de partícula elegidos y las levaduras usadas

Para este conteo celular inicial, se tomaron 200 μL de muestra de cada uno de los erlenmeyers para ser analizado y observado en el microscopio por medio de la cámara de Neubauer. Dicho conteo no se pudo realizar de forma computacional, ya que no se encontraba disponible el programa Motic Módulo cuando se tomó las muestras. Con base en lo anterior, se realiza el conteo de forma manual teniendo en cuenta la **Figura 22.** [59-61] y se usaron las siguientes ecuaciones:

Figura 22.

Formato para calcular el conteo celular de la cámara de Neubauer



Nota. En esta figura se observa la forma de uso de la cámara de Neubauer junto con su forma de cálculo para el conteo celular. Tomado de O. Bastidas, “Conteo Celular Con Hematocitómetro,” Technical Note-Neubauer Chamber Cell Counting, 2011.

$$\text{Concentración Celular} = \frac{\text{Total células contadas}}{\text{Número de cuadrados}} * 10.000 \quad (16)$$

La ecuación 16, es aplicada cuando las células se encuentran dentro de un área de 1 mm x 1 mm, con un volumen de 1 mm² x 0,1 mm = 0,1 mm³ = 1x10⁻⁴ mL

$$\text{Concentración Celular} = \frac{\text{Total células contadas}}{\text{Número de cuadrados}} * 160.000 \quad (17)$$

La ecuación 17, es aplicada se tiene cuando las células se encuentran dentro de un área de 0,25 mm x 0,25 mm = 0,0625 mm², con un volumen de 0,0625 mm² x 0,1 mm = 6,25x10⁻³ mm³ = 6,25x10⁻⁵ mL

$$\text{Concentración Celular} = \frac{\text{Total células contadas}}{\text{Número de cuadrados}} * 250.000 \quad (18)$$

La ecuación 18, es aplicada se tiene cuando las células se encuentran dentro de un área de 0,2 mm x 0,2 mm = 0,04 mm², con un volumen de 0,04 mm² x 0,1 mm = 4,0 x10⁻³ mm³ = 4,0 x10⁻⁵ mL

En razón a lo anterior, se logró analizar que el conteo celular presente en las muestras de *Candida Tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae* fue suficiente y se dio de una forma exitosa en pro de que ocurriera el proceso de fermentación [50][51] y que las levaduras llevaban un buen proceso de adaptabilidad al sustrato propuesto (semillas de tamarindo), puesto que ambas levaduras propuestas, al encontrarse en presencia de azúcares, junto con otros nutrientes esenciales como lo son los aminoácidos, los minerales y las vitaminas, tuvieron un proceso fermentativo a etanol y dióxido de carbono (como metabolitos primarios de la fermentación) de forma efectiva, esto con el fin de que durante la fermentación se produzca la enzima a NAD⁺ en condiciones anaeróbicas [52-54]. Adicionalmente al corroborar con literatura y observar las muestras bajo el microscopio, se observó que las levaduras van a llegar a producir varios metabolitos secundarios que actúan como importantes que son los que generan el olor y sabor de las muestras expuestas a las levaduras. [55-58]

Por último, en la fermentación final del proceso, se inició trasladando la fermentación del inóculo como materia prima para la producción de xilitol. Teniendo en cuenta lo anteriormente

nombrado, se preparó caldo fermentativo en 1600 mL, en donde se le dieron los nutrientes necesarios a las levaduras para que estas terminaran de multiplicarse y logaran producir el producto deseado como se plantea en la **Tabla 19**.

Tabla 19.

Contenido de componentes añadidos a la fermentación.

Fermentación final			
VASO	Extracto de Levadura (g)	Caldo fermentativo (g)	Fosfato de Amonio (g)
1	16	48	1,6
2			
3			
4			

Nota. En esta tabla se observa los componentes bioquímicos añadidos en el proceso de la fermentación para las 4 muestras

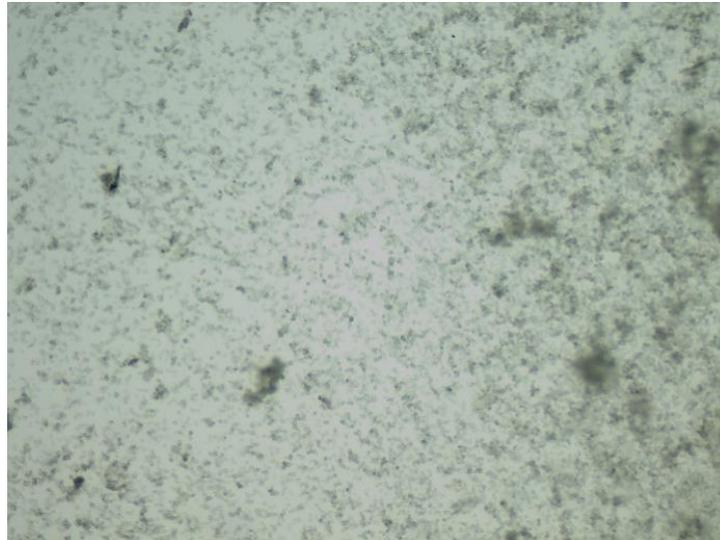
Se observa en la tabla 18 que se le agregan los mismos compuestos que al momento de la preparación de la fermentación del inóculo. Con la diferencia que al final se le adiciona fosfato de amonio, esto se añade con el fin de que le aporte el nitrógeno necesario para que la fermentación sea el adecuado, según lo planteado en la metodología. Es importante tener en cuenta que dicha metodología fue modificada, puesto que, según bibliografía, sugerían que la agitación horizontal se diera con 200rpm y una temperatura de 30°C; pero entonces al ponerlo en práctica, las condiciones finales manejadas para la fermentación fueron de 100 rpm y una temperatura de 30°C. Ya que las máquinas presentes en el laboratorio no lograron alcanzar esta velocidad a razón de que los Erlenmeyer usados fueron de 250mL y al encontrarse en la incubadora tan pequeña, provocaba que al interior de esta máquina chocaran entre sí a ese nivel de revoluciones por minuto, arriesgando que se dañaran las muestras y diera lugar a que existieran posibles pérdidas de materia prima lista para la fermentación.

Las muestras fueron al final tomadas a las 24 horas y a las 72 horas de iniciado para garantizar la completitud del proceso. Asimismo, como a las muestras iniciales de la fermentación del inóculo, se le realiza un conteo celular a través del software Motic Módulo, quien genera

automáticamente el conteo celular como se muestra en la **Figura 23. y 24.** para todos los Erlenmeyer con las muestras.

Figura 23.

Conteo celular – Vaso 1 – Candida Tropicalis 24 horas.



Nota. En esta figura se observa el conteo celular a las 24 horas para la primera muestra con *Candida Tropicalis*.

Figura 24.

Conteo celular – Vaso 1 – Saccharomyces cerevisiae 24 horas.



Nota. En esta figura se observa el conteo celular a las 24 horas para la primera muestra con *Saccharomyces cerevisiae*.

Adicionalmente, con los datos obtenidos, se logró realizar un comparativo entre las dos levaduras cultivadas y el distinto tamaño de partícula, arrojando que la *Saccharomyces cerevisiae* tiende a presentar una mayor afinidad con el sustrato de semilla de tamarindo, ya que su crecimiento microbiano fue de casi el doble en comparación con la *Candida Tropicalis* como se muestra en la **Tabla 20**, en donde se observan 5 columnas, en las cuales la primera hace referencia a la cantidad de ensayos realizados; la segunda, al vaso del cual se tomó la muestra de hidrolizado y se trasladó el fermento del inóculo; la tercera columna, hace referencia al tipo de levadura usado; la cuarta columna, al tiempo de fermentación final, en donde su rango estuvo entre las 24 y 72 horas y finalmente en la columna cinco, se tiene el crecimiento microbiano obtenido por el conteo celular.

Tabla 20.

Conteo celular de la fermentación final.

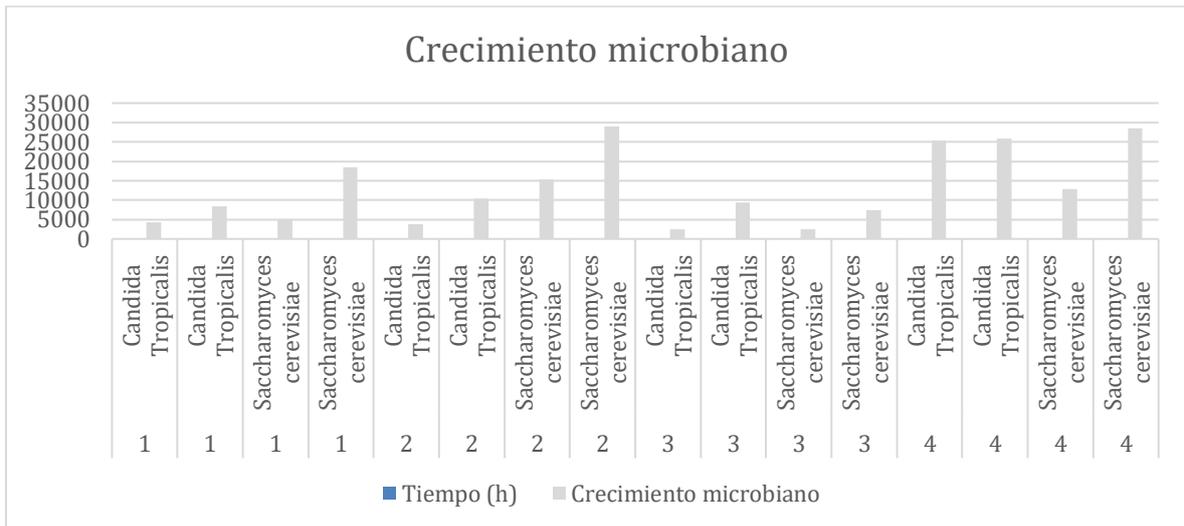
Número de ensayo	Vaso	Levadura	Tiempo (h)	Crecimiento microbiano
1	1	<i>Candida Tropicalis</i>	24	4281
2	1	<i>Candida Tropicalis</i>	72	8445
3	1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	5182
4	1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	2427
5	2	<i>Candida Tropicalis</i>	24	25887
6	2	<i>Candida Tropicalis</i>	72	25393
7	2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	12920
8	2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	28561
9	3	<i>Candida Tropicalis</i>	24	9335
10	3	<i>Candida Tropicalis</i>	72	2508
11	3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	7474
12	3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	18401
13	4	<i>Candida Tropicalis</i>	24	10355
14	4	<i>Candida Tropicalis</i>	72	3723
15	4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	15371
16	4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	29011

Nota. En esta tabla se observa el conteo celular final de las 16 muestras para un tiempo de 24 y 72 h

En la **Figura 25.**, se analizó la variación que se obtuvo entre el crecimiento celular entre las levaduras propuestas, y finalmente en la **Figura 26. y 27**, se observó la multiplicación celular final, permitiendo así desarrollar la hipótesis de que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es más productiva de la *Candida Tropicalis*.

Figura 25.

Resultados Crecimiento microbiano



Nota. En esta figura se observa un comparativo gráfico entre las 16 muestras obtenidas con un tiempo de 24 y 72 h con el fin de verificar la producción de xilitol.

Figura 26.

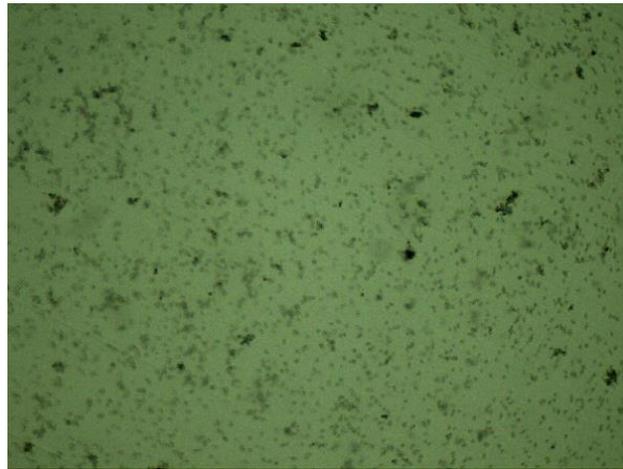
Conteo celular – Vaso 1 – Candida Tropicalis
72 horas.



Nota. En esta figura se observa el conteo celular a las 72 horas de la primera muestra de *Candida Tropicalis*

Figura 27.

Conteo celular – Vaso 1 – Saccharomyces cerevisiae 72 horas



Nota. En esta figura se observa el conteo celular a las 72 horas de la primera muestra de *Saccharomyces cerevisiae*

Para finalizar, en la primera parte del último proceso, se pasaron las muestras fermentadas a través de una centrífuga de laboratorio, que posteriormente se filtró para terminar de separar los sólidos producidos durante la fermentación. La centrífuga se llevó a 3500 rpm durante un tiempo de 30 min. El producto se pasó a tubos de eppendorf como se muestra en la **Figura 28.** Para posteriormente realizarle pruebas de HPLC.

Figura 28.

Muestras finales en tubos eppendorf para prueba de HPLC.



Nota. En esta figura se observa las muestras finales que serán enviadas para el análisis de cromatografía líquida (HPLC)

En la segunda parte del último proceso, a través del método de cromatografía líquida, se separó, purificó y cuantificó el xilitol obtenido de las muestras anteriores, en donde en la **Tabla 21**. Se evidencia los resultados de este método realizado

Tabla 21.

Fermentación Final – Obtención de xilitol.

Número de ensayo	Tamaño de partícula (mm)	Levadura	Tiempo (h)	Xilitol (g/L)
1	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	24	1,654
2	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	72	1,623
3	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	1,270
4	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	0,627
5	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	24	0,633
6	0,710	<i>Candida Tropicalis</i>	72	0,641
7	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24	1,314
8	0,381	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	72	1,629
Blanco	---	---	---	6,137

Nota. En esta tabla se observa los resultados finales obtenidos del análisis de cromatografía líquida (HPLC)

Para el análisis de producción de xilitol. se observó que ambas levaduras se comportaron de una forma distinta frente al tamaño de partícula planteado junto con el tiempo estimado para la fermentación. En razón de lo anterior, se estableció que, aunque la producción de xilitol frente al blanco no fue tan alta como se esperaba, ya que hay una diferencia de 4,483 g/L, si se determina que la *Candida Tropicalis* tiende a favorecer la producción de xilitol cuando el tamaño de partícula es mayor, que este caso sería a 0,710 mm, mientras que la *Saccharomyces cerevisiae*, tiende a favorecer la producción de xilitol cuando su tamaño de partícula es cada

vez menor, es decir se encuentra alrededor de 0.381 mm. Esto se debe a la forma de sintetizar de cada microorganismo y la cantidad de biomasa usada desde el inicio del proceso.

Adicionalmente, la levadura que realizó una mayor conversión de xilosa a xilitol al terminadas las 72 horas de fermentación final, corresponde a la *Saccharomyces cerevisiae*, la cual logró obtener un valor de producción de xilitol de 1,629 g/L. Por medio del valor anterior, se establece que, al momento de realizar una comparación con el artículo científico “Analysis of the Effect of Agitation and Aeration on Xylitol Production by Fermentation in Bioreactor with *Kluyveromyces marxianus* Using Hydrolyzed Tamarind Seed as Substrate”[63], el cual también usa como sustrato las semillas de tamarindo, pero en este caso, usan la levadura *Kluyveromyces Marxianus* para su correspondiente biotransformación, se estableció que la diferencia de producción es de 0,919 g/L, ya que en este artículo resaltan que su máxima producción alcanzada fue de 0,71 g/L de xilitol.

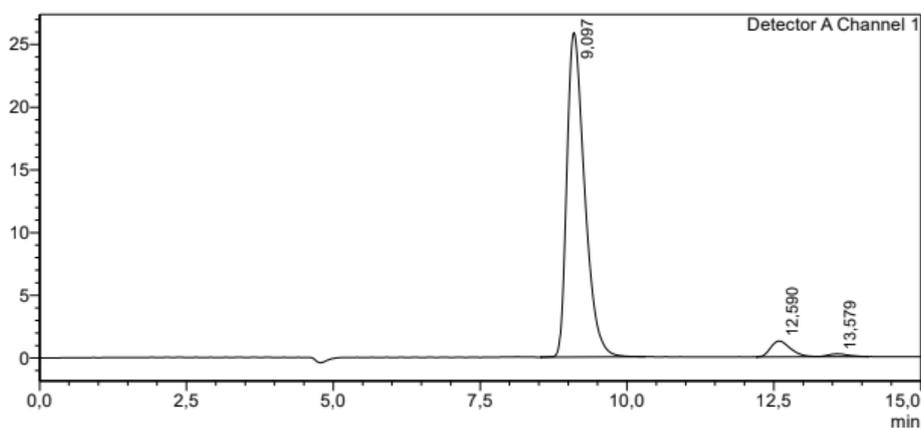
Es importante considerar que la levadura *Kluyveromyces Marxianus* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se encuentran dentro del mismo género *Saccharomycetaceae*, ambas con la capacidad de ser levaduras homotálica, hemiascomiceta y filogenéticamente relacionadas. La diferencia principal que se encuentra entre estas dos levaduras, corresponde a la reproducción que tienen, puesto que la *Saccharomyces cerevisiae*, tiene una reproducción asexual que le permite tener la capacidad de formar colonia mucho más fácil, mientras que la levadura *Kluyveromyces Marxianus*, tiene una reproducción sexual de manera teleomorfa permitiéndole desarrollar la levadura *Candida Kefyr*. [82]. A razón de lo anterior, se analizó que esta podría ser una de las principales razones por la cual la producción de xilitol presentada en el artículo no fue tan alta como la propuesta en este proyecto.

