

# PRODUCCIÓN DE XILITOL A PARTIR DE HIDROLIZADOS ÁCIDOS NO DETOXIFICADOS DE BAGAZO DE SORGO POR *Debaryomyces hansenii*

## PRODUCTION OF XYLITOL FROM NON-DETOXIFIED ACID HYDROLIZATES FROM SORGHUM STRAW BY *Debaryomyces hansenii*

Edgar Ledezma-Orozco<sup>1</sup>, Régulo Ruíz-Salazar<sup>1</sup>, Guadalupe Bustos-Vázquez<sup>1</sup>, Noé Montes-García<sup>2</sup>,  
Viviana Roa-Cordero<sup>3</sup>, Guadalupe Rodríguez-Castillejos<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Tamaulipas U.A.M. Reynosa-Aztlán. Calle 16 y Lago de Chapala SN. Colonia Aztlán, C.P 88740. Reynosa, Tamaulipas, México. (gcastillejos@uat.edu.mx). <sup>2</sup>Centro de Investigación Regional Noreste, INIFAP Campo Río Bravo, Km. 61 Carretera Matamoros- Reynosa C.P. 88900, Ciudad Río Bravo, Tamaulipas, México. <sup>3</sup>Universidad de Santander, Campus Universitario Lagos del Caíque, calle 70 No 55-210 Bucaramanga, Santander, Colombia. (gcastillejos@uat.edu.mx).

### RESUMEN

La producción industrial de xilitol se realiza por hidrogenación química de D-xilosa y es un proceso costoso. Una vía alternativa es la fermentación de residuos lignocelulósicos por levaduras como *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder y Kreger-van Rij. Por ello, en el presente estudio se evaluó la obtención de xilitol a partir de bagazo de sorgo, en medios detoxificados y sin detoxificar. En el estudio se hidrolizó bagazo de sorgo blanco [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.], variedad RB-Paloma con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2, 4 y 6 %; relación sólido líquido 1:6, 1:8 y 1:10; todos los tratamientos a 120 °C por 80 min. Los hidrolizados se neutralizaron y se utilizaron para evaluar la producción de xilitol; los medios de cultivo contenían 30, 40 o 50 g L<sup>-1</sup> xilosa, se inocularon con *D. hansenii* y se incubaron a 30 y 35 °C, 150 y 200 RPM por 96 h. Además, los datos se analizaron con ANDEVA y prueba de medias (p ≤ 0.05). La concentración máxima de xilitol en los medios detoxificados fue 28.8 g L<sup>-1</sup> (40 g xilosa, 35 °C, 200 rpm) y en los no detoxificados se encontró un máximo de 29.23 g L<sup>-1</sup> (30 g xilosa, 35 °C, 150 rpm). El bagazo evaluado podría aprovecharse para obtener xilosa con uso potencial en medios para fermentación, además los resultados sugieren que *D. hansenii* puede metabolizar xilosa en presencia de ácido acético y furfural.

**Palabras clave:** xilitol, *Debaryomyces hansenii*, *Sorghum bicolor*, detoxificación.

### ABSTRACT

The industrial production of xylitol is carried out with the chemical hydrogenation of D-xylose and it is a costly process. An alternative procedure is the fermentation of lignocellulosic residues with yeasts such as *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder and Kreger-van Rij. Therefore, the objective of this study was to evaluate the extraction of xylitol from sorghum straw, in detoxified and non-detoxified media. White sorghum straw [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.], variety RB-Paloma, was hydrolyzed with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 2, 4 and 6 %; solid liquid ratio 1:6, 1:8 and 1:10; all treatments at 120 °C for 80 min. Those hydrolyzed were neutralized and used to evaluate the production of xylitol; culture media contained 30, 40 or 50 g L<sup>-1</sup> xylose were inoculated with *D. hansenii* and incubated at 30 and 35 °C, 150 and 200 RPM for 96 h. In addition, the data were analyzed with ANDEVA and means tests (p ≤ 0.05). The maximum concentration of xylitol in the detoxified media was 28.8 g L<sup>-1</sup> (40 g xylose, 35 °C, 200 rpm), and in non-detoxified, the maximum found was 29.23 g L<sup>-1</sup> (30 g xylose, 35 °C, 150 rpm). The straw evaluated could be used to obtain xylose with a potential use in media for fermentation, and results also suggest that *D. hansenii* can metabolize xylose in the presence of acetic acid and furfural.