De acuerdo con lo presentado en la obtención de xilitol por cada uno de los ensayos en la **Tabla 20.**, se obtuvieron 9 gráficas correspondientes a cuantificación de xilitol para las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida Tropicalis* a las 24 y 72 horas con los diferentes tamaños de partículas. Allí se logra observar la relación que tiene cada tipo de levadura con el blanco, en donde en el eje X se tiene el tiempo estimado para que se dé la separación y purificación del xilitol, el cual corresponde a 15 min por ser un azúcar, junto con la relación con el eje Y que corresponde a la respuesta analítica, la cual en este caso fue usado el índice de refracción, puesto que al ser el xilitol un compuesto no cromóforo, es más fácil que sea detectado y cuantificado a comparación de la luz UV; esta respuesta se encuentra relacionada con los “picos

o señales” que son arrojados durante la prueba corroborando así que se está haciendo una separación junto con la presencia del compuesto a analizar en la máquina. Estas señales o picos tienen una relación con respecto a su altura, el ancho de la base, los cuales permiten indicar la eficiencia del sistema y la resolución del mismo [83]. Por lo tanto, teniendo en cuenta lo anteriormente nombrado, se obtuvieron los siguientes resultados:

Figura 29.

Resultados HPLC - Blanco Xilitol.

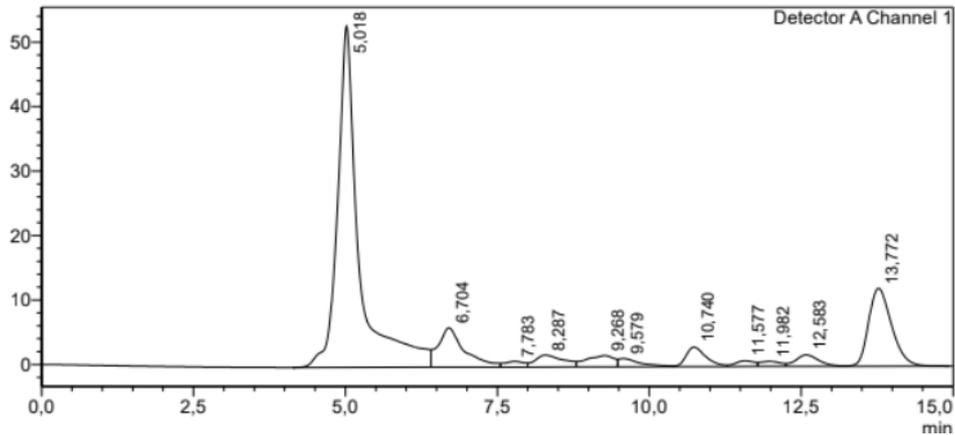


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol tomado como muestra blanco para el comparativo con las demás muestras.

Para la **Figura 29**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para el blanco del xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,097 minutos, evidenciado en la primera curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 546653 con una altura de 25847 y una concentración final de xilitol de 6,137 g/L.

Figura 30.

Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 24h – 0,710 mm.

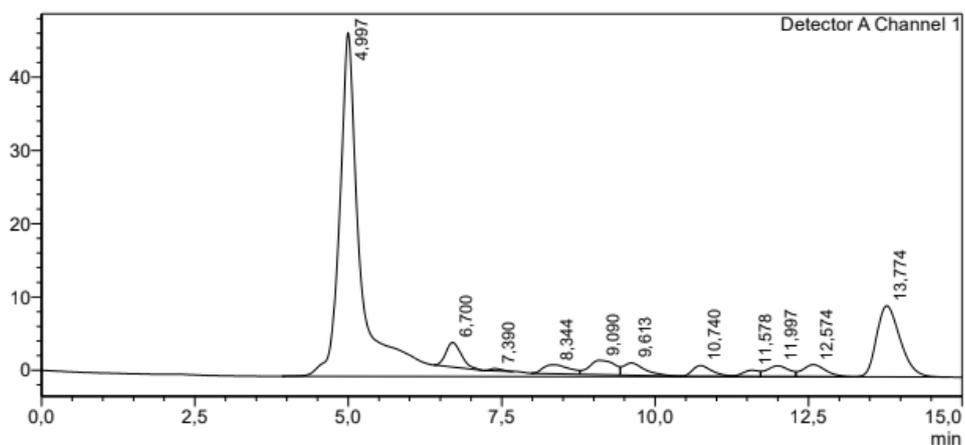


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 1 *Saccharomyces cerevisiae* 24h – 0,710 mm.

Para la **Figura 30.** Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Saccharomyces cerevisiae* a las 24 horas con un tamaño de partícula de 0,710 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,268 minutos, evidenciado en la quinta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 55175 con una altura de 1745 y una concentración final de xilitol de 0,633 g/L.

Figura 31.

Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 72h – 0,710 mm

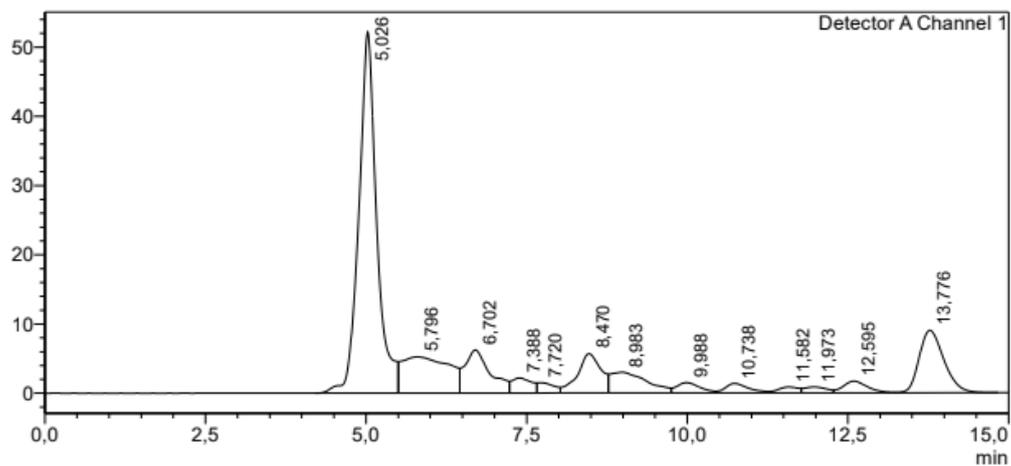


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 2 *Saccharomyces cerevisiae* 72h – 0,710 mm

Para la **Figura 31**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Saccharomyces cerevisiae* a las 72 horas con un tamaño de partícula de 0,710 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,090 minutos, evidenciado en la quinta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 55907 con una altura de 1931 y una concentración final de xilitol de 0,641 g/L.

Figura 32.

Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 24h – 0,381 mm

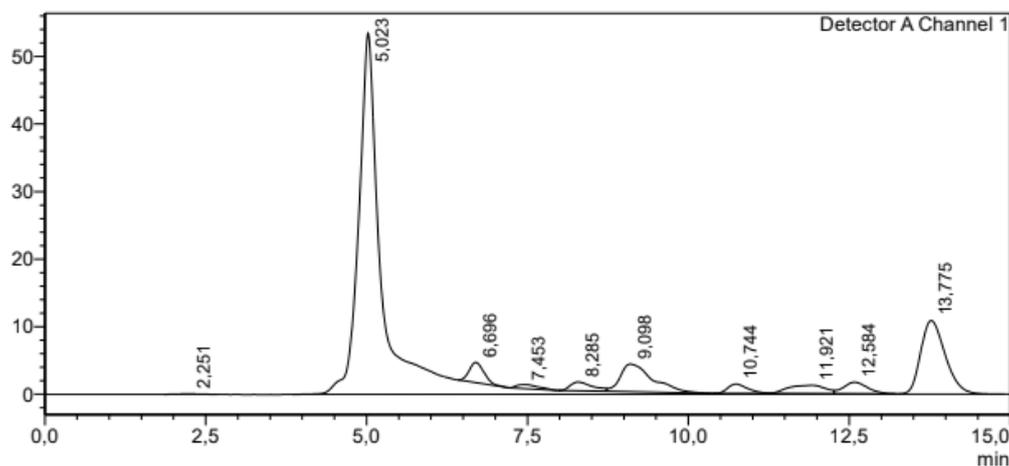


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 3 *Saccharomyces cerevisiae* 24h – 0,381 mm

Para la **Figura 32**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Saccharomyces cerevisiae* a las 24 horas con un tamaño de partícula de 0,381 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 8,983 minutos, evidenciado en la séptima curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 116038 con una altura de 2984 y una concentración final de xilitol de 1,314 g/L.

Figura 33.

Resultados HPLC - Saccharomyces cerevisiae 72h – 0,381 mm.

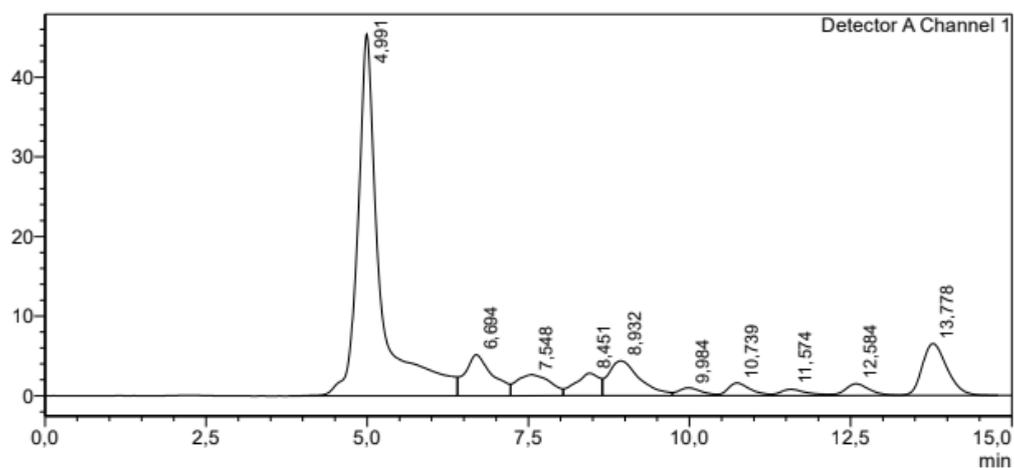


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 4 *Saccharomyces cerevisiae* 72h – 0,381 mm.

Para la **Figura 33.** Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Saccharomyces cerevisiae* a las 72 horas con un tamaño de partícula de 0,381 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,098 minutos, evidenciado en la sexta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 144139 con una altura de 4103 y una concentración final de xilitol de 1,629 g/L.

Figura 34.

Resultados HPLC - Candida Tropicalis 24h – 0,710 mm.

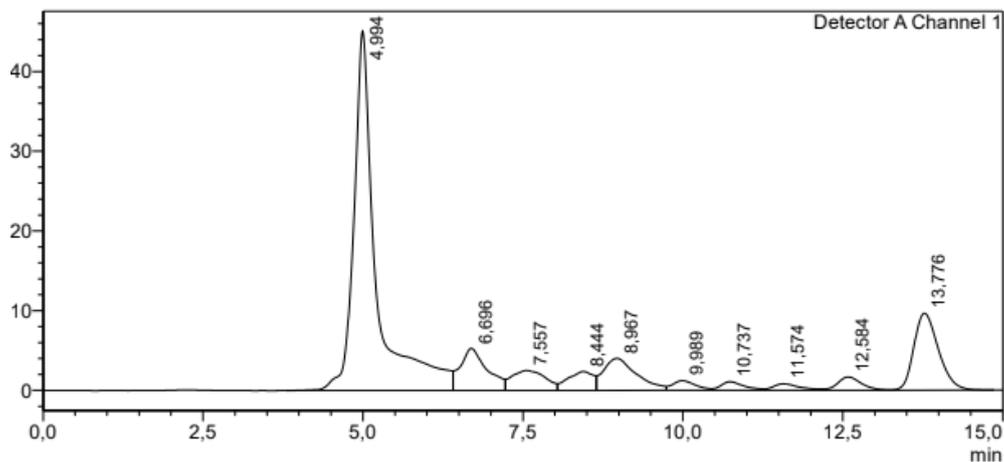


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 5 *Candida Tropicalis* 24h – 0,710 mm.

Para la **Figura 34**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Candida Tropicalis* a las 24 horas con un tamaño de partícula de 0,710 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 8,932 minutos, evidenciado en la quinta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 146338 con una altura de 4368 y una concentración final de xilitol de 1,654 g/L.

Figura 35.

Resultados HPLC - Candida Tropicalis 72h – 0,710 mm.

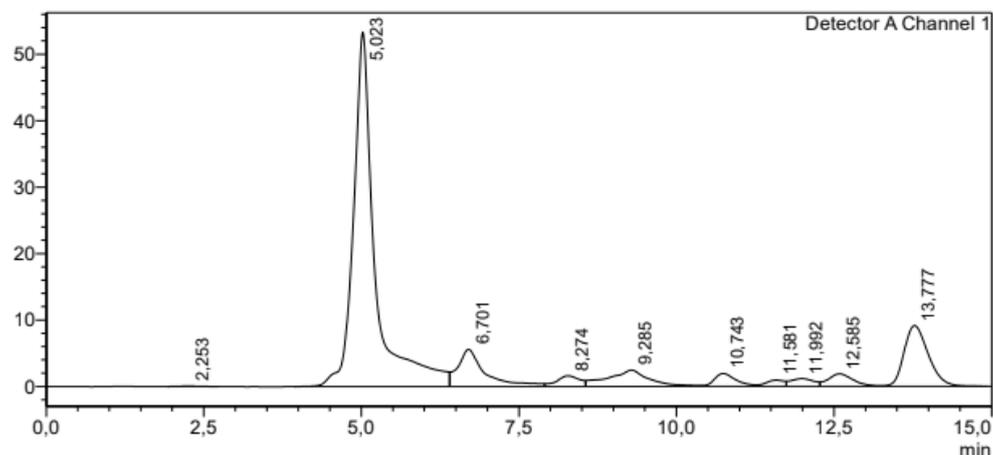


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 6 *Candida Tropicalis* 72h – 0,710 mm.

Para la **Figura 35**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Candida Tropicalis* a las 72 horas con un tamaño de partícula de 0,710 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 8,967 minutos, evidenciado en la quinta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 143624 con una altura de 4013 y una concentración final de xilitol de 1,623 g/L.

Figura 36.

Resultados HPLC - Candida Tropicalis 24h – 0,381 mm.

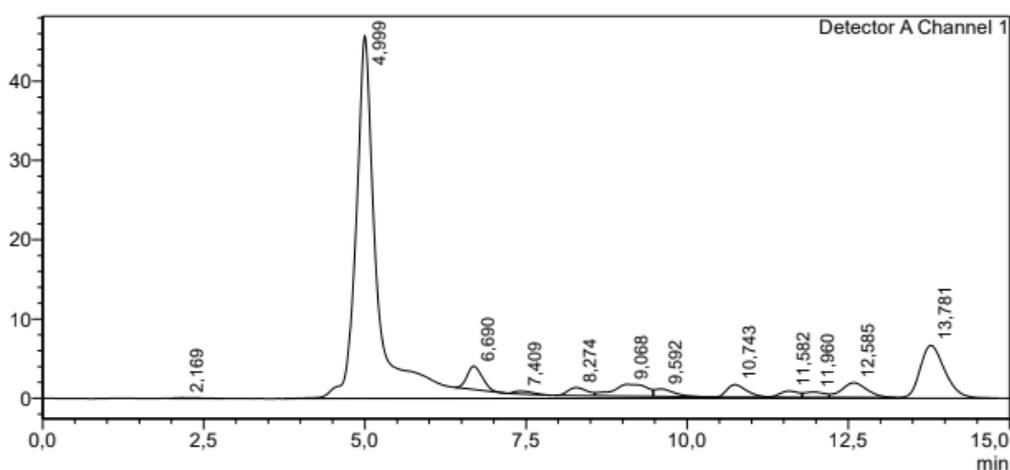


Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 7 *Candida Tropicalis* 24h – 0,381 mm.

Para la **Figura 36.** Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Candida Tropicalis* a las 24 horas con un tamaño de partícula de 0,381 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,285 minutos, evidenciado en la quinta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 112048 con una altura de 2458 y una concentración final de xilitol de 1,270 g/L.

Figura 37.

Resultados HPLC - Candida Tropicalis 72h – 0,381 mm.



Nota. En esta figura se observa una respuesta al proceso de HPLC al xilitol de la muestra 8 *Candida Tropicalis* 72h – 0,381 mm

Para la **Figura 37**. Se estima que, para un tiempo de total de 15 minutos, la lectura para la *Candida Tropicalis* a las 72 horas con un tamaño de partícula de 0,381 mm, la cantidad de xilitol presente en la muestra se realizó a los 9,068 minutos, evidenciado en la sexta curva de la muestra, arrojando un área bajo la curva de 54628 con una altura de 1484 y una concentración final de xilitol de 0,627 g/L.

Al momento de realizar un análisis general entre las gráficas anteriores y la gráfica del blanco, se logró evidenciar que el dato arrojado del xilitol en general para ambos microorganismos se encuentra entre los 8-9 minutos independientemente de la diferencia del tamaño de partícula. Se observa como diferencia entre las gráficas de ambas levaduras la cantidad de señales que presentó, puesto que para la *Saccharomyces cerevisiae* se presentaron entre 11-13 picos en sus gráficas correspondientes, mientras que para la *Candida Tropicalis*, se presentaron 10 picos dentro de las gráficas expuestas. Lo cual hace referencia a que hay una alta probabilidad de que se haya dado una mejor separación con los demás polisacáridos presentes en la muestra y que se haya optimizado mejor el proceso. [83]

Finalmente, con cada uno de los resultados obtenidos en los ensayos realizados, se realizó el diseño de experimentos de 2x2x2 como se observa en la **Tabla 22.**:

Tabla 22.

Diseño de Experimentos - Diseño Factorial 2x2x2

		B: Levadura			
		<i>Candida Tropicalis</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
		C: Tiempo (h)			
		24	72	24	72
A: Tamaño de partícula (mm)	0,710	1,654	1,623	0,633	0,641
	0,381	1,270	0,627	1,314	1,629

Nota. En esta tabla se observa el planteamiento del diseño de experimentos de forma más explícita

Planteando las siguientes hipótesis:

$H_0: A=0$

$H_0: B=0$

$H_0: C \neq 0$

$H_0: AB \neq 0$

$H_A: AC \neq 0$

H_A: A≠0

H_A: B≠0

H_A: C≠0

H_A: AB≠0

H_A: AC≠0

H_A: ABC≠0

H_A: ABC≠0

En donde se partió de la codificación de los niveles de la siguiente forma:

A = Tamaño de partícula: 0,710 mm: -1 0,381 mm: 1

B = Levadura: *Candida Tropicalis*: -1 *Saccharomyces cerevisiae*:1

C = Tiempo: 24h: -1 72h: 1

Posterior a ello, se realizó un análisis de varianza, iniciando con la suma de cuadrados y la media de cuadrados, estos enfocados a realizar un ANOVA obteniendo así los resultados de la **Tabla 23**.

Tabla 23.

Resumen de cálculos del diseño de experimentos - ANOVA

Variación	SS	df	MS	F
A	0,00522	1	0,00522	0,0731
B	0,05725	1	0,05725	0,8017
C	0,00770	1	0,00770	0,1079
AB	0,05725	1	0,05725	0,8017
AC	0,00770	1	0,00770	0,1079
BC	0,00566	1	0,00566	0,0792
ABC	0,07141	1	0,07141	-

Nota. En esta tabla se observa los resultados finales obtenidos del ANOVA planteado para el diseño de experimentos.

En la anterior tabla, se evidencian 5 columnas con información de fuente de variación, suma de cuadrados (SS), grados de libertad (df), media de cuadrados (MS), y el valor F. En este caso se evidencia que al diseño no contar con duplicados no se puede realizar el respectivo cálculo de error, es por esto que se toma la variación ABC como el error al ser más compleja que las demás variaciones.

5. DISEÑO TEÓRICO A ESCALA PILOTO

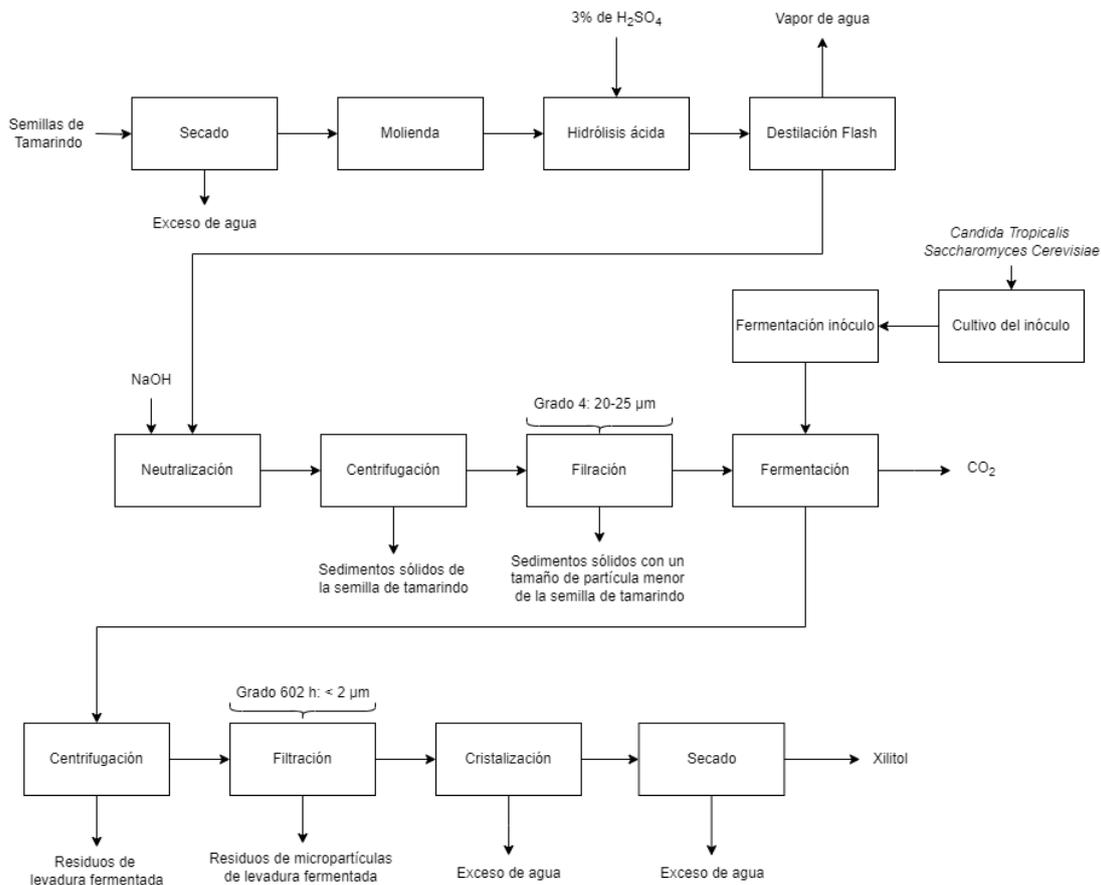
5.1 Diagramas planteados para el proceso

Para el planteamiento del diseño teórico de una escala piloto, se decide realizar un balance de masa y energía el cual va a permitir observar como optimizar y mejorar cada uno de los procesos propuestos a escala laboratorio y que se requeriría para pasar a la escala anteriormente nombrada y si lo realizado puede llegar a cumplir con los flujos de materia y energía necesarios para lograr los objetivos deseados.

Se inicia planteando el diagrama de bloques, donde se evidencian las operaciones unitarias manejadas para este escalamiento semi industrial de este proceso de producción como se muestra a continuación en la **Figura 38.**:

Figura 38.

Diagrama de bloques para la producción de xilitol.

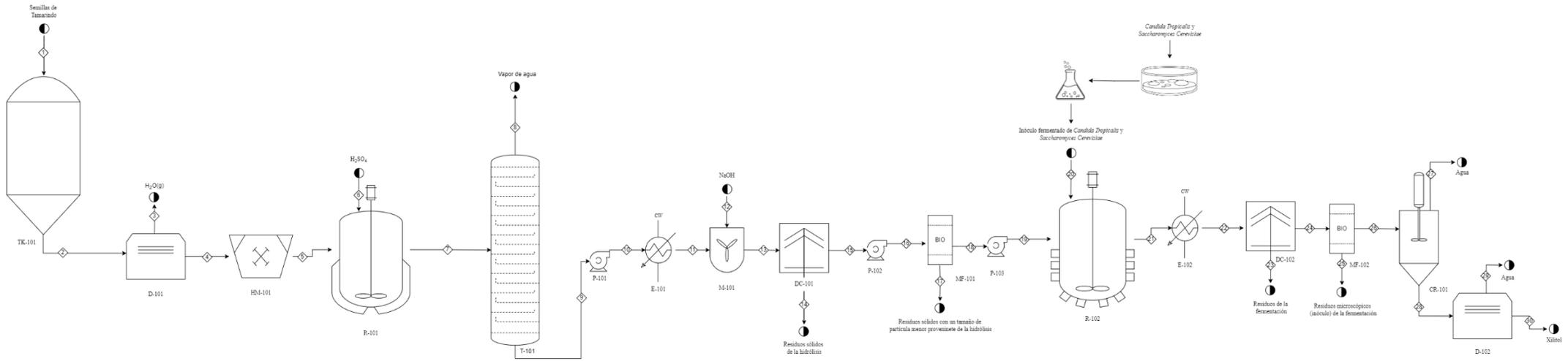


Nota. En esta figura se observa el planteamiento del diagrama de bloques para la producción semiindustrial de xilitol.

Posterior al diagrama de bloques anterior, se procede a plantear el diagrama de procesos PFD, teniendo en cuenta la implementación de las máquinas industriales que van a ser útiles en este proceso de producción como se muestra observa en la **Figura 39.**:

Figura 39.

Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el planteamiento del diagrama de bloques para la producción semiindustrial de xilitol

En donde las máquinas planteadas para el proceso corresponden a:

Tabla 24.

Máquinas a usar para el proceso de producción semi industrial de xilitol

Máquina	Cantidad	Nomenclatura
Tanque de almacenamiento	1	TK-101
Secador	2	D-101/102
Molino de martillos	1	HM-101
Reactor CSTR	1	R-101
Columna de destilación tipo flash	1	T-101
Bomba centrífuga	3	P-101/102/103
Intercambiador de calor	2	E-101/102
Tanque mezclador	1	M-101
Centrífuga de discos	2	DC-101/102
Filtro de membrana	2	MF-101/102
Biorreactor	1	R-102
Cristalizador	1	CR-101
TOTAL	18	---

Nota. En esta tabla se observa la lista de máquinas usadas para el diseño del proceso de producción de xilitol a escala semiindustrial.

5.2 Descripción del proceso

El proceso inicia con un flujo de entrada de biomasa de 70 kg/h de semillas de tamarindo, el cual pasa a ser secada con una temperatura de 70°C durante 1 hora, en el cual se busca reducirle la cantidad de agua presente en las semillas; estas condiciones del proceso se establecieron teniendo en cuenta que las semillas de tamarindo a escala laboratorio se secaron a 60°C y su tiempo de secado fue de 40min, pero al manejarse una mayor masa se busca que haya una relación con el tiempo y temperatura para así lograr mantener la condiciones adecuadas para el proceso.

Posteriormente pasa a un molino de martillos con un tiempo aproximado de 1 hora y 30 minutos; este tiempo se estima teniendo en cuenta que, durante el diseño experimental, se tardó en moler las semillas en un tiempo estimado de 30 minutos, ya que a pesar de que no era una

gran cantidad de materia prima, la dureza de la misma dificultaba el proceso de molienda. Este proceso se realiza con el fin de reducir su tamaño de partícula y que esta quede en un rango de 0,125 mm para así poder iniciar el método de hidrólisis ácida, en donde este ocurre en un reactor CSTR, dando paso a la primera reacción entre el ácido sulfúrico al 3% y los polisacáridos presentes en la semilla, entre ellos el xilano o xiloglucano, puesto que es necesario romper los enlaces presentes con el ácido para así obtener el componente deseado que vendría siendo la xilosa.

Según bibliografía, dice que el xiloglucano presente en las semillas de tamarindo corresponde al 20% del peso seco de la semilla, es decir que la cantidad máxima teórica esperada para obtener la xilosa de forma teórica corresponde a que de los 70 kg que ingresan, 14 kg corresponderían al xiloglucano y lo que se esperaría convertir en xilosa [110]

Durante este proceso las condiciones de operación se encuentran en 120°C y 15 psi de presión y su tiempo de duración es de 1 hora y 30 minutos para que reaccione por completo y no se queden reactivos sin reaccionar. Las condiciones del proceso se tomaron tanto del diseño experimental como de bibliografía [106-109]

Al pasar el tiempo establecido para la hidrólisis, la xilosa pasa a una torre de destilación de tipo flash, en donde se separa el vapor de agua presente en el producto con el fin de que no se vea alterada la sustancia. Al momento de lograr la separación anteriormente nombrada, se procede a bajar la temperatura de la corriente usando R-134a como refrigerante y que la corriente logre estar a una temperatura de 25°C para poder neutralizar la sustancia con hidróxido de sodio, que tiene una pureza del 98%. Es importante resaltar que la sustancia debe encontrarse con pH de 6-7.

El refrigerante R-134a se elige en base de que tiene muy buenas características para trabajar con temperaturas que se encuentran entre los 10°C y más de 18°C con un PCA = 1300 (Potencial de calentamiento atmosférico), el cual indica la medida de refrigeración que afecta al calentamiento global en función de su influencia en el efecto invernadero, adicionalmente que no se contempla una fecha de caducidad para la utilización de este refrigerante. [111] [112] Posteriormente, al tener la sustancia neutralizada, se centrifuga y se filtra, esto con el fin de separar los residuos sólidos que se pudieron quedar homogenizados con la xilosa obtenida y así poder tener un producto más limpio. Luego, la xilosa filtrada ingresa a un biorreactor junto

con la levadura a usar, en este caso corresponde a la *Saccharomyces cerevisiae*, para realizar el proceso de la fermentación. Durante este proceso, es importante mantener el biorreactor a una temperatura de 30°C durante un periodo de 72 horas, el cual corresponde al tiempo estimado de fermentación y obtención del xilitol.

Posteriormente, al obtener el xilitol en la fermentación, se procede a centrifugar y filtrar con un filtro de membrana de un tamaño de 0.45 µm con el fin de retirar las levaduras presentes en la sustancia líquida obtenida y que esta quede más purificada para poder cristalizarla durante un tiempo estimado de 12 horas con una temperatura de 60°C y finalmente secarla a una temperatura de 40°C durante 6 horas así retirarle el exceso de humedad sin que se vea alterados los cristales.

5.3 Balance de masa del proceso

Para iniciar el balance de masa, se inicia con los datos bases correspondiente a las propiedades de la materia prima que va a ingresar al proceso en donde se encuentra la fórmula química, el estado de la materia y el peso molecular de cada compuesto:

Tabla 25.

Propiedades de la materia prima

Compuesto	Xilano	Xilosa	Ácido sulfúrico	Hidróxido de sodio
Formula	C ₅ H ₈ O ₄	C ₅ H ₁₀ O ₅	H ₂ SO ₄	NaOH
Estado	Sólido	Líquido	Líquido	Líquido
Peso molecular	132,00 g/mol	150,13 g/mol	98,08 g/mol	39,99 g/mol

Nota. En esta tabla se observa las propiedades de la materia prima entre su estado y peso molecular.

Adicionalmente se plantea las propiedades del producto deseado que en este caso corresponde al xilitol en donde se encuentra fórmula química, estado de la materia y peso molecular:

Tabla 26.

Propiedades de los productos

Compuesto	Xilitol
Formula	C ₅ H ₁₂ O ₅
Estado	Líquido
Peso molecular	152,15 g/mol

Nota. En esta tabla se observa las propiedades del producto deseado a obtener entre ellos su estado y peso molecular.

Posteriormente, se plantea la ecuación de balance de masa:

$$\text{Entrada} - \text{Salida} \pm \text{Generación} = \text{Acumulación} \quad (19)$$

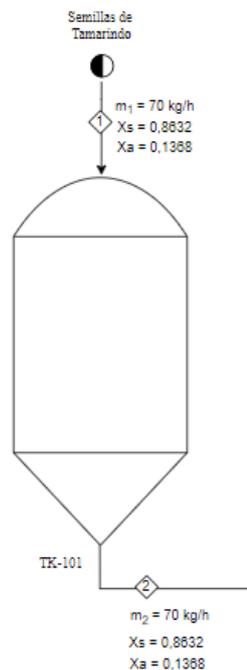
$$\text{Entrada} - \text{Salida} = \text{Acumulación} \quad (20)$$

Partiendo de la **ecuación 19** y **ecuación 20** anteriormente planteadas para el balance, se inicia realizando el balance para todo el proceso como se evidencia:

1. Tanque de Almacenamiento

Figura 40.

Tanque de almacenamiento - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama de un tanque de almacenamiento junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso

$$M_1 = M_2 \quad (21)$$

$$70 \frac{kg}{h} = 70 \frac{kg}{h}$$

En dónde:

$$M_1 = 70 \text{ kg/h}$$

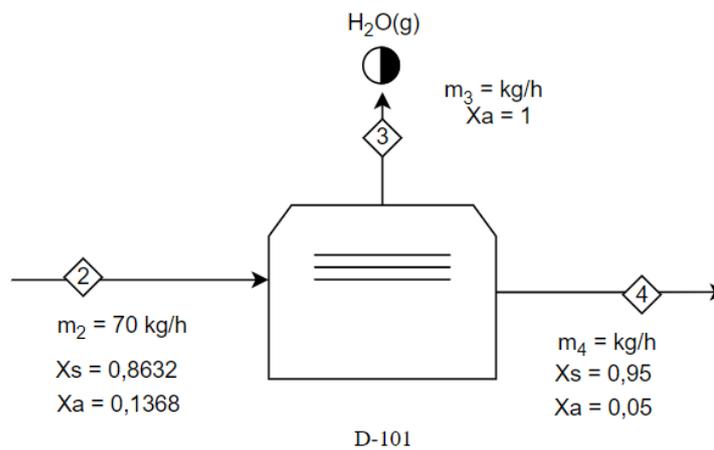
$$M_2 = 70 \text{ kg/h}$$

En este caso, como el tanque solamente se encuentra almacenando la biomasa a usar, que en este caso corresponde a las semillas de tamarindo, su balance de masa va a ser el mismo a la entrada y a la salida.

2. Secador

Figura 41.