**Key words:** xylitol, *Debaryomyces hansenii*, *Sorghum bicolor*, detoxification.

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: junio, 2017. Aprobado: enero, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 52: 1095-1106. 2018.

## INTRODUCCIÓN

El xilitol ( $C_5H_{12}O_5$ ) es un azúcar-alcohol pentahidroxilado presente en cantidades menores a 405 mg en algunas frutas y vegetales (Mäkinen y Söderling, 1980), se usa como edulcorante en alimentos procesados y es un sustituto de sacarosa para diabéticos ya que su metabolismo es independiente de insulina. En la industria farmacéutica se usa como agente anticariogénico y para reducir el riesgo de otitis media (de Albuquerque *et al.*, 2014; Vernacchio *et al.*, 2014). La vía química para obtener xilitol incluye reducción de xilosa en un proceso de hidrogenación entre 80 y 140 °C y presión superior a 50 atm. Este proceso es costoso y produce compuestos secundarios, por lo que la síntesis con microorganismos que produzcan xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa son una alternativa para la obtención de xilitol (Prakasham *et al.*, 2009; de Albuquerque *et al.*, 2014; Pappu y Gummadi, 2017; Sena *et al.*, 2017). Las fuentes renovables de carbono se pueden usar como materia prima para la obtención de xilosa, por ejemplo, los residuos madereros y agrícolas con alto contenido de lignocelulosa, el componente estructural más importante de las plantas, está formada de hemicelulosa, lignina y celulosa (Koutinas *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2013) y al ser hidrolizadas la xilosa destaca como el principal monosacárido. La biomasa lignocelulósica tiene gran potencial en la biotecnología para obtener metabolitos de interés industrial; por ello la conversión de xilosa a xilitol es importante porque añade valor agregado a la cadena de producción (de Arruda *et al.*, 2011; Prakash *et al.*, 2011).

Las levaduras son los microorganismos candidatos para la fermentación de xilosa y destacan los géneros *Pichia* sp., *Candida* sp. y *Debaryomyces* sp. (Pérez-Bibbins *et al.*, 2014; Pappu y Gummadi, 2017). El rendimiento de xilitol depende de la concentración de xilosa, la temperatura, pH, aireación, los cuales son importantes para el correcto transporte de xilosa al interior celular y el funcionamiento de las enzimas involucradas en la conversión; además, la mayoría de las levaduras productoras de xilitol presentan una baja tolerancia a compuestos tóxicos como furanos y ácido acético (Pappu y Gummadi, 2016; López-Linares *et al.*, 2018). Por tal motivo, si la fuente de carbono se obtiene de biomasa lignocelulósica es importante evaluar la presencia de estos compuestos inhibidores, los cuales se producen al hidrolizar la

## INTRODUCTION

Xylitol ( $C_5H_{12}O_5$ ) is a pentahydroxylated sugar-alcohol present in amounts below 405 mg in some fruits and vegetables (Mäkinen and Söderling, 1980), it is used as a sweetener in processed foods and is a substitute for saccharose for diabetics, since its metabolism is independent of insulin. The pharmaceutical industry uses it as an anticariogenic agent and to reduce the risk of otitis media (from Albuquerque *et al.*, 2014; Vernacchio *et al.*, 2014). The chemical way to extract xylitol includes the reduction of xylose in a hydrogenation process between 80 and 140 °C and a pressure higher than 50 atm. This process is costly and it produces secondary compounds; therefore, the synthesis with microorganisms that produce xylose reductase and xylitol dehydrogenase are an alternative for the production of xylitol (Prakasham *et al.*, 2009; de Albuquerque *et al.*, 2014; Pappu and Gummadi, 2017; Sena *et al.*, 2017). Renewable sources of carbon can be used as a raw material for the extraction of xylose, for example, wood and agricultural residues with high amounts of lignocellulose, the most important structural component of plants, composed of hemicellulose, lignin and cellulose (Koutinas *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2013), and, when they are hydrolyzed, xylose stands out as the main monosaccharide. Lignocellulosic biomass has great potential in biotechnology to help obtain metabolites of industrial interest; here lies the importance of converting xylose to xylitol, since it adds value to the production chain (from Arruda *et al.*, 2011; Prakash *et al.*, 2011).