Secador - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del secador 1 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

$$m_2 = m_3 + m_4 \quad (22)$$

$$m_2 \cdot X_2 = m_3 \cdot X_3 + m_4 \cdot X_4 \quad (23)$$

$$70 \text{ kg/h} = m_3 + m_4 \quad (24)$$

$$m_3 = 70 \frac{kg}{h} - m_4 \quad (25)$$

Para realizar el balance en el secador, se parte de la **ecuación 23** y la **ecuación 25**, en donde se planteó para el agua retirada y así lograr obtener el valor de la masa que se tiene para cada una de las corrientes como se observa a continuación:

$$70 \text{ kg/h} \cdot 0,1368 = m_3 \cdot 1 + m_4 \cdot 0,05$$

$$70 \text{ kg/h} \cdot 0,1368 = \left(70 \frac{kg}{h} - m_4\right) \cdot 1 + m_4 \cdot 0,05$$

$$9,576 \text{ kg/h} = 70 \frac{kg}{h} - m_4 + 0,05m_4$$

$$9,576 \frac{kg}{h} - 70 \frac{kg}{h} = -m_4 + 0,05m_4$$

$$-60,424 \frac{kg}{h} = -0,95m_4$$

$$m_4 = 63,6042 \frac{kg}{h}$$

En dónde finalmente:

$$M_2 = 70 \text{ kg/h}$$

$$M_3 = 6,3957 \text{ kg/h}$$

$$M_4 = 63,6042 \text{ kg/h}$$

Gracias a los cálculos anteriormente realizados, se busca saber el porcentaje de agua retirada de las semillas, la cual a partir de la **ecuación 26** se obtiene dicho dato, dando como resultado el 66,7897% de agua retirada. Esto se debe a que las semillas no solo se componen de agua sino adicionalmente de otros polisacáridos, de proteínas, aceites, fibras entre otros.

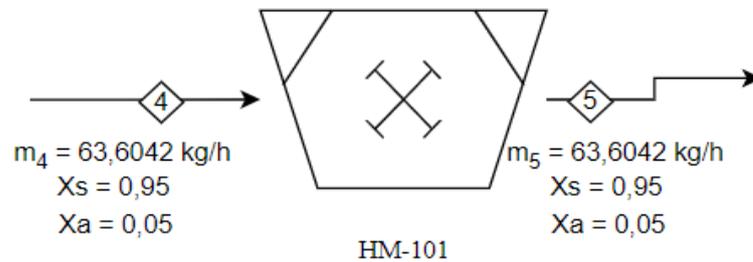
$$\% \text{ de Agua retirada} = \frac{m_3}{\% \text{ de agua presente en las semillas} \cdot m_2} * 100\% \quad (26)$$

$$\% \text{ de Agua retirada} = \frac{6,3957 \text{ kg/h}}{0,1368 \cdot 70 \text{ kg/h}} * 100\% = 66,7897\%$$

3. Molino de Martillos

Figura 42.

Molino de martillos - Diagrama PFD para la producción de xilitol



Nota. En esta figura se observa el diagrama del molino de martillos junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso

Para el balance en el molino, ocurre de forma similar como en el tanque de almacenamiento, puesto que la masa entrada debe ser la misma masa a la salida como se observa en la **ecuación 27**. Para el balance de masa de esta máquina no se ha contado con el uso de un tamiz, porque la idea es que el molino quede adaptado a trabajar a un tamaño de partícula de 0,125 mm.

$$m_4 = m_5 \quad (27)$$

$$63,6042 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 63,6042 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

En dónde:

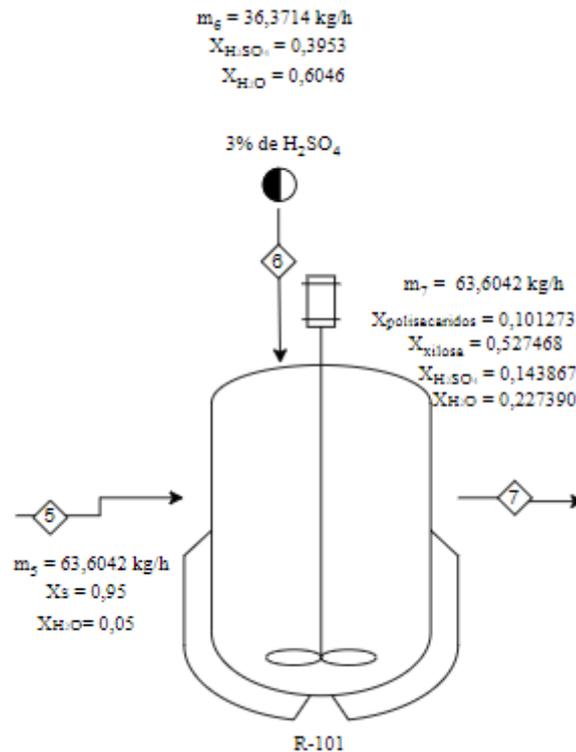
$$M_4 = 63,6042 \text{ kg/h}$$

$$M_5 = 63,6042 \text{ kg/h}$$

4. Reactor CSTR

Figura 43.

Reactor CSTR - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



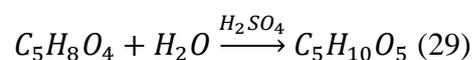
Nota. En esta figura se observa el diagrama de un reactor CSTR junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Para el balance en el reactor, se tuvo en cuenta la sumatoria entre el agua usada y el ácido sulfúrico al 3%, puesto que ambos son una sola corriente. Adicionalmente se partió de la reacción que se dio al interior de reactor la cual se encuentra en la siguiente **ecuación 29**:

Balance general:

$$m_5 + m_6 = m_7 \quad (28)$$

Reacción:



Los datos de la **Tabla 27.** corresponden a los reportados por literatura, en el cual sus procesos de biotransformación hablan de la selectividad para cada uno de los componentes presentes que en este caso corresponderían a los polisacáridos, la xilosa y en general los sólidos secos [100] [102] [107]

Tabla 27.

Conversión y selectividad porcentual en la reacción

Factor	Valor
Conversión	90%
Polisacáridos	10%
Xilosa	40%
Sólidos secos (proteínas, aceites, fibras, etc.)	50%

Nota. En esta tabla se observa la conversión y selectividad de la reacción al interior del reactor CSTR.

Moles de entrada:

Xilano:

$$\left(63,6042 \frac{\text{kg}}{\text{h}}\right) (50\%) = 31,8021 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \text{ de } C_5H_8O_4 \quad (30)$$

$$\left(31,8021 \frac{\text{kg}}{\text{h}}\right) \cdot \frac{1000 \text{ g de } C_5H_8O_4}{1 \text{ kg de } C_5H_8O_4} = 31802,1 \text{ g de } C_5H_8O_4 \quad (31)$$

$$(31802,1 \text{ g de } C_5H_8O_4) \cdot \frac{1 \text{ mol de } C_5H_8O_4}{132 \text{ g de } C_5H_8O_4} = 240,925 \text{ mol de } C_5H_8O_4 \quad (32)$$

$$\eta_{C_5H_8O_4}^{\circ} = 240,925 \text{ mol de } C_5H_8O_4$$

Agua:

$$\left(34,4632 \frac{\text{kg}}{\text{h}}\right) (47\%) = 16,1977 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \text{ de } H_2O \quad (33)$$

$$\left(16,1977 \frac{\text{kg}}{\text{h}}\right) \cdot \frac{1000 \text{ g de } H_2O}{1 \text{ kg de } H_2O} = 16197,704 \text{ g de } H_2O \quad (34)$$

$$(16197,704 \text{ g de } H_2O) \cdot \frac{1 \text{ mol de } H_2O}{18 \text{ g de } H_2O} = 899,8724 \text{ mol de } H_2O \quad (35)$$

$$\eta_{H_2O}^{\circ} = 899,8724 \text{ mol de } H_2O$$

Ácido Sulfúrico:

Para hacer el cálculo de la cantidad de ácido a usar en el diseño teórico respecto al peso del tamarindo, se tuvo en cuenta la masa que entraba, la cual se multiplicó por la concentración del ácido, en este caso que es del 3% como se muestra en la **ecuación 36**.

$$\left(1,988126 \frac{\text{kg}}{\text{h}}\right) (3\%) = 0,0596 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \text{ de } H_2SO_4 \quad (36)$$

$$\left(0,0596 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \text{ de } H_2SO_4\right) \cdot \frac{1000 \text{ g de } H_2SO_4}{1 \text{ kg de } H_2SO_4} = 59,6438 \text{ g de } H_2SO_4 \quad (37)$$

$$(59,6438 \text{ g de } H_2SO_4) \cdot \frac{1 \text{ mol de } H_2SO_4}{98,07 \text{ g de } H_2SO_4} = 0,6081 \text{ mol de } H_2SO_4 \quad (38)$$

$$\eta_{H_2SO_4}^{\circ} = 0,6081 \text{ mol de } H_2SO_4$$

Conversión:

$$C = 0,9 = \frac{\text{moles que reaccionan}}{\text{moles que se alimentan}} \quad (39)$$

$$\text{mol que reacciona} = 0,9 \cdot \text{mol que se alimenta} \quad (40)$$

$$\text{mol que reacciona} = 0,9 \cdot 240,925 \text{ mol de } C_5H_8O_4$$

$$\text{mol que reacciona} = 216,8325 \text{ mol de } C_5H_8O_4$$

Moles de salida $C_5H_8O_4$:

$$\text{mol de } C_5H_8O_4 = \text{mol de } C_5H_8O_4^{\circ} - \text{moles que reaccionan} \quad (41)$$

$$\text{mol de } C_5H_8O_4 = 240,925 \text{ mol de } C_5H_8O_4 - 216,8325 \text{ mol de } C_5H_8O_4$$

$$\eta_{C_5H_8O_4} = 24,0925 \text{ mol de } C_5H_8O_4$$

Planteamiento de moles de salida:

Xilosa:

$$\eta_{C_5H_{10}O_5} = \eta_{C_5H_{10}O_5}^{\circ} + r_1 \quad (42)$$

Cálculo de r:

Xilosa:

$$\eta_{C_5H_{10}O_5} = \eta_{C_5H_{10}O_5}^{\circ} + r_1$$

$$\eta_{C_5H_{10}O_5} = r_1 \quad (43)$$

$$r_1 = 96,37$$

Moles de salida:

Xilano:

$$\eta_{C_5H_8O_4} = \eta_{C_5H_8O_4}^{\circ} - r_1 \quad (44)$$

$$\eta_{C_5H_8O_4} = 240,925 \text{ mol de } C_5H_8O_4 - 96,37$$

$$\eta_{C_5H_8O_4} = 144,555 \text{ mol}$$

Agua:

$$\eta_{H_2O} = \eta_{H_2O}^{\circ} - r_1 \quad (45)$$

$$\eta_{H_2O} = 899,8724 \text{ mol de } H_2O - 96,37$$

$$\eta_{H_2O} = 803,502 \text{ mol}$$

Xilosa:

$$\eta_{C_5H_{10}O_5} = 96,37 \text{ mol}$$

Gramos de salida:

Xilano:

$$144,555 \text{ mol de } C_5H_8O_4 \cdot \left(\frac{0,1320 \text{ kg de } C_5H_8O_4}{1 \text{ mol de } C_5H_8O_4} \right) = 19,0812 \text{ kg de } C_5H_8O_4$$

Agua:

$$803,502 \text{ mol de } H_2O \cdot \left(\frac{0,0180 \text{ kg de } H_2O}{1 \text{ mol de } H_2O} \right) = 14,4630 \text{ kg de } H_2O$$

Ácido Sulfúrico:

$$96,9781 \text{ mol de } H_2SO_4 \cdot \left(\frac{0,09807 \text{ kg de } H_2SO_4}{1 \text{ mol de } H_2SO_4} \right) = 9,1506 \text{ kg de } H_2SO_4$$

Xilosa:

$$96,37 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{0,15013 \text{ kg de } C_5H_{10}O_5}{1 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5} \right) = 14,4680 \text{ kg de } C_5H_{10}O_5$$

Sumatoria total

$$\begin{aligned} m_7 &= 19,0812 \text{ kg de } C_5H_8O_4 + 14,4630 \text{ kg de } H_2O + 9,1506 \text{ kg de } H_2SO_4 \\ &\quad + 14,4680 \text{ kg de } C_5H_{10}O_5 + 6,4414 \text{ kg de poliosacáridos} \\ m_7 &= \mathbf{63,6042 \text{ kg}} \end{aligned}$$

$$C_5H_8O_4 = \left(\frac{19,0812 \text{ kg}}{63,6042 \text{ kg}} \right) \cdot 100 = 29,9999 \%$$

$$H_2O = \left(\frac{14,4630 \text{ kg}}{63,6042 \text{ kg}} \right) \cdot 100 = 22,7390\%$$

$$H_2SO_4 = \left(\frac{9,1506 \text{ kg}}{63,6042 \text{ kg}} \right) \cdot 100 = 14,3867\%$$

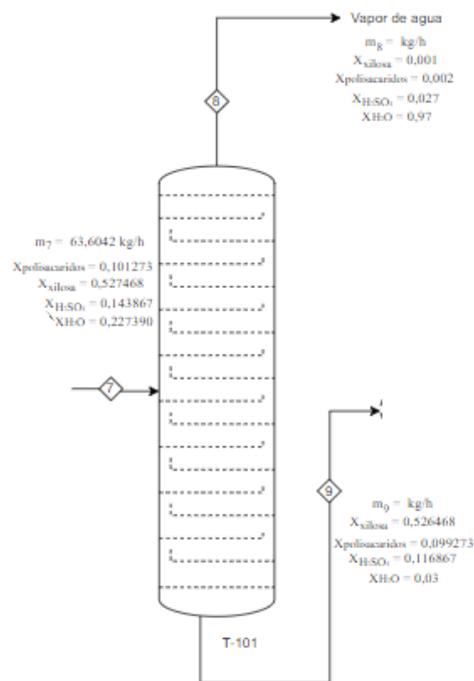
$$C_5H_{10}O_5 = \left(\frac{14,4680 \text{ kg}}{63,6042 \text{ kg}} \right) \cdot 100 = 22,7469\%$$

$$\text{Polisacáridos} = \left(\frac{6,4414 \text{ kg}}{63,6042 \text{ kg}} \right) \cdot 100 = 10,1273 \%$$

5. Torre de destilación tipo flash

Figura 44.

Torre de destilación tipo flash - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama de una torre de destilación tipo flash junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_7 = m_8 + m_9 \quad (46)$$

$$63,6042 \frac{kg}{h} = m_8 + m_9$$

$$m_8 = 63,6042 \frac{kg}{h} - m_9 \quad (47)$$

Balance de Xilosa

$$63,6042 \frac{kg}{h} \cdot 0,527468 = m_8 \cdot 0,001 + m_9 \cdot 0,526468 \quad (48)$$

$$63,6042 \frac{kg}{h} \cdot 0,527468 = \left(63,6042 \frac{kg}{h} - m_9 \right) \cdot 0,001 + m_9 \cdot 0,526468$$

$$33,5491 \frac{kg}{h} = 0,063604 \frac{kg}{h} - 0,001m_9 + 0,05m_9$$

$$33,5491 \frac{kg}{h} - 0,063604 \frac{kg}{h} = -0,001m_9 + 0,05m_9$$

$$33,4854 \frac{kg}{h} = 0,049 m_9$$

$$m_9 = 33,4364 \frac{kg}{h}$$

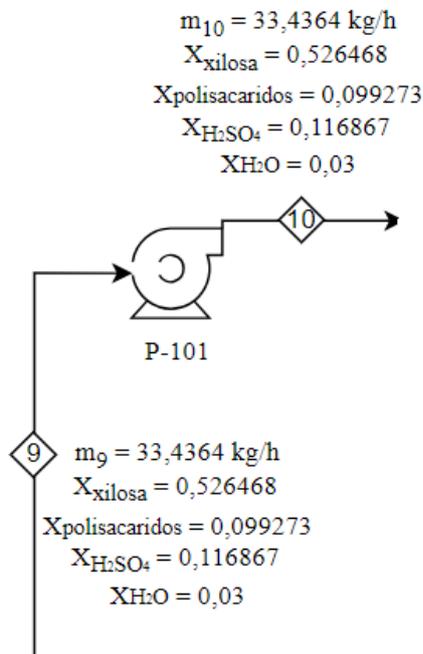
$$m_8 = 63,6042 \frac{kg}{h} - 33,4364 \frac{kg}{h}$$

$$m_8 = 30,1677 \frac{kg}{h}$$

6. Bomba Centrífuga 1

Figura 45.

Bomba centrífuga 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama de la bomba centrífuga 1 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

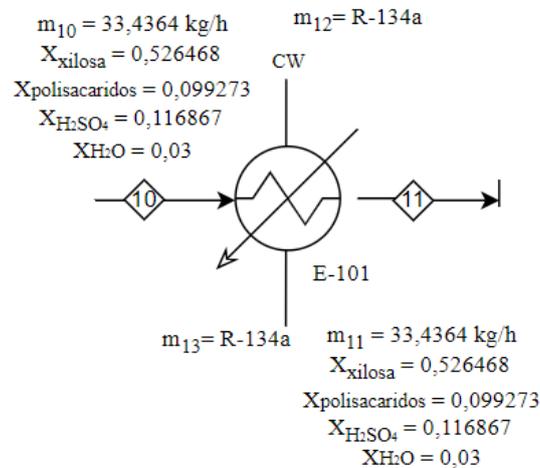
$$m_9 = m_{10} \quad (49)$$

$$33,4364 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 33,4364 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

7. Intercambiador de Calor 1

Figura 46.