Yeasts are candidate microorganisms for the fermentation of xylose, and the main genres are *Pichia* sp., *Candida* sp. and *Debaryomyces* sp. (Pérez-Bibbins *et al.*, 2014; Pappu and Gummadi, 2017). The yield of xylitol depends on the concentration of xylose, temperature, pH, and ventilation, which are important for the correct transportation of xylose inside the cells and the functioning of the enzymes involved in the conversion; in addition, most xylitol-producing yeasts have a low tolerance to toxic compounds such as furans and acetic acid (Pappu and Gummadi, 2016; López-Linares *et al.*, 2018). Due to this, if the source of carbon is obtained from the lignocellulosic biomass, it is important to evaluate the presence of these inhibiting compounds, which

lignocelulosa con ácidos o bases o con temperaturas de reacción altas. Estos compuestos causan la formación de radicales libres, lo cual daña el ADN, proteínas y membrana celular de levaduras y, además, disminuyen la resistencia a sales y azúcares. Pero ciertas levaduras son resistentes a estos compuestos y pueden metabolizar las fuentes de carbono bajo condiciones de estrés (Allen *et al.*, 2010; Field *et al.*, 2015). Estos compuestos pueden eliminarse con métodos de resinas de intercambio, tratamientos con bases, carbón activado, además de filtración o centrifugación posterior después de alguno de estos procesos (Chandel *et al.*, 2013).

El objetivo principal de este estudio fue obtener xilosa de bagazo de sorgo y evaluar la producción de xilitol por *Debaryomyces hansenii* utilizando los hidrolizados obtenidos, con sin y tratamiento de detoxificación, para evaluar la resistencia de la levadura a compuestos inhibidores. La hipótesis fue que la xilosa presente en los hidrolizados es una fuente de carbono adecuada para la producción de xilitol y la levadura incrementa el rendimiento en presencia de compuestos inhibidores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

El bagazo de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.], variedad RB-Paloma fue donado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, México. El bagazo se cortó en trozos de 5 cm de largo, se secó en estufa con aireación a 60 °C por 24 h, se molió y tamizó para obtener partículas con diámetro aproximado de 500  $\mu$ m.

### Estudios preliminares

Dado que el pretratamiento más utilizado para las hidrólisis ácida es la molienda para obtener una mayor superficie de contacto, se determinó la factibilidad de usar una harina fina (tamaño de partícula  $\leq 0.05 \mu$ m) y una más gruesa ( $\geq 500 \mu$ m, producto del tamizado), o usar una mezcla de ambas harinas en proporción 1:1 para aprovechar todo el residuo. Una hidrólisis se realizó en las siguientes condiciones: ácido sulfúrico al 4 % por 80 min a 120 °C, con una relación sólido-líquido de 1:6 con los tres tratamientos; estas condiciones se seleccionaron de acuerdo con los estudios de Aguilar *et al.* (2002), Téllez-Luis *et al.* (2002) y Sepúlveda-Huerta *et al.* (2006).

are produced by hydrolyzing lignocellulose with acids or bases or high reaction temperatures. These compounds lead to the formation of free radicals, which damages DNA, proteins and cell membranes of yeasts, and also reduce the resistance to salts and sugars. However, certain yeasts are resistant to these compounds and can metabolize the carbon sources under conditions of stress (Allen *et al.*, 2010; Field *et al.*, 2015). These compounds can be eliminated using resin exchange methods, treatments with bases, active carbon, as well as filtering or centrifuging after any of these processes (Chandel *et al.*, 2013).

The main goal of this study was to obtain xylose from sorghum straw and to evaluate the production of xylitol by *Debaryomyces hansenii* using the hydrolysates obtained, with or without detoxification treatments, in order to evaluate the resistance of yeast to inhibiting compounds. Our hypothesis was that xylose present in the hydrolysates is an adequate source of carbon for the production of xylitol and yeast increases the yield in the presence of inhibiting compounds.

## MATERIALS AND METHODS

### Raw material

Straw obtained from sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.] of the RB-Paloma variety was donated by the National Farming Research Institute, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. The straw was cut into pieces, 5 cm in length, dried in a stone with ventilation at 60 °C for 24 h, grounded and sieved to obtain particles with an approximate diameter of 500  $\mu$ m.