Intercambiador de calor 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del intercambiador de calor 1 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{10} + m_{12} = m_{11} + m_{13} \quad (50)$$

$$m_{10} = m_{12} \quad (51)$$

$$33,4364 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 33,4364 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

$$m_{11} = m_{13} = \text{Refrigerante R} - 134a \quad (52)$$

$$Q = \dot{m} \cdot C_p \cdot \Delta T \quad (53)$$

$$Q = \left(33,4364 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \cdot \frac{1 \text{ h}}{3600 \text{ s}} \right) \cdot 1420 \frac{\text{J}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} \cdot 95^\circ\text{C}$$

$$Q = 1253,803 \text{ W} = 1253,803 \frac{\text{J}}{\text{s}}$$

$$Q_{total} = Q \cdot t \quad (54)$$

$$Q_{total} = 1253,803 \frac{\text{J}}{\text{s}} \cdot \left(24 \text{ h} \cdot \frac{3600 \text{ s}}{1 \text{ h}}\right)$$

$$Q_{total} = 108319819,2 \text{ J}$$

Partiendo de los cálculos anteriores, se plantea el cálculo para la masa del refrigerante R-134^a siguiendo la **ecuación 55**.

$$m_{R-134a} = \frac{Q_{total}}{C_p \cdot \Delta T} \quad (55)$$

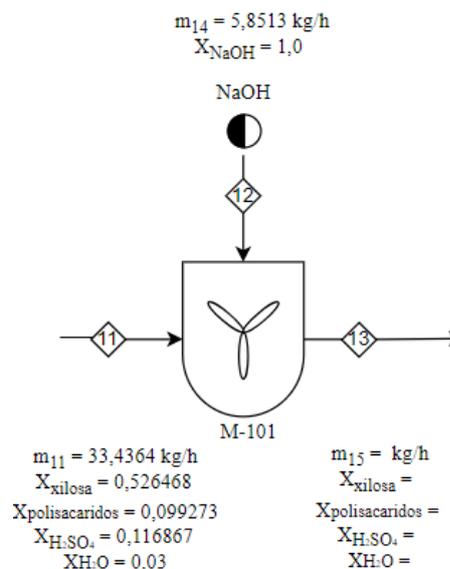
$$m_{R-134a} = \frac{108319819,2 \text{ J}}{1420 \frac{\text{J}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} \cdot 95^\circ\text{C}}$$

$$m_{R-134a} = 802,66 \text{ kg}$$

8. Mezclador

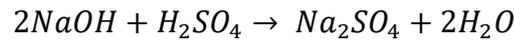
Figura 47.

Mezclador - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del mezclador junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Ecuación de Neutralización:



$$2,24 n \quad 0,074n$$

$$m_{11} \cdot 17,5\% = NaOH \text{ kg} \quad (56)$$

$$33,4364 \frac{kg}{h} \cdot 17,5\% = 5,8513 \text{ kg de NaOH} \quad (57)$$

$$5,8513 \text{ kg de NaOH} \cdot \left(\frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} \right) = 5851,37 \text{ g de NaOH} \quad (58)$$

$$\text{Volumen NaOH} = \left(\frac{5851,37 \text{ g de NaOH}}{2,13 \text{ g/mL}} \right) = 2747,1220 \text{ mL} \quad (59)$$

$$m_{14} = 5,8513 \text{ kg de NaOH}$$

Balance General:

$$m_{11} + m_{14} = m_{15} \quad (60)$$

$$33,4364 \frac{kg}{h} + 5,8513 \frac{kg}{h} = 39,2877 \frac{kg}{h}$$

Balance de ácido sulfúrico

$$0,1168 \text{ kg } H_2SO_4 \cdot \left(\frac{1 \text{ mol de } H_2SO_4}{0,05844 \text{ kg de } H_2SO_4} \right) = 1,9986 \text{ moles de } H_2SO_4 \quad (56)$$

$$X_{H_2SO_4} = \frac{1,9986 \text{ moles de } H_2SO_4}{153,52 \text{ moles totales corriente}}$$

$$X_{H_2SO_4} = 1,3018 \%$$

Balance de xilosa

$$0,52647 \text{ kg xilosa} \cdot \left(\frac{1 \text{ mol de xilosa}}{0,15013 \text{ kg de xilosa}} \right) = 3,4796 \text{ moles de xilosa} \quad (61)$$

$$X_{xilosa} = \frac{3,4796 \text{ moles de xilosa}}{153,52 \text{ moles totales corriente}}$$

$$X_{xilosa} = 2,2665 \%$$

Balance de agua

$$0,03 \text{ kg } H_2O \cdot \left(\frac{1 \text{ mol de } H_2O}{0,018 \text{ kg de } H_2O} \right) = 1,6666 \text{ moles de } H_2O \quad (62)$$

$$X_{H_2O} = \frac{1,6666 \text{ moles de } H_2O}{153,52 \text{ moles totales corriente}}$$

$$X_{H_2O} = 1,0855 \%$$

Balance de hidróxido de sodio

$$5,8513 \text{ kg de NaOH} \cdot \left(\frac{1 \text{ mol de H}_2\text{SO}_4}{0,04 \text{ g de H}_2\text{SO}_4} \right) = 146,2825 \text{ moles de NaOH} \quad (63)$$

$$X_{\text{NaOH}} = \frac{146,2825 \text{ moles de NaOH}}{153,52 \text{ moles totales corriente}}$$

$$X_{\text{NaOH}} = 95,2856 \%$$

Balance de Polisacárido

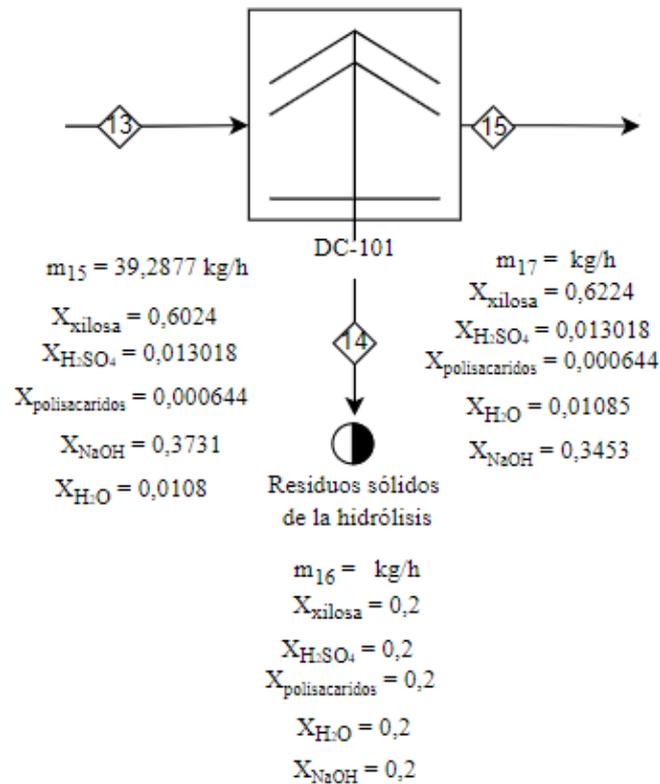
$$X_{\text{polisacárido}} = \frac{0,099 \text{ moles de polisacárido}}{153,52 \text{ moles totales corriente}} \quad (64)$$

$$X_{\text{polisacárido}} = 0,0644\%$$

9. Centrífuga de Disco 1

Figura 48.

Centrífuga de Disco 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama de la centrífuga de discos 1 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{15} = m_{16} + m_{17} \quad (65)$$

$$39,2877 \frac{kg}{h} = m_{16} + m_{17}$$

$$m_{16} = m_{17} - 39,2877 \frac{kg}{h}$$

Balance para la xilosa:

$$39,2877 \frac{kg}{h} \cdot 0,6024 = m_{16} \cdot 0,2 + m_{17} \cdot 0,6224$$

$$23,6669 \frac{kg}{h} = \left(m_{17} - 39,2877 \frac{kg}{h} \right) \cdot 0,2 + m_{17} \cdot 0,6224$$

$$23,6669 \frac{kg}{h} = 0,2 m_{17} - 7,8575 \frac{kg}{h} + 0,6224 m_{17}$$

$$23,6669 \frac{kg}{h} + 7,8575 \frac{kg}{h} = 0,2 m_{17} + 0,6224 m_{17}$$

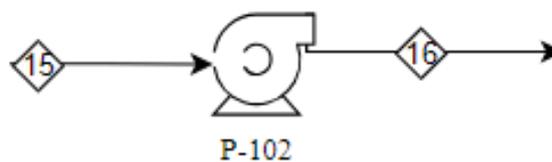
$$31,5244 \frac{kg}{h} = 0,8224 m_{17}$$

$$m_{17} = 38,3321 \frac{kg}{h}$$

10. Bomba Centrífuga 2

Figura 49.

Bomba centrífuga 2 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



$m_{17} = 38,3321 \text{ kg/h}$	$m_{18} = 38,3321 \text{ kg/h}$
$X_{xilosa} = 0,6224$	$X_{xilosa} = 0,6224$
$X_{H_2SO_4} = 0,013018$	$X_{H_2SO_4} = 0,013018$
$X_{polisacaridos} = 0,000644$	$X_{polisacaridos} = 0,000644$
$X_{H_2O} = 0,01085$	$X_{H_2O} = 0,01085$
$X_{NaOH} = 0,3453$	$X_{NaOH} = 0,3453$

Nota. En esta figura se observa el diagrama de la bomba centrífuga 2 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

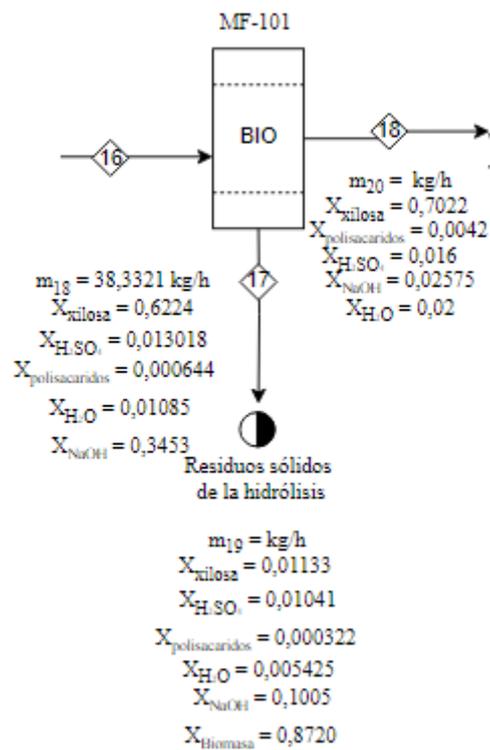
$$m_{17} = m_{18} \quad (66)$$

$$38,3321 \frac{kg}{h} = 38,3321 \frac{kg}{h}$$

11. Filtro de Membrana 1

Figura 50.

Filtro de membrana 1 - Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del filtro de membrana 1 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{18} = m_{19} + m_{20} \quad (67)$$

$$38,3321 \frac{kg}{h} = m_{19} + m_{20}$$

$$m_{19} = 38,3321 \frac{kg}{h} - m_{20} \quad (68)$$

Balance de Xilosa

$$38,3321 \frac{kg}{h} \cdot 0,6224 = m_{19} \cdot 0,01133 + m_{20} \cdot 0,7022 \quad (69)$$

$$23,8578 \frac{kg}{h} = \left(38,3321 \frac{kg}{h} - m_{20} \right) \cdot 0,01133 + m_{20} \cdot 0,7022$$

$$23,8578 \frac{kg}{h} = 0,43430 \frac{kg}{h} - 0,01133m_{20} + 0,7022m_{20}$$

$$23,8578 \frac{kg}{h} - 0,43430 \frac{kg}{h} = -0,01133m_{20} + 0,7022m_{20}$$

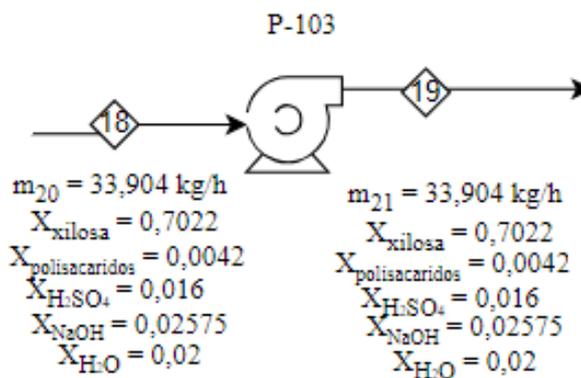
$$23,4235 \frac{kg}{h} = 0,69087 m_{20}$$

$$m_{20} = 33,9043 \frac{kg}{h}$$

12. Bomba Centrífuga 3

Figura 51.

Bomba centrífuga 3- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama una bomba centrífuga 3 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

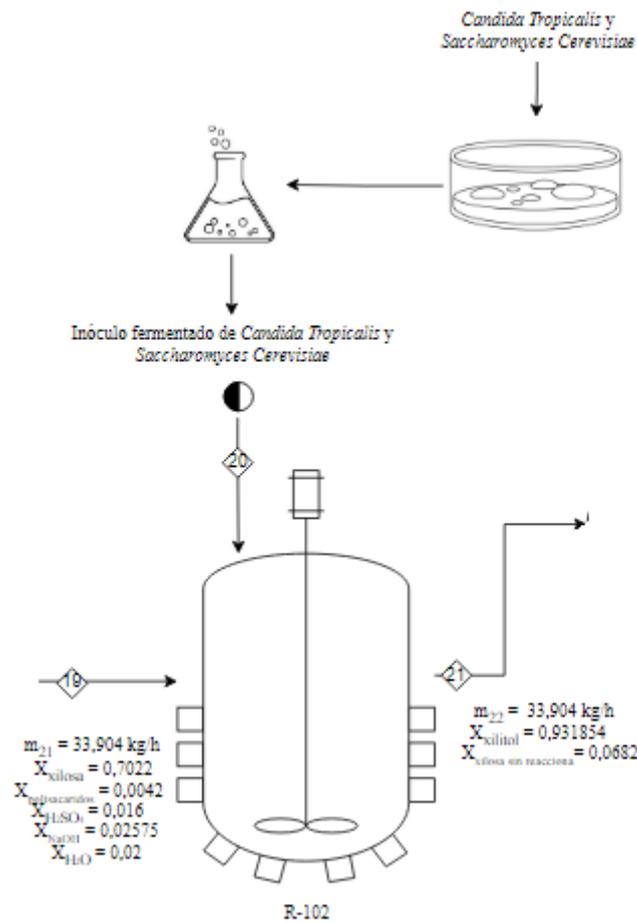
$$m_{20} = m_{21} \quad (70)$$

$$33,9043 \frac{kg}{h} = 33,9043 \frac{kg}{h}$$

13. Biorreactor

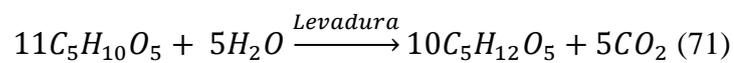
Figura 52.

Biorreactor- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del biorreactor junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Se parte de la reacción. de fermentación para la levadura con *Saccharomyces cerevisiae* que se muestra en la **ecuación 71**:



Balance General:

$$m_{21} = m_{22} \quad (72)$$

Balance para la obtención de xilitol:

Conversión del 80%

$$33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \cdot \left(\frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} \right) = 33904,3 \text{ gramos de } C_5H_{10}O_5 \text{ (73)}$$

$$33904,3 \text{ g de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{1 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5}{150,13 \text{ g}} \right) = 225,8329 \text{ moles de } C_5H_{10}O_5 \text{ (74)}$$

$$225,8329 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{10 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5}{11 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5} \right) = 205,3026 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 \text{ (75)}$$

Se produce un 0,80 de xilitol por estequiometria

$$205,302 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 \cdot 0,80 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 = 164,2421 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 \text{ (76)}$$

$$164,242 \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 \cdot \left(\frac{152,15 \text{ g de } C_5H_{10}O_5}{1 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5} \right) = 24989,44 \text{ g de } C_5H_{10}O_5 \text{ (77)}$$

$$24989,44 \text{ g de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}} \right) = 24,9894 \text{ kg de } C_5H_{10}O_5 \text{ (78)}$$

Xilosa reaccionada

$$164,2421 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \cdot \frac{10 \text{ mol xilosa}}{11 \text{ mol xilitol}} = 149,311 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \text{ (79)}$$

Xilosa no reaccionada

$$(225,8329 - 149,311) \text{ mol de } C_5H_{12}O_5 = 76,5219 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \text{ (80)}$$

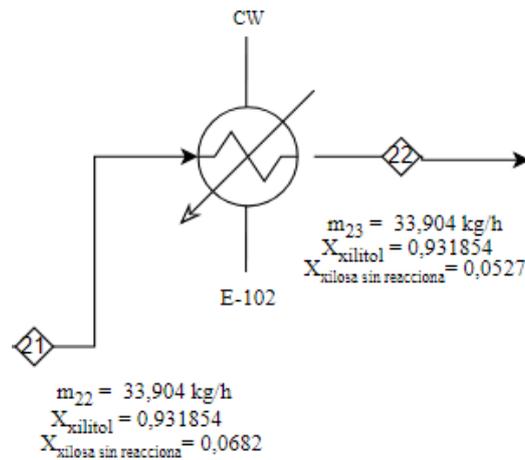
$$76,5219 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{152,15 \text{ g de } C_5H_{10}O_5}{1 \text{ mol de } C_5H_{10}O_5} \right) = 11642,807 \text{ g de } C_5H_{10}O_5 \text{ (81)}$$

$$11642,807 \text{ g de } C_5H_{10}O_5 \cdot \left(\frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}} \right) = 11,6428 \text{ kg de } C_5H_{10}O_5 \text{ (82)}$$

14. Intercambiador de Calor 2

Figura 53.