### Preliminary studies

Given that the most widely used pretreatment for acid hydrolysis is grinding, in order to obtain a larger surface area, we determined the feasibility of using fine flour (particle size  $\leq 0.05 \mu$ m) and another, thicker one ( $\geq 500 \mu$ m, product of sieving), or using a mixture of both types of flour in a 1:1 proportion to use all the residue. Hydrolysis was carried out under the following conditions: sulfuric acid at 4 % for 80 min at 120 °C, with a solid-liquid ratio of 1:6 with all three treatments; these conditions were selected according to studies by Aguilar *et al.* (2002), Téllez-Luis *et al.* (2002) and Sepúlveda-Huerta *et al.* (2006).

### Hidrólisis y detoxificación

La hidrólisis se realizó con ácido sulfúrico, en las siguientes condiciones: ácido 2, 4 y 6 %; relación sólido/líquido de 1:6, 1:8 y 1:10. El tiempo de reacción y temperatura fueron constantes, 80 min y 120 °C, respectivamente; y nueve tratamientos de hidrólisis de harina de bagazo de sorgo (Cuadro 1).

Después, se seleccionaron las mejores condiciones de hidrólisis, los jarabes obtenidos fueron divididos en dos partes iguales, y una fue tratada con carbón activado para eliminar compuestos inhibidores, furfural y ácido acético. Las condiciones de detoxificación fueron las siguientes: pH 5, con un tiempo de 45 min y carga de carbón activado al 1.5. La otra parte de los jarabes no fue detoxificada, con la finalidad de evaluar el crecimiento de la levadura en presencia de furfural y ácido acético. Luego se ajustó el pH de los hidrolizados con carbón activo y de los no tratados; se adicionó carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) seguido por una filtración al vacío y se midió con un potenciómetro (Ultra Basic UB-10 Denver Instrument). Una muestra de 50 g de la mezcla jarabe-carbón activado se puso en matraces de 250 mL, se agitaron a 150 rpm y 45 °C en una incubadora. Después las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm por 10 min, y se analizó la concentración de xilosa, ácido acético, furfural, antes y después de la adición de carbón activado. La concentración de xilosa y ácido acético se determinaron mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC HP-1100) utilizando una columna *Transgenomic ION-300*, con una temperatura de horno de 45 °C, y elución isocrática de 0.4 mL min<sup>-1</sup> de flujo de fase móvil ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0025 M). La concentración de furfural se midió mediante espectrofotometría de UV-vis (UV-1800 Shimadzu) a una longitud de onda de 270 nm.

### Microorganismo y medio de cultivo

La cepa liofilizada de *D. hansenii* NRRL Y-7426 se reactivó en matraces Erlenmeyer con 100 mL de medio con xilosa (30 g L<sup>-1</sup>), peptona (5 g L<sup>-1</sup>) y extracto de levadura (3 g L<sup>-1</sup>), se ajustó el pH a 5.5, se incubó a 28 °C, con agitación a 150 rpm por 48 h. Después se evaluó la producción de xilitol en los medios a base de xilosa producto del hidrolizado ácido de bagazo de sorgo.

### Producción de xilitol

La producción de xilitol por *D. hansenii* se evaluó en medios con hidrolizados detoxificados y sin detoxificar con 30, 40 y 50 g L<sup>-1</sup> de xilosa, a 30 y 35 °C y una velocidad de agitación de 120 y 200 rpm, la concentración de xilitol se midió desde el

**Cuadro 1. Condiciones de hidrólisis ácida de harina de bagazo de sorgo RB Paloma.**

**Table 1. Conditions of acid hydrolysis with RB Paloma sorghum straw flour.**

Clave de tratamiento	Ácido sulfúrico (%)	Relación sólido:líquido
TH1	2	1:6
TH2	4	1:6
TH3	6	1:6
TH4	2	1:8
TH5	4	1:8
TH6	6	1:8
TH7	2	1:10
TH8	4	1:10
TH9	6	1:10

### Hydrolysis and detoxification

Hydrolysis was carried out with sulfuric acid under the following conditions: acid 2, 4 and 6 %; solid-liquid ratio of 1:6, 1:8 and 1:10. Reaction time and temperature were constant (80 min and 120 °C, respectively) and nine hydrolysis treatments with sorghum straw flour (Table 1).

Afterwards, the best conditions for hydrolysis were chosen, the syrups obtained were divided into two equal parts, and one was treated with active carbon to eliminate inhibiting compounds, furfural and acetic acid. The detoxification conditions were as follows: pH 5 with a time of 45 min and a charge of active carbon at 1.5. The other part of the syrups was not detoxified, in order to evaluate the growth of yeast in the presence of furfural and acetic acid. Next, the pH of the hydrolysates and of the untreated ones was adjusted with active carbon; calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) was added, followed by a vacuum filtering and measured using a potentiometer (Ultra Basic UB-10 Denver Instrument). A 50 g sample of the syrup-active carbon was placed in 250 mL beakers, stirred at 150 rpm and 45 °C in an incubator. The samples were then centrifuged at 10 000 rpm for 10 min, and the concentrations of xylose, acetic acid, and furfural were analyzed before and after adding active carbon. The concentration of xylose and acetic acid were determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC HP-1100) and a *Transgenomic ION-300* column, with a stone temperature of 45 °C, and an isocratic elution of 0.4 mL min<sup>-1</sup> of flow of mobile phase ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0025 M). The concentration of furfural was measured using UV-vis (UV-1800 Shimadzu) spectrophotometry at a wavelength of 270 nm.

tiempo cero hasta 96 h de fermentación, cada 12 h. Las variables determinadas fueron el rendimiento o factor de conversión ( $Y_{P/S}$ , g xilitol producido por g xilosa consumida) y productividad volumétrica ( $Q_p$ , g xilitol producido por L de medio en 1 h). La concentración de xilitol fue medida por HPLC utilizando las mismas condiciones que las mencionadas para xilosa.

Con los datos se realizó ANDEVA multifactorial para determinar el efecto de las variables independientes sobre la composición del hidrolizado y producción de xilitol. Las diferencias entre los tratamientos se evaluaron con un análisis de comparación de medias de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis practicados a las harinas fina y gruesa obtenidas del residuo de cosecha de sorgo en su totalidad, no mostraron diferencia significativa sobre la concentración de xilosa obtenida, comparado con la hidrólisis de la harina con partículas de menor tamaño (Cuadro 2).

### Hidrólisis ácida de bagazo de sorgo RB-Paloma y detoxificación

El tratamiento TH3 ( $H_2SO_4$  al 6 %, 120 °C por 80 min y relación sólido/líquido 1:6) produjo la mayor concentración de xilosa ( $63.82 \pm 0.78 \text{ g L}^{-1}$ ), mientras que la concentración más baja se obtuvo en el TH7 con  $23.09 \pm 4.56 \text{ g L}^{-1}$ , con 2 % de  $H_2SO_4$  a 120 °C por 80 min en relación 1:10 (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Concentración de xilosa, ácido acético y furfural en los jarabes ácidos de sorgo, variedad RB Paloma.**

**Table 3. Concentration of xylose, acetic acid and furfural in the acid syrups of RB Paloma sorghum.**

Tratamiento	Xilosa $\text{g L}^{-1}$	Ácido acético $\text{g L}^{-1}$	Furfural $\text{g L}^{-1}$
TX1	$44.60c \pm 0.48$	$9.47b \pm 0.53$	$5.81c \pm 0.20$
TX2	$51.22c \pm 0.31$	$11.07a,b \pm 0.53$	$8.06b \pm 0.24$
TX3	$63.82a \pm 0.78$	$11.62a \pm 0.51$	$9.77a \pm 0.39$
TX4	$25.43d \pm 0.46$	$4.22d \pm 0.54$	$4.25d \pm 0.30$
TX5	$44.40c \pm 0.78$	$7.99c \pm 0.66$	$6.39c \pm 0.38$
TX6	$51.36c \pm 7.42$	$9.04b,c \pm 0.55$	$7.98b \pm 0.49$
TX7	$23.09d \pm 4.56$	$4.30d \pm 0.56$	$4.15d \pm 0.27$
TX8	$39.56c \pm 4.64$	$10.03b \pm 0.49$	$6.03c \pm 0.02$
TX9	$61.46b \pm 0.82$	$10.24b \pm 0.27$	$7.97a,b,c \pm 1.48$

a,b,c,d: Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Fisher;  $p \leq 0.05$ ) ♦ Different letters in a column indicate significant differences between treatments (Fisher;  $p \leq 0.05$ ).

±Desviación estándar (95 %) ♦ Standard deviation (95 %).