Intercambiador 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama un intercambiador de calor 2 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

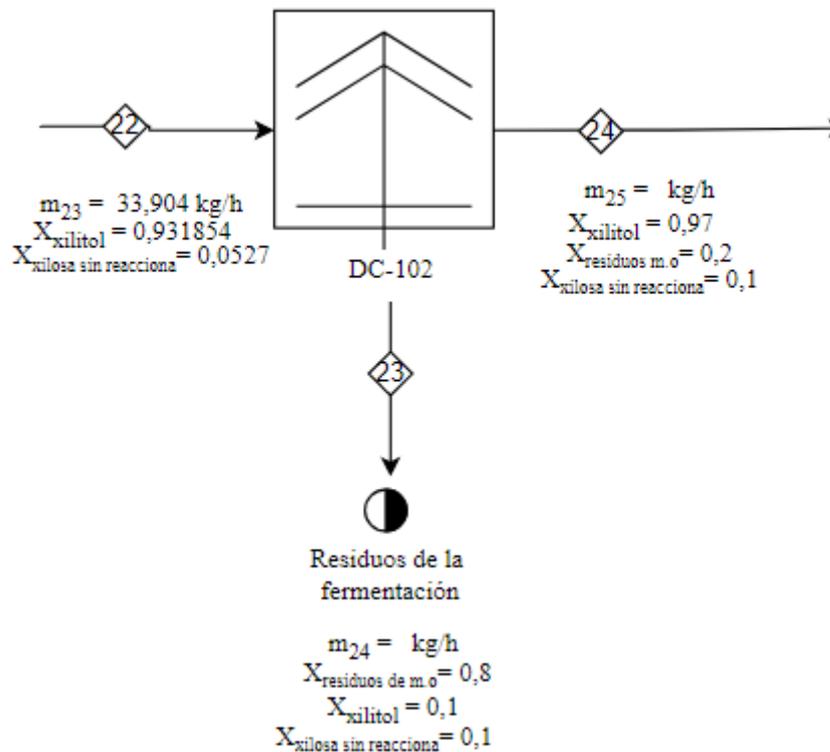
$$m_{21} = m_{22} \quad (83)$$

$$33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

15. Centrífuga de Discos 2

Figura 54.

Centrífuga de discos 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama una centrífuga de discos 2 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{23} = m_{24} + m_{25} \quad (84)$$

$$33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = m_{24} + m_{25}$$

$$m_{24} = 33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} - m_{25}$$

Balance para la xilitol:

$$33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \cdot 0,9318 = m_{24} \cdot 0,1 + m_{25} \cdot 0,97$$

$$31,5902 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = \left(33,9043 \frac{\text{kg}}{\text{h}} - m_{25} \right) \cdot 0,1 + m_{25} \cdot 0,97$$

$$31,5902 \frac{kg}{h} = 3,39043 \frac{kg}{h} - 0,1 m_{25} + 0,97 m_{25}$$

$$31,5902 \frac{kg}{h} - 3,39043 \frac{kg}{h} = -0,1 m_{17} + 0,97 m_{25}$$

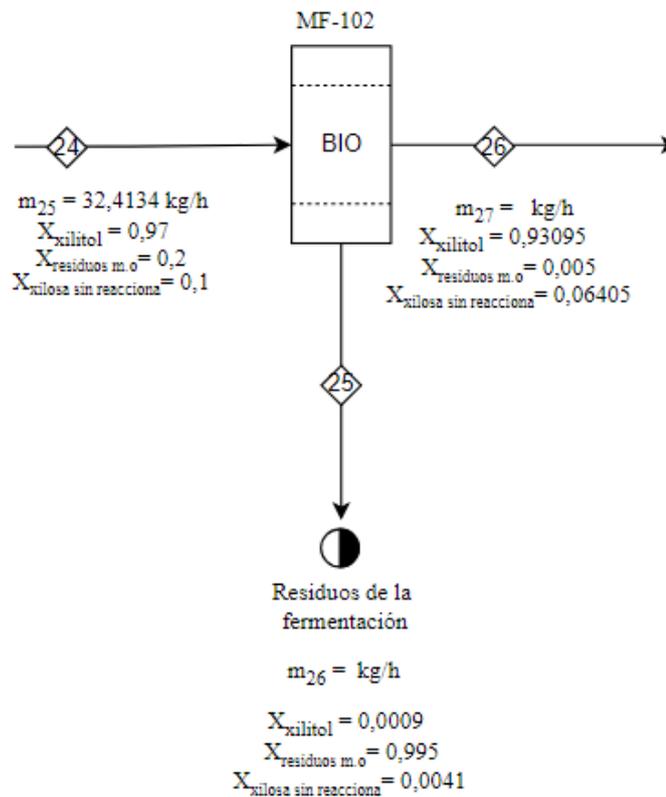
$$28,1997 \frac{kg}{h} = 0,87 m_{25}$$

$$m_{25} = 32,4134 \frac{kg}{h}$$

16. Filtro de Membrana 2

Figura 55.

Filtro de membrana 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del filtro de membrana 2 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{25} = m_{26} + m_{27} \quad (85)$$

$$32,4134 \frac{kg}{h} = m_{26} + m_{27}$$

$$m_{26} = 32,4134 \frac{kg}{h} - m_{27} \quad (86)$$

Balance de xilitol

$$32,4134 \frac{kg}{h} \cdot 0,97 = m_{26} \cdot 0,0009 + m_{27} \cdot 0,93095 \quad (87)$$

$$31,4409 \frac{kg}{h} = \left(32,4134 \frac{kg}{h} - m_{27} \right) \cdot 0,0009 + m_{27} \cdot 0,93095$$

$$31,4409 \frac{kg}{h} = 0,02917 \frac{kg}{h} - 0,0009m_{27} + 0,93095m_{27}$$

$$31,4409 \frac{kg}{h} - 0,02917 \frac{kg}{h} = -0,0009m_{27} + 0,93095m_{27}$$

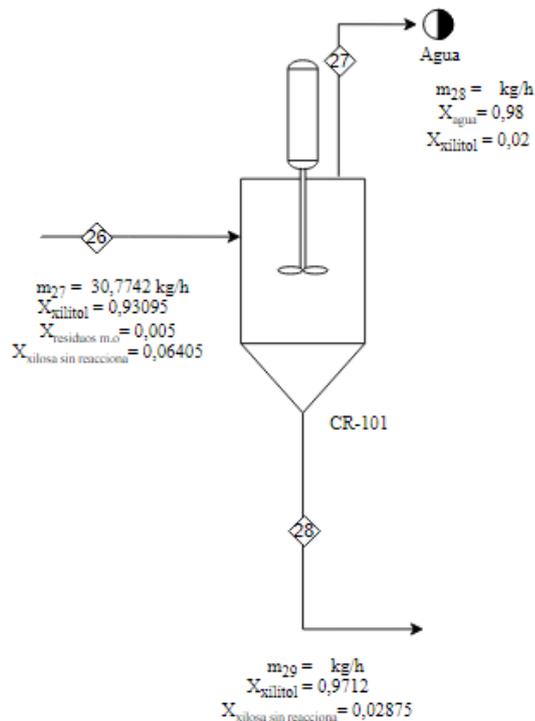
$$31,4117 \frac{kg}{h} = 0,93005m_{27}$$

$$m_{27} = 30,7742 \frac{kg}{h}$$

17. Cristalizador

Figura 56.

Cristalizador- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama para el cristalizador junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

Balance General:

$$m_{27} = m_{28} + m_{29} \quad (88)$$

$$30,7742 \frac{kg}{h} = m_{28} + m_{29}$$

$$m_{28} = 30,7742 \frac{kg}{h} - m_{29}$$

Balance de xilitol

$$30,7742 \frac{kg}{h} \cdot 0,9395 = m_{28} \cdot 0,02 + m_{29} \cdot 0,9712 \quad (89)$$

$$28,9123 \frac{kg}{h} = \left(30,7742 \frac{kg}{h} - m_{29} \right) \cdot 0,02 + m_{29} \cdot 0,9712$$

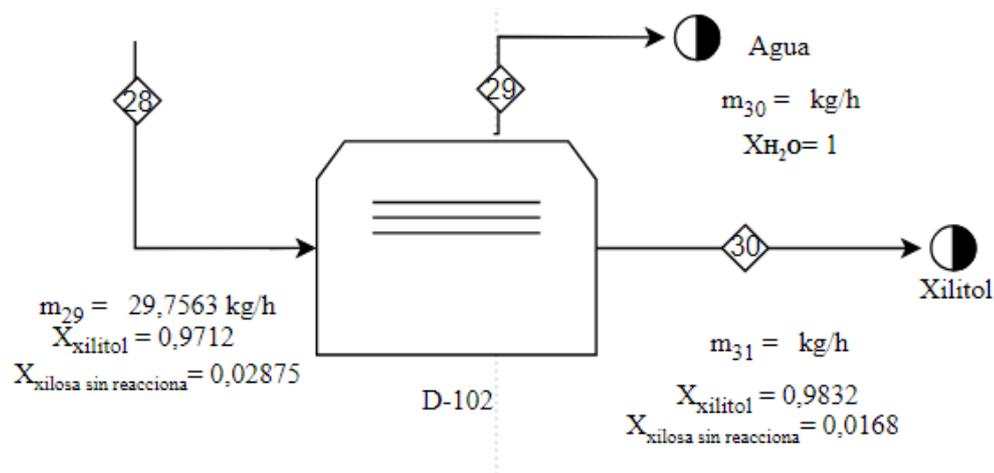
$$28,2968 \frac{kg}{h} = 0,95095 m_{29}$$

$$m_{29} = 29,7563 \frac{kg}{h}$$

18. Secador 2

Figura 57.

Secador 2- Diagrama PFD para la producción de xilitol.



Nota. En esta figura se observa el diagrama del secador 2 junto con sus corrientes de entrada y salida en el proceso.

$$m_{29} = m_{30} + m_{31} \quad (90)$$

$$m_{29} \cdot X_{29} = m_{30} \cdot X_{30} + m_{31} \cdot X_{31} \quad (91)$$

$$29,7563 \frac{kg}{h} = m_{30} + m_{31} \quad (92)$$

$$m_{30} = 29,7563 \frac{kg}{h} - m_{31} \quad (93)$$

$$29,7563 \frac{kg}{h} \cdot 0,9712 = m_{30} \cdot 1 + m_{31} \cdot 0,9832$$

$$28,8993 = \left(29,7563 \frac{kg}{h} - m_{31} \right) \cdot 1 + m_{31} \cdot 0,9832$$

$$m_{31} = 27,6271 \frac{kg}{h}$$

Finalmente, se obtiene un resumen de las corrientes del proceso para el balance de masa, en donde se observa la entrada y salida de cada una de las corrientes del proceso de escalamiento semiindustrial como se observa en la **Tabla 28**.

Tabla 28.

Resumen de balance de masa por corrientes del proceso

Compuesto \ corriente (molar)	m₁	m₂	m₃	m₄	m₅	m₆	m₇	m₈	m₉	m₁₀	m₁₁
<i>Semillas de tamarindo</i>	0,86 32	0,86 32	---	0,95	0,95	---	---	---	---	---	---
<i>Agua</i>	0,13 68	0,13 68	1	0,05	0,05	0,60 46	0,22 74	---	0,03	0,03	0,03
<i>Ácido Sulfúrico</i>	---	---	---	---	---	0,39 54	0,14 39	0,0 02	0,11 68	0,11 68	0,11 68
<i>Polisacárido s</i>	---	---	---	---	---	---	0,10 13	0,0 08	0,09 93	0,09 93	0,09 93
<i>Vapor de agua</i>	---	---	---	---	---	---	---	0,9 5	---	---	---

<i>Xilosa</i>	---	---	---	---	---	---	0,52 75	0,0 4	0,75 39	0,75 39	0,75 39
<i>Hidróxido de Sodio</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Biomasa</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilosa sin reaccionar</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Residuos de Microorganismos</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilitol</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Refrigerante R-134a</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
TOTAL MASA (kg/h)	70	70	6,3 96	63,6 04	63,6 04	36,3 71	63,6 04	30, 17	33,4 36	33,4 36	33,4 36

Nota. En esta tabla se observa el resumen final de cada una de las corrientes del proceso con su entrada y salida de materia prima junto el producto final

Continuación **Tabla 28.**

Compuesto \ corriente (molar)	m₁₂	m₁₃	m₁₄	m₁₅	m₁₆	m₁₇	m₁₈	m₁₉	m₂₀	m₂₁	m₂₂
--------------------------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

<i>Semillas de tamarindo</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Agua</i>	---	---	---	0,01 08	0,2	0,01 08	0,01 08	0,00 54	0,02	0,02	---
<i>Ácido Sulfúrico</i>	---	---	---	0,01 3	0,2	0,01 3	0,01 3	0,01 04	0,01 6	0,01 6	---
<i>Polisacáridos</i>	---	---	---	0,00 06	0,2	0,00 06	0,00 06	0,00 03	0,00 42	0,00 42	---
<i>Vapor de agua</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilosa</i>	---	---	---	0,60 24	0,2	0,62 24	0,62 24	0,01 13	0,70 22	0,70 22	---
<i>Hidróxido de Sodio</i>	---	---	1	0,37 31	0,2	0,34 53	0,34 53	0,10 05	0,25 76	0,25 76	---
<i>Biomasa</i>	---	---	---	---	---	---	---	0,87 20	---	---	---
<i>Xilosa sin reaccionar</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0,06 82
<i>Residuos de Microorganismos</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilitol</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0,93 19
<i>Refrigerante R-134a</i>	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
TOTAL MASA (kg/h)	802, 66	802, 66	5,85 13	39,2 88	0,95 56	38,3 32	38,3 32	4,42 78	33,9 04	33,9 04	33,9 04

Nota. En esta tabla se observa el resumen final de cada una de las corrientes del proceso con su entrada y salida de materia prima junto el producto final

Continuación **Tabla 28.**

Compuesto \ corriente (molar)	m23	m24	m25	m26	m27	m28	m29	m30	m31
<i>Semillas de tamarindo</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Agua</i>	---	---	---	---	---	0,98	---	1	---
<i>Ácido Sulfúrico</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Polisacáridos</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Vapor de agua</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilosa</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Hidróxido de Sodio</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Biomasa</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Xilosa sin reaccionar</i>	0,068 2	0,1	0,1	0,004 1	0,06 4	---	0,0288	---	0,0168
<i>Residuos de Microorganismos</i>	---	0,8	0,2	0,995	0,00 5	---	---	---	---
<i>Xilitol</i>	0,931 9	0,1	0,97	0,000 9	0,93 1	0,02	0,9712	---	0,9832
<i>Refrigerante R-134a</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---
TOTAL MASA (kg/h)	33,90 4	1,49 1	32,41 3	1,639 2	30,7 7	1,017 9	29,756 3	2,129 2	27,627 1

Nota. En esta tabla se observa el resumen final de cada una de las corrientes del proceso con su entrada y salida de materia prima junto el producto final

6. CONCLUSIONES

Como hemos visto a lo largo de este documento investigativo, se logró extraer exitosamente la D-xilosa proveniente de la semilla de tamarindo en el proceso de hidrólisis ácida con ácido sulfúrico, el cual es confirmado por medio de la interacción microbiológica que se tiene con las levaduras presentes en el proceso de fermentación para la transformación de xilitol, como un azúcar orgánico.

Es importante tener en cuenta que, durante este proceso de fermentación, no se logra hacer el comparativo con las dos levaduras de la familia *Candida sp.* propuestas en el anteproyecto, ya que por cuestiones de disponibilidad y económicas no fue posible adquirir ambas cepas. A razón de lo anterior, se hace un comparativo con otra especie de levadura presente en los laboratorios de la Universidad de América que toma por nombre *Saccharomyces cerevisiae* y con la levadura *Candida Tropicalis*. Durante este proceso se evidencia que ambas levaduras se adaptan de forma correcta en el sustrato propuesto, en donde su crecimiento se da de forma exitosa y se encuentra sustentado en los resultados obtenidos en el conteo celular al inicio del proceso fermentativo, a las 24 horas y a las 72 horas de culminado. Como se muestra en el capítulo 4 de los análisis de resultados, dando, así como resultado que, entre las dos levaduras propuestas, la *Saccharomyces cerevisiae* obtuvo un mayor crecimiento celular y adaptabilidad al sustrato con el paso del tiempo planteado más que el crecimiento celular de la levadura *Candida Tropicalis*, permitiendo así demostrar que, aunque la familia de levadura *Candida sp.* es la que lidera la producción de xilitol y en la que por lo general se llega a producir más, se puede considerar el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de xilitol, la cual es más accesible en el mercado y su costo no es tan elevado en comparación con el de la *Candida*.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por el método de HPLC, se estableció que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtuvo una mayor producción de xilitol a las 72 horas de 1,629 g/L para un tamaño de partícula de 0,381 mm, mientras que la levadura *Candida Tropicalis* obtuvo una producción de xilitol de 0,627 g/L para el mismo tamaño de partícula

Para finalizar, se realizó un diseño conceptual de un escalamiento semi-industrial del proceso, en donde se evidenció un balance de para todas las máquinas propuestas, en el cual se planteó usar un flujo de materia prima de 70 kg/h, el cual al momento de realizar el balance se evidenció

que su masa fue disminuyendo hasta obtener al final de xilitol el 27,6271 kg/h al día, el cual al momento de realizar el cálculo de forma anual y mensual, estaría dando una producción de 663,0504 kg/día y un estimado de producción anual de 238698,144 kg/año.