**Cuadro 2. Concentración de xilosa obtenida de la hidrólisis de los diferentes tipos de harina de bagazo de sorgo.**

**Table 2. Concentration of xylose obtained from the hydrolysis of the different types of sorghum straw flour.**

Tipo de harina	Xilosa ( $\text{g L}^{-1}$ )
Harina fina (HF)	$45.7 \pm 2.42a$
Harina gruesa (HG)	$50.91 \pm 1.96a$
Proporción 1:1 (HF:HG)	$45.38 \pm 2.93a$

†No hubo diferencia significativa entre tratamientos (Fisher;  $p > 0.05$ ) ♦ There were no significant differences between treatments (Fisher;  $p > 0.05$ ).

### Microorganism and culture medium

The liophilized strain of *D. hansenii* NRRL Y-7426 was reactivated in Erlenmeyer beakers with 100 mL of medium with xylose ( $30 \text{ g L}^{-1}$ ), peptone ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ) and yeast extract ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ), the pH was adjusted to 5.5, incubated at 28 °C, stirring at 150 rpm for 48 h. Afterwards, the production of xylitol in the media based on xylose, product of the hydrolyzed acid from the sorghum straw.

### Production of xylitol

The production of xylitol by *D. hansenii* was evaluated in media with detoxified and non-detoxified hydrolysates with 30, 40 and 50  $\text{g L}^{-1}$  of xylose, at 30 and 35 °C and a stirring speed

Esta cantidad de xilosa es similar a la reportada por Téllez-Luis *et al.* (2001) con una concentración de 16 g L<sup>-1</sup> de xilosa con la hidrólisis ácida de paja de sorgo rojo con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 6 %, por 60 min y 120 °C. Herazo *et al.* (2009) hidrolizaron cascarilla de arroz con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2 % por 30 min y obtuvieron 32.5 g L<sup>-1</sup> de azúcares reductores y 9.9 g L<sup>-1</sup> de xilosa.

Para el crecimiento de *D. hansennii* y producción de xilitol se usaron las condiciones de hidrólisis del tratamiento TH9 porque produjo menor cantidad de furfural y ácido acético. Estos compuestos resultan de la degradación de lignina y actúan como inhibidores del crecimiento microbiano al reducir el metabolismo (Mussatto y Roberto, 2004; Oliva *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2011); en consecuencia es importante tener valores bajos de estos compuestos tóxicos. Las fermentaciones se realizaron en medios detoxificados y sin detoxificar, con el propósito de evaluar el crecimiento de la levadura en presencia de compuestos inhibidores, y así disminuir costos y tiempo de producción.

### Detoxificación

Con el proceso de detoxificación con carbón activado, el ácido acético y furfural disminuyeron en 72 y 65.5 %, respectivamente (Cuadro 4). Kamal *et al.* (2011) realizaron hidrólisis ácida de tronco de palma, después los jarabes obtenidos se detoxificaron con 1 y 2.5 % de carbón activado, y se encontró una reducción máxima de 58 % de furfural con 2.5% de carbón activado. Villarreal *et al.* (2006) efectuaron hidrólisis ácida de residuos de eucalipto y reportaron una reducción de 100 y 10.6 % de furfural y ácido acético, respectivamente, utilizando 5 % de carbón activado a un pH de 5.5.

of 120 and 200 rpm; the concentration of xylitol was measured every 12 h up to 96 h of fermentation. The variables determined were yield or conversion factor ( $Y_{p/s}$ , g xylitol produced times g xylose consumed) and volumetric productivity ( $Q_p$ , g xylitol produced per L of medium in 1 h). The concentration of xylitol was measured by HPLC using the same conditions as those mentioned for xylose.

With the data, a multi-factorial ANDEVA was carried out to determine the effect of the independent variables on the composition of the hydrolysate and production of xylitol. The differences between treatments were evaluated using a Fisher analysis for means comparison ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

The analyses performed on fine and coarse flour obtained from the total sorghum residues showed no significant differences with the concentration of xylose obtained, as compared to the hydrolysis of flour with smaller particles (Table 2).