REFERENCIAS

- [1] Isleny Andrea Vanegas Córdoba, María del Socorro Yepes Pérez and Orlando Simón Ruiz Villadiego, (Jul 1,2004). "Producción de xilitol a partir de levaduras nativas colombianas." Revista Colombiana De Biotecnología. Available: <https://search.proquest.com/docview/1677632576>.
- [2] González,J. C. H. et al, (2011). "Producción y aplicaciones biotecnológicas del xilitol" Virtualpro. Available: <https://www-virtualpro.co.ezproxy.uamerica.edu.co/descarga/produccion-y-aplicaciones-biotecnologicas-del-xilitol>
- [3] Traxco, "Cultivo del tamarindo," El Blog De Traxco, Jun. 2023, [Online]. Available: <https://www.traxco.es/blog/produccion-agricola/cultivo-del-tamarindo>
- [4] Oficina De Las Naciones Unidas Contra La Droga Y El Delito - Unodc, "Informe 23, Programa Nacional Integral De Sustitución De Cultivos Ilícitos – Pnis". Available: https://www.unodc.org/documents/colombia/2021/febrero/informe_ejecutivo_pnis_no_23.pdf
- [5] Cunha,J. T. et al, (/122019). "Xylose fermentation efficiency of industrial *Saccharomyces cerevisiae* yeast with separate or combined xylose reductase/xylitol dehydrogenase and xylose isomerase pathways." *Biotechnol Biofuels*. Available: <https://link-springer-com.ezproxy.uamerica.edu.co/article/10.1186/s13068-019-1360-8>. DOI:10.1186/s13068-019-1360-8.
- [6] Gobierno de México. "El tamarindo en México". www.gob.mx. Disponible: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-tamarindo-en-mexico-186350#:~:text=El%20tamarindo%20es%20una%20leguminosa,se%20usa%20con%20fines%20gastron%C3%B3micos>.
- [7] J. A. Mula. "Cultivo del tamarindo - Agromática". *Agromática*. [En línea]. Disponible: <https://www.agromaticas.es/cultivo-del-tamarindo/>

- [8] M. A. Salgado Lozano, “Evaluación De Las Semillas De Tamarindo (*Tamarindus Indica*) En La Remoción De Turbidez De Aguas Superficiales”, Resumen Extendido De Trabajo De Grado, Univ. Sucre, Sincelejo, 2018. [En Línea]. Disponible:<https://Repositorio.Unisucre.Edu.Co/Bitstream/Handle/001/642/T581.64;Jsessionid=11d75ce0da09a9f6e8df074407a7e111?Sequence=1>
- [9] M. A. L. C. Ávila Rodríguez , Olaya, “Evaluación de la producción de xilitol a partir de la xilosa presente en el hidrolizado de cáscara de naranja empleando *Candida rugosa*.”, Ingeniero en Industrias Alimentarias, Univ. Salle, Bogotá - Colombia, 2014.
- [10] R. Martínez-Corona, C. C. Penagos, M. d. Carmen Chávez-Parga, M. Alvarez-Navarrete y J. C. González-Hernández, “Analysis of the Effect of Agitation and Aeration on Xylitol Production by Fermentation in Bioreactor with *Kluyveromyces marxianus* Using Hydrolyzed Tamarind Seed as Substrate”, *Int. J. Current Microbiol.*
- [11] M. G. A. Felipe, M. Vitolo, I. M. Mancilha y S. S. Silva, “Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH”, *Biomass Bioenergy*, vol. 13, n.º 1-2, pp. 11–14, enero de 1997.
- [12] Cheng et al.: Aerobic and sequential anaerobic fermentation to produce xylitol and ethanol using non-detoxified acid pretreated corncob. *Biotechnology for Biofuels* 2014 7:166.
- [13] Traxco, “Cultivo del tamarindo,” *El Blog De Traxco*, Jun. 2023, [Online]. Available: <https://www.traxco.es/blog/produccion-agricola/cultivo-del-tamarindo>
- [14] Oficina De Las Naciones Unidas Contra La Droga Y El Delito - Unodc, "Informe 23, Programa Nacional Integral De Sustitución De Cultivos Ilícitos – Pnis". Available:https://Www.Unodc.Org/Documents/Colombia/2021/Febrero/Informe_Ejecutivo_Pnis_No._23.Pdf
- [15] J. L. Castillo, P. Milgrom, S. E. Coldwell, R. Castillo y R. Lazo, “Children's acceptance of milk with xylitol or sorbitol for dental caries prevention”, *BMC Oral Health*, vol. 5, n.º 1, julio de 2005.

- [16] R. Sukeaw Samakradhamrongthai y T. Jannu, "Effect of stevia, xylitol, and corn syrup in the development of velvet tamarind (*Dialium indum* L.) chewy candy", *Food Chem.*, vol. 352, p. 129353, agosto de 2021.
- [17] K. A. Ly, C. A. Riedy, P. Milgrom, M. Rothen, M. C. Roberts y L. Zhou, "Xylitol gummy bear snacks: a school-based randomized clinical trial", *BMC Oral Health*, vol. 8, n.º 1, julio de 2008.
- [18] Gränstrom, T.B.; Izumori, K.; Leisola, M. A rare sugar xylitol. Part II: Biotechnological production and future applications of xylitol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007, 74, 273–276. [CrossRef] [PubMed]
- [19] H. H. Rivera Rojas, "Producción De Xilitol A Partir De Cáscara De Camu Camu (*Myrciaria Dubia* Hbk Me Vough) Por Fermentación Sumergida", *Ingeniero En Industrias Alimentarias, Univ. Agrar. Selva Tingo Maria, Tingo Maria - Perú*, 2002
- [20] N. Hidayah, R. Adiandri y E. Rahayu, "Microbial xylitol production from corn cob using *Candida guilliermondii*", *IOP Conf. Ser.: Earth Environmental Sci.*, vol. 1024, n.º 1, p. 012077, mayo de 2022.
- [21] A. M. Mohite, A. Mishra, and N. Sharma, "Effect of Different Grinding Processes on Powder Characteristics of Tamarind Seeds," *Agricultural Research*, vol. 9, no. 2, 2020, doi: 10.1007/s40003-019-00431-9.
- [22] Icontec. "Cereales, Legumbres Y Subproductos. Determinación Del Rendimiento De Cenizas Por Incineración." Icontec.
- [23] Icontec. "Cereales Y Productos Cereales. Determinación Del Contenido De Humedad." Icontec. [En Línea]. Disponible: <https://Tienda.Icontec.Org/Gp-Cereales-Y-Productos-Cereales-Determinacion-Del-Contenido-De-Humedad-Ntc6375-2019.Html>
- [24] Ntc - 77, "Ntc 77 Método Para El Análisis Por Tamizado De Los Agregados Finos Y Gruesos," *Icontec*, 1994.

- [25] Icontec. “Productos Químicos Para Uso Industrial. Ácido Sulfúrico. Métodos De Ensayo.” Icontec. [En Línea]. Disponible: [Https://Tienda.Icontec.Org/Gp-Productos-Quimicos-Para-Uso-Industrial-Acido-Sulfurico-Metodos-De-Ensayo-Ntc1084-1998.Html](https://Tienda.Icontec.Org/Gp-Productos-Quimicos-Para-Uso-Industrial-Acido-Sulfurico-Metodos-De-Ensayo-Ntc1084-1998.Html)
- [26] Icontec. “Ntc-1019 - Productos Químicos Para Uso Industrial. Soda Cáustica Y Potasa Caustica. Métodos De Análisis”.
- [27] Icontec. “Ntc 1807 Levadura Para Panificacion | Pdf | Ácido Sulfúrico | Ciencias Físicas”. [En Línea]. Disponible: [Https://Es.Scribd.Com/Doc/53743173/Ntc-1807-Levadura-Para-Panificacion](https://Es.Scribd.Com/Doc/53743173/Ntc-1807-Levadura-Para-Panificacion)
- [28] Incontec - Norma Técnica Colombiana. “Ntc4093 Metodos De Ensayo Microbiologico | Pdf | Laboratorios | Química”. [En Línea]. Disponible: [Https://Es.Scribd.Com/Document/454380965/Ntc4093-Metodos-De-Ensayo-Microbiologico](https://Es.Scribd.Com/Document/454380965/Ntc4093-Metodos-De-Ensayo-Microbiologico)
- [29] “Ley 34 De 1948”. Minjusticia. [En Línea]. Disponible: [Https://Www.Suin-Juricol.Gov.Co/Viewdocument.Asp?Ruta=Leyes/1590419](https://Www.Suin-Juricol.Gov.Co/Viewdocument.Asp?Ruta=Leyes/1590419)
- [30] Ministerio De Ambiente Y. Desarrollo Sostenible, “Resolución 0939”, Minist. Ambient. Desarrollo. Sosten., Vol. 1, N.º 1, P. 17, Mayo De 2018. [En Línea]. Disponible: [Https://Archivo.Minambiente.Gov.Co/Images/Normativa/App/Resoluciones/14-Resolución_Acepta_0939_290518.Pdf](https://Archivo.Minambiente.Gov.Co/Images/Normativa/App/Resoluciones/14-Resolución_Acepta_0939_290518.Pdf)
- [31] N. Técnica Colombiana Ntc 440, “Productos Alimenticios. Métodos De Ensayo,” *Norma Técnica Colombiana*, 1971, Accessed: May 21, 2024. [Online]. Available: [Https://Tienda.Icontec.Org/Gp-Productos-Alimenticios-Metodos-De-Ensayo-Ntc440-2015.Html](https://Tienda.Icontec.Org/Gp-Productos-Alimenticios-Metodos-De-Ensayo-Ntc440-2015.Html)
- [32] M. Ruiz, “Estimación De La Desviación Estándar,” *Estadística Española*, Vol. 59, 2017.
- [33] L. Gerardo, “Qué Es La Desviación Estándar Y Como Interpretarla,” *IO*, Vol. 2, 2012.

- [34] P. Cervantes-Hernández, “Media, Varianza Y Desviación Estándar,” *Ciencia Y Mar*, Vol. 34, 2008.
- [35] M. L. M. Saavedra Montenegro. “Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial De Las Semillas De Tamarindo (*Tamarindus Indica*), Lambayeque – 2014”. Repositorio Universidad Señor De Sipán. [En Línea]. Disponible: <https://Repositorio.Uss.Edu.Pe/Bitstream/Handle/20.500.12802/845/Saavedra%20montenegro%20mario%20luis%20martín.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>
- [36] M. O. Ramírez-Sucre, Pérez-Ramírez, Landa-Habana, Zárate-Juárez Dania Adalid, Lorena, Mónica, “Efecto De Las Condiciones De Almacenamiento Sobre Las Propiedades Fisicoquímicas De Semillas De Tamarindo (*T. Indica*) Recién Cosechado Y Almacenado Por Un Año,” `Centro De Investigación Y Asistencia En Tecnología Y Diseño Del Estado De Jalisco Ac. Blvd. De Las Naciones Unidas, Aug. 2016, [Online]. Available: <https://Revistafesgro.Cocytieg.Gob.Mx/Index.Php/Revista/Article/Download/773/577>
- [37] “¿Qué Tipo De Abono Necesita Mi Tamarindo? - Picturethis,” *Picturethis*. https://Www.Picturethisai.Com/Es/Question/Tamarindus_Indicafertilizer3.Html#:~:Text=Cuando%20se%20cultiva%20tamarindo%20para,Frutos%20deliciosos%20y%20bien%20formados
- [38] Adriel E. Garay, Roberto Aguirre, Guillermo Giraldo, “La Dinámica De La Humedad De La Semilla Y Sus Implicaciones En La Producción De Semillas,” *Ciat Colombia*, Jun. 1993. [Online]. Available: http://Ciat-Library.Ciat.Cgiar.Org/Articulos_Ciat/Digital/Ciat_Colombia_000113_La_Din%C3%A1mica_De_La_Humedad_De_La_Semilla_Y_Sus_Implicaciones_En_La_Producci%C3%B3n.Pdf
- [39] O. D. Montañez-Valdez, C. E. Guerra-Medina, M. Chávez-Espinoza, J. A. Reyes-Gutiérrez, R. Vicente-Pérez, And A. Ley De Coss, “Composición Química Y Degradabilidad In Situ Del Tamarindo (*Tamarindus Indica* L.),” *Revista Fitotecnica Mexicana*, Vol. 46, No. 4a, 2023, Doi: 10.35196/Rfm.2023.4a.529.
- [40] “*Tamarindus Indica* . L,” *Secretaria De Agricultura Y Desarrollo Rural De México*, 2020. <https://Www.Gob.Mx/Cms/Uploads/Attachment/File/726331/Tamarindo.Pdf>

- [41] Laboratorio De: Materiales De Construccio, “Análisis De Tamaño De Partículas Por Tamizado En Agregado Fino Y Grueso Y Determinación De Material Más Fino Que El Tamiz No. 200 (75 Mm.) En Agregado Mineral Por Lavado,” *Universidad Centroamericana “Jose Simeon Cañas”, Uca*, 2015, [Online]. Available: <https://www.uca.edu.sv/mecanica-estructural/materias/materialesconstruccion/guiaslab/ensayoagregados/granulometria.pdf>
- [42] Geotecnia Mx, “Tabla De Granulometría,” *Youtube*. Jul. 22, 2018. [Online]. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=Ujuxnd4khno>
- [43] Geotecnia Mx, “Curva Granulométrica Y Coeficientes,” *Youtube*. Jun. 18, 2018. [Online]. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=4wnupgemrbg>
- [44] M. V. Cadavid, T. V. Uribe, M. A. Zabala, And G. A. Paternina, “Producción De Xilitol A Partir De Cascarilla De Arroz Utilizando *Candida Guilliermondii*,” *Revista Facultad Nacional De Agronomía - Medellín*, Vol. 62, No. 1, 2009.
- [45] E. Ledezma-Orozco, R. Ruíz-Salazar, G. Bustos-Vázquez, N. Montes-García, V. Roa-Cordero, And G. Rodríguez-Castillejos, “Producción De Xilitol A Partir De Hidrolizados Ácidos No Detoxificados De Bagazo De Sorgo Por *Debaryomyces Hansenii*,” 2017.
- [46] A. M. Vele Salto, M. F. Abril González, T. S. Zalamea Piedra, And V. P. Pinos Vélez, “Mini-Revisión: Aplicación De Líquidos Iónicos En Hidrólisis Ácida De Material Lignocelulósico Para La Obtención De Azúcares,” *Ciencia En Desarrollo*, Vol. 12, No. 1, 2021, Doi: 10.19053/01217488.V12.N1.2021.12477.
- [47] C. Chandler *Et Al.*, “Hidrólisis Ácida Diluida En Dos Etapas De Bagazo De Caña De Azúcar Para La Producción De Azúcares Fermentables,” *Multiciencias*, Vol. 12, 2012.
- [48] A. M. Vele Salto, M. F. Abril González, T. S. Zalamea Piedra, And V. P. Pinos Vélez, “Mini-Revisión: Aplicación De Líquidos Iónicos En Hidrólisis Ácida De Material Lignocelulósico Para La Obtención De Azúcares,” *Ciencia En Desarrollo*, Vol. 12, No. 1, 2021, Doi: 10.19053/01217488.V12.N1.2021.12477.

- [49] L. F. Mejía Giraldo, H. A. Martínez Correa, J. E. Betancourt Gutiérrez, And C. E. Castrillón Castaño, “Aprovechamiento Del Residuo Agroindustrial Del Mango Común (Mangifera Indica L.) En La Obtención De Azúcares Fermentables,” *Ingeniería Y Ciencia - Ing.Cienc.*, Vol. 3, No. 6, 2007.
- [50] D. L. Zuzá-Alves, W. P. Silva-Rocha, And G. M. Chaves, “An Update On Candida Tropicalis Based On Basic And Clinical Approaches,” *Frontiers In Microbiology*, Vol. 8, No. Oct. 2017. Doi: 10.3389/Fmicb.2017.01927.
- [51] Wahyuni, A. Susilowati, And R. Setyaningsih, “Optimasi Produksi Xilitol Dengan Variasi Konsentrasi Hidrolisat Hemiselulosa Bagase Oleh Candida Tropicalis,” *Biofarmasi*, Vol. 2, No. 1, 2004.
- [52] M. Parapouli, A. Vasileiadis, A. S. Afendra, And E. Hatziloukas, “Saccharomyces Cerevisiae And Its Industrial Applications,” *Aims Microbiology*, Vol. 6, No. 1. 2020. Doi: 10.3934/Microbiol.2020001.
- [53] G. M. Walker And G. G. Stewart, “Saccharomyces Cerevisiae In The Production Of Fermented Beverages,” *Beverages*, Vol. 2, No. 4. 2016. Doi: 10.3390/Beverages2040030.
- [54] T. Perli, A. K. Wronska, R. A. Ortiz-Merino, J. T. Pronk, And J. M. Daran, “Vitamin Requirements And Biosynthesis In Saccharomyces Cerevisiae,” *Yeast*, Vol. 37, No. 4, 2020, Doi: 10.1002/Yea.3461.
- [55] E. J. Oh And Y. S. Jin, “Engineering Of Saccharomyces Cerevisiae For Efficient Fermentation Of Cellulose,” *Fems Yeast Research*, Vol. 20, No. 1. 2020. Doi: 10.1093/Femsyr/Foz089.
- [56] D. N. Moysés, V. C. B. Reis, J. R. M. De Almeida, L. M. P. De Moraes, And F. A. G. Torres, “Xylose Fermentation By Saccharomyces Cerevisiae: Challenges And Prospects,” *International Journal Of Molecular Sciences*, Vol. 17, No. 3. 2016. Doi: 10.3390/Ijms17030207.

- [57] W. L. Marques, V. Raghavendran, B. U. Stambuk, And A. K. Gombert, “Sucrose And *Saccharomyces Cerevisiae*: A Relationship Most Sweet,” *Fems Yeast Research*, Vol. 16, No. 1. 2015. Doi: 10.1093/Femsyr/Fov107.
- [58] L. G. Salazar, “Aislamiento Y Caracterizacion De Microorganismos Durante El Proceso De Fermentación De *Theobroma Cacao* L. De La Variedad ‘Chuncho’ Obtenida En Cuzco, Perú.,” *International Microbiology*, Vol. 13, No. 3, 2017.
- [59] O. Bastidas, “Conteo Celular Con Hematocitómetro,” Technical Note-Neubauer Chamber Cell Counting, 2011.
- [60] J. A. Ramírez S, J. A. Parra V., And A. Alvarez Aldana, “Aplicacion En La Cámara De Neubauer En Microorganismos.,” *Mente Joven*, Vol. 6, 2017.
- [61] M. C. Sánchez C., V. Vergara U., L. D. Polo N., And A. Álvarez A, “Primer Acercamiento Del Estudiante De Microbiología A Las Técnicas De Recuento En Superficie, Profundidad Y Cámara De Neubauer.,” *Mente Joven*, Vol. 6, 2017, Doi: 10.18041/2323-0312/Mente_Joven.0.2017.3672.
- [62] M. A. L. C. Ávila Rodríguez , Olaya, “Evaluación De La Producción De Xilitol A Partir De La Xilosa Presente En El Hidrolizado De Cáscara De Naranja Empleando *Candida Rugosa*.”, *Ingeniero En Industrias Alimentarias*, Univ. Salle, Bogotá - Colombia, 2014.
- [63] R. Martínez-Corona, C. C. Penagos, M. D. Carmen Chávez-Parga, M. Alvarez-Navarrete Y J. C. González-Hernández, “Analysis Of The Effect Of Agitation And Aeration On Xylitol Production By Fermentation In Bioreactor With *Kluyveromyces Marxianus* Using Hydrolized Tamarind Seed As Substrate”, *Int. J. Current Microbiol.*
- [64] M. G. A. Felipe, M. Vitolo, I. M. Mancilha Y S. S. Silva, “Fermentation Of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate For Xylitol Production: Effect Of Ph”, *Biomass Bioenergy*, Vol. 13, N.º 1-2, Pp. 11–14, Enero De 1997.
- [65] Cheng Et Al.: Aerobic And Sequential Anaerobic Fermentation To Produce Xylitol And Ethanol Using Non-Detoxified Acid Pretreated Corncob. *Biotechnology For Biofuels* 2014 7:166.

- [66] Prabhu, A. A. Et Al, (/122020). "Biovalorisation Of Crude Glycerol And Xylose Into Xylitol By Oleaginous Yeast *Yarrowia Lipolytica*." *Microb Cell Fact.* Available: [https://link-springer-com.ezproxy.uamerica.edu.co/article/10.1186/s12934-020-01378-1](https://link.springer.com/ezproxy.uamerica.edu.co/article/10.1186/s12934-020-01378-1). Doi:10.1186/s12934-020-01378-1.
- [67] Kogje, A. And A. Ghosalkar, (Dec2016). "Xylitol Production By *Saccharomyces Cerevisiae* Overexpressing Different Xylose Reductases Using Non-Detoxified Hemicellulosic Hydrolysate Of Corncob." *3 Biotech.* Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28330197>. Doi: 10.1007/s13205-016-0444-4.
- [68] Acosta, E.; Almeida, J.B.; Giulietti, M.; Frade, J.A.; Nápoles, A.L. 2005. Producción De Xilitol En Fermentador De 15 Litros. *Icidca.* 29(3):45-51.
- [69] Arruda, P.V.; Rodrigues, R.C.L.B.; Silva, D.D.V.; Felipe, M.G.A. 2011. Evaluation Of Hexose And Pentose In Pre-Cultivation Of *Candida Guilliermondii* On The Key Enzymes For Xylitol Production In Sugarcane Hemicellulosic Hydrolysate. *Biodegradation.* 22:815- 22.
- [70] K. Manjarres-Pinzon, N. C. Otero-Guzmán, E. Rodríguez-Sandoval, G. Correa-Londoño Y M. Arias-Zabala, "Producción De Xilitol A Partir De Hidrolizados De Raquis De Palma Por *Candida Tropicalis*: Optimización De Las Condiciones De Fermentación", *Rev. U.D.C.A Actual. & Divulg. Cient.*, Vol. 24, N.º 2, Noviembre De 2021.
- [71] H. H. Rivera Rojas, "'Producción De Xilitol A Partir De Cáscara De Camu Camu (*Myrciaria Dubia* Hbk Me Vough) Por Fermentación Sumergida'", *Ingeniero En Industrias Alimentarias, Univ. Agrar. Selva Tingo Maria, Tingo Maria - Perú*, 2002.
- [72] E. Ledezma-Orozco, R. Ruíz-Salazar, G. Bustos-Vázquez, N. Montes-García, V. Roa-Cordero Y G. Rodríguez-Castillejos. "Producción De Xilitol A Partir De Hidrolizados Ácidos No Detoxificados De Bagazo De Sorgo Por *Debaryomyces Hansenii*". *Scielo - Scientific Electronic Library Online.* Disponible: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-

31952018000801095#:~:Text=La%20vía%20química%20para%20obtener,Presión%20superior%20a%2050%20atm.

- [73] Cerioni J. L., Nichio Nora N. Y Santori Gerardo Fabián. “Producción De Xilitol A Partir De La Hidrogenación De Xilosa En Fase Acuosa Con Catalizadores De Níquel”. Sedici - Repositorio De La Universidad Nacional De La Plata. <Http://Sedici.Unlp.Edu.Ar/Handle/10915/75718>
- [74] “Xilitol”. Quimica.Es – El Portal Informativo Químico, Desde El Laboratorio Hasta Los Procesos. <Https://Www.Quimica.Es/Enciclopedia/Xilitol.Html>
- [75] Handbook Of Pharmaceutical Excipients, 6 Th Ed., 2009.
- [76] Castillo, J.L., Milgrom, P., Coldwell, S.E. Et Al. Children's Acceptance Of Milk With Xylitol Or Sorbitol For Dental Caries Prevention. *Bmc Oral Health* 5, 6 (2005). <Https://Doi.Org/10.1186/1472-6831-5-6>
- [77] “Xylitol”. Jebesen & Jessen Life Science - Handel. <Https://Jj-Lifescience.De/Es/Productos/Xylitol>
- [78] S. Azad, En Guía De Referencia De Frutas Exóticas (Elsevier, 2018), Págs. 403–412. <Https://Doi.Org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00055-1>
- [79] Kanan Kab Ac. “El Tamarindo”. Kanan Kab. (2016, Octubre 03)
- [80] O. D. Montañez-Valdez, C. E. Guerra-Medina, M. Chávez-Espinoza, J. A. Reyes-Gutiérrez, R. Vicente-Pérez Y A. Ley De Coss. “Chemical Composition And In Situ Degradability Of Tamarind (*Tamarindus Indica L.*)”. *Rev. Fitotec. Mex.* <Https://Doi.Org/10.35196/Rfm.2023.4a.529>
- [81] V. Narisetty Et Al., “High Level Xylitol Production By *Pichia* Fermentans Using Non Detoxified Xylose-Rich Sugarcane Bagasse And Olive Pits Hydrolysates,” *Bioresource Technology*, Vol. 342, 2021, Doi: 10.1016/J.Biortech.2021.126005.

- [82] M. M. Lane And J. P. Morrissey, “Kluyveromyces Marxianus: A Yeast Emerging From Its Sister’s Shadow,” *Fungal Biology Reviews*, Vol. 24, No. 1–2. 2010. Doi: 10.1016/J.Fbr.2010.01.001.
- [83] Analiquim Y Dr. Francisco Erik González Jiménez. Como Leer Un Cromatograma. (3 De Julio De 2020). <https://www.youtube.com/watch?v=6q0li5qocvq>
- [84] Alison J Darragh, Paul J Moughan, The Effect Of Hydrolysis Time On Amino Acid Analysis, *Journal Of Aoac International*, Volume 88, Issue 3, 1 May 2005, Pages 888–893, <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.888>
- [85] P. A. Álvarez García Y J. S. Astaiza Muñoz. “Análisis Del Significado Que Tiene El Tamarindo Para Productores Y Consumidores A Través De Su Cultivo En El Municipio De Santa Fe De Antioquia”. Repositorio Institucional De La Universidad Pontificia Bolivariana. (2013)
- [86] M. E. Páez-Peñuñuri, G. Mercado-Mercado, F. J. Blancas-Benitez, R. B. Villegas-González, And S. G. Sáyago-Ayerdi, “Compuestos Bioactivos Y Propiedades Saludables Del Tamarindo (*Tamarindus Indica L*)/ Bioactive Compounds And Health Properties Of Tamarind (*Tamarindus Indica L*),” *Biocencia*, Vol. 18, No. 1, 2016, Doi: 10.18633/Bt.V18i1.241.
- [87] Jardín Botánico De Cartagena, Pacifico Consulting S.A.S Y Agroindustria Dorada S.A.S. “Cultivo Agroforestal Sostenible De Frutos Promisorios Nativos Y Rehabilitación Ecológica Del Bosque Seco Tropical Del Caribe Colombiano”. Frutos Nativos Del Caribe. <https://www.apccolombia.gov.co/sites/default/files/proyectos/80.pdf>
- [88] V. M. Alvarez, S. Muriel, And N. Osorio, “Plantas Asociadas Al Turismo Y Los Sistemas Tradicionales De Manejo En El Occidente Cercano Antioqueño (Colombia),” *Ambiente Y Desarrollo*, Vol. 19, No. 37, 2015, Doi: 10.11144/Javeriana.Ayd19-37.Pats.
- [89] M. E. Gomez, C. H. Molina, E. J. Molina, And E. Murgueitio, “Producción De Biomasa En Seis Ecotipos De Matarratón (*Gliricidia Sepium*),” *Livestock Research For Rural Development*, Vol. 2, No. 3, 1990.

- [90] D. V. L. Asaad. “¿Qué Beneficios Tiene El Tamarindo Para La Salud?” El Tiempo. <https://www.eltiempo.com/vida/tendencias/que-beneficios-tiene-el-tamarindo-para-la-salud-741470>
- [91] J. C. Bravo Aranibar Y N. Bravo Aranibar, «Preparaciones Culinarias A Base De Tamarindo (Tamarindus Indica L.) De Mayor Aceptabilidad En Los Restaurantes De Miraflores», *Revista UCB*, Vol. 3, N.º 2, Pp. 5-18, Dic. 2016.
- [92] “Tamarindus Indica”. Comisión Nacional Para El Conocimiento Y Uso De La Biodiversidad | Gobierno | Gob.Mx. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/22-Legum52.pdf
- [93] M. P. Pinero Corredor. “Semillas De Tamarindo: Un Snack Saludable Para Tu Dieta”. *Mejor Con Salud*. <https://mejorconsalud.as.com/semillas-tamarindo/>
- [94] R. Martínez Corona. "Caracterización Fermentativa De La Producción De Xilitol Por Candida Magnolie Utilizando Hidrolizados De Semilla De Tamarindo Como Sustrato". Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/dgb_umich/2003/fqfb-m-2013-0302.pdf?sequence=1&isallowed=Y
- [95] A. Lara-Núñez And D. Manuel, “Movilización De Mananos De Reserva En Semillas Durante La Germinación Y Post-Germinación,” *Revista De Educación Bioquímica*, Vol. 30, No. 3, 2011.
- [96] J. R. Hernández Murillo, C. . Iguaran Díaz, H. . Aramendiz Tatis, M. . Espitia Camacho, And C. . Cardona Ayala, “Variaciones Morfométricas De Semillas Y Alternativas Físico-Químicas En La Germinación De Tamarindo (Tamarindus Indica L.)”, *Temas Agrarios*, Vol. 26, No. 2, Pp. 160–169, Dec. 2021, Doi: 10.21897/Rta.V26i2.2779.
- [97] “Semilla De Tamarindo”. New Garden | 90 Años | Promoviendo Una Vida Saludable. [En Línea]. Disponible: <https://newgarden.com.ar/semilla-de-tamarindo-x-1->

Kg.Html#:~:Text=Ayuda%20a%20mejorar%20el%20estreñimiento,De%20harina%20para%20diferentes%20preparaciones.

- [98] “Evaluación De Semillas De Tamarindo Como Coagulante Para Disminuir La Carga Contaminante En El Tratamiento De Aguas, En Relación A Un Coagulante Comercial,” *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, Vol. 6, No. 2, 2022, Doi: 10.37811/Cl_Rcm.V6i2.1908.
- [99] H. Vardhan, S. Sasamal, And K. Mohanty, “Xylitol Production By *Candida Tropicalis* From Areca Nut Husk Enzymatic Hydrolysate And Crystallization,” *Applied Biochemistry And Biotechnology*, Vol. 195, No. 12, 2023, Doi: 10.1007/S12010-023-04469-Y.
- [100] G. C. Bevilaqua, F. Maugeri Filho, And M. B. S. Forte, “Simultaneous Production Of Xylitol And Arabitol By *Candida Tropicalis* Fermentation Improving Agro-Industrial Wastes Valorization,” *Food And Bioproducts Processing*, Vol. 140, 2023, Doi: 10.1016/J.Fbp.2023.04.006.
- [101] E. Mardawati, A. T. Hartono, B. Nurhadi, H. N. Fitriana, E. Hermiati, And R. A. Ermawar, “Xylitol Production From Pineapple Cores (*Ananas Comosus* (L.) Merr) By Enzymatic And Acid Hydrolysis Using Microorganisms *Debaryomyces Hansenii* And *Candida Tropicalis*,” *Fermentation*, Vol. 8, No. 12, 2022, Doi: 10.3390/Fermentation8120694.
- [102] P. Saravanan, S. Ramesh, N. Jaya, And S. A. Jabasingh, “Prospective Evaluation Of Xylitol Production Using *Dabaryomyces Hansenii* Var *Hansenii*, *Pachysolen Tannophilus*, And *Candida Guillermondii* With Sustainable Agricultural Residues,” *Biomass Conversion And Biorefinery*, Vol. 13, No. 4, 2023, Doi: 10.1007/S13399-020-01221-Y.
- [103] P. Saravanan, S. Ramesh, N. Jaya, And S. A. Jabasingh, “Prospective Evaluation Of Xylitol Production Using *Dabaryomyces Hansenii* Var *Hansenii*, *Pachysolen Tannophilus*, And *Candida Guillermondii* With Sustainable Agricultural Residues,” *Biomass Conversion And Biorefinery*, Vol. 13, No. 4, 2023, Doi: 10.1007/S13399-020-01221-Y.

- [104] K. Manjarres-Pinzón, M. Arias-Zabala, Y. A. Molina-Ramírez, M. I. Betancur-Nieto Y E. Rodríguez-Sandoval. “Producción De Xilitol Por Candida Guilliermondii A Partir De Fermentación De Residuos De Palma De Aceite”. Scielo Colombia- Scientific Electronic Library Online. [En Línea]. Disponible: [Http://Www.Scielo.Org.Co/Scielo.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0123-42262016000200017](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262016000200017)
- [105] Y. He *Et Al.*, “Production Of Xylitol By Saccharomyces Cerevisiae Using Waste Xylose Mother Liquor And Corncob Residues,” *Microbial Biotechnology*, Vol. 14, No. 5, 2021, Doi: 10.1111/1751-7915.13881.
- [106] L. R. Hickert, P. B. De Souza-Cruz, C. A. Rosa, And M. A. Ô. Z. Ayub, “Simultaneous Saccharification And Co-Fermentation Of Un-Detoxified Rice Hull Hydrolysate By Saccharomyces Cerevisiae Icv D254 And Spathaspora Arborariae Nrrl Y-48658 For The Production Of Ethanol And Xylitol,” *Bioresource Technology*, Vol. 143, 2013, Doi: 10.1016/J.Biortech.2013.05.123.
- [107] B. X. Yang, C. Y. Xie, Z. Y. Xia, Y. J. Wu, B. Li, And Y. Q. Tang, “The Effect Of Xylose Reductase Genes On Xylitol Production By Industrial Saccharomyces Cerevisiae In Fermentation Of Glucose And Xylose,” *Process Biochemistry*, Vol. 95, 2020, Doi: 10.1016/J.Procbio.2020.05.023.
- [108] E. Mardawati *Et Al.*, “An Integrated Process For The Xylitol And Ethanol Production From Oil Palm Empty Fruit Bunch (Opefb) Using Debaryomyces Hansenii And Saccharomyces Cerevisiae,” *Microorganisms*, Vol. 10, No. 10, 2022, Doi: 10.3390/Microorganisms10102036.
- [109] P. R. D. Cortivo, L. R. Hickert, R. Hector, And M. A. Z. Ayub, “Fermentation Of Oat And Soybean Hull Hydrolysates Into Ethanol And Xylitol By Recombinant Industrial Strains Of Saccharomyces Cerevisiae Under Diverse Oxygen Environments,” *Industrial Crops And Products*, Vol. 113, 2018, Doi: 10.1016/J.Indcrop.2018.01.010.
- [110] V. Espíndola Sotres. “Obtención De Nanoesferas A Partir De Proteínas De Lactosuero-Xiloglucano De Tamarindus Indica L. Y Determinación De Su Cinética De Liberación

De Calcio”. Universidad Autónoma De Queretano, Facultad De Química. Doi: [Http://Ri-
Ng.Uaq.Mx/Handle/123456789/2344](http://Ri-
Ng.Uaq.Mx/Handle/123456789/2344)

- [111] Intarcon. “Cómo Elegir Adecuadamente El Gas Refrigerante Para Tu Equipo | Intarcon”. Intarcon. [En Línea]. Disponible: [Https://Www.Intarcon.Com/Elegir-Gas-Refrigerante-Segun-Equipo-Refrigeracion/](https://www.intarcon.com/Elegir-Gas-Refrigerante-Segun-Equipo-Refrigeracion/)
- [112] Cofrico. “Gases Fluorados Y Calentamiento Atmosférico”. Frio Industrial Y Climatizacion Industrial. Software Mantenimiento. [En Línea]. Disponible: [Https://Www.Cofrico.Com/Medioambiente/Gases-Fluorados-Y-Calentamiento/#:~:Text=Sin%20embargo,%20¿A%20qué%20nos,Influencia%20en%20el%20efecto%20invernadero.](https://www.cofrico.com/Medioambiente/Gases-Fluorados-Y-Calentamiento/#:~:Text=Sin%20embargo,%20¿A%20qué%20nos,Influencia%20en%20el%20efecto%20invernadero.)