### Acid hydrolysis of RB-Paloma sorghum straw and detoxification

Treatment TH3 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 6 %, 120 °C for 80 min and solid-liquid ratio 1:6) produced the greatest concentration of xylose (63.82 ± 0.78 g L<sup>-1</sup>), while the lowest concentration was obtained in treatment TH7 with 23.09 ± 4.56 g L<sup>-1</sup>, with 2 % of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 120 °C for 80 min in a proportion of 1:10 (Table 3). This amount of xylose is similar to that reported by Téllez-Luis *et al.* (2001) with a concentration of 16 g L<sup>-1</sup> of xylose with the acid hydrolysis of red sorghum hay with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 6 %, for 60 min and 120 °C. Herazo *et al.* (2009) hydrolyzed rice straw with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 2 % for 30 min and obtained 32.5 g L<sup>-1</sup> of reducing sugars and 9.9 g L<sup>-1</sup> of xylose.

**Cuadro 4. Concentración de compuestos inhibidores en el hidrolizado antes y después de la detoxificación.**

**Table 4. Concentration of inhibiting compounds in hydrolysis before and after detoxification.**

Condición	Furfural g L <sup>-1</sup>	Ácido acético g L <sup>-1</sup>
Antes de detoxificar	7.97 ± 1.48a	10.24 ± 0.27a
Después de detoxificar	2.27 ± 0.27b	3.53 ± 1.64b

a,b: Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Fisher;  $p \leq 0.05$ ) ♦ Different letters in a column indicate statistically significant differences between treatments (Fisher;  $p \leq 0.05$ ).

±Desviación estándar (95 %) ♦ Standard deviation (95 %).

Con el objetivo de evaluar cual de los dos factores (concentración de ácido, relación sólido/líquido o ambos) tenían mayor efecto sobre la concentración de xilosa obtenida, se realizó un ANDEVA de dos vías con 95 % de confianza. El resultado mostró que el porcentaje de ácido fue el factor principal en las hidrólisis realizadas ( $p \leq 0.05$ ), y en el presente estudio la relación sólido/líquido no muestra diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos (Cuadro 5).

### Producción de xilitol en medios detoxificados y sin detoxificar

La mayor concentración de xilitol en los medios detoxificados con carbón activado se obtuvo en el TH8 (40 g xilosa, 35 °C, 200 rpm) con 28.8 g L<sup>-1</sup> a las 48 h de fermentación; mientras que en los medios no detoxificados, el TH11 (30 g xilosa, 35 °C, 150 rpm) produjo una concentración máxima de 29.23 g L<sup>-1</sup> a las 48 h. La concentración de xilitol fue similar en los medios con hidrolizados no detoxificados y detoxificados. Aunque Carvalheiro *et al.* (2005) mencionan que la producción de xilitol es favorecida por altas concentraciones de xilosa, en nuestro estudio la menor concentración de xilitol fue en el medio con 50 g L<sup>-1</sup> de la fuente de carbono. Carvalheiro *et al.* (2005) realizaron tratamientos de detoxificación en hidrolizados ácidos de cascarilla de arroz, y encontraron que el uso de resina de intercambio iónico eliminaba la mayor concentración de furfural, pero los medios diseñados con estos hidrolizados detoxificados tuvieron bajo rendimiento de xilitol (0.51 g g<sup>-1</sup>). Esto puede deberse a que estos procesos eliminan compuestos inhibidores, pero también otros compuestos, como minerales, que pueden servir como factores de crecimiento para la levadura.

For the growth of *D. hansenii* and production of xylitol, we used the hydrolysis conditions of treatment TH9 because it produced less furfural and acetic acid. These compounds derive from the degradation of lignin and act as inhibitors of microbial growth by reducing the metabolism (Mussatto and Roberto, 2004; Oliva *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2011); consequently, it is important to have low values of these toxic compounds. Fermentations were carried out in detoxified and non-detoxified media in order to evaluate the growth of yeast in the presence of inhibiting compounds, and therefore reduce production costs and time.

### Detoxification

With the process of detoxification with active carbon, acetic acid and furfural decreased by 72 and 65.5 %, respectively (Table 4). Kamal *et al.* (2011) performed acid hydrolysis on palm trunk, then detoxified the syrups obtained with 1 and 2.5 % of active carbon, and the maximum reduction found was 58 % for furfural with 2.5% of active carbon. Villarreal *et al.* (2006) performed an acid hydrolysis on eucalyptus residues, and reported a reduction of 100 and 10.6 % of furfural and acetic acid, respectively, using 5 % active carbon at a pH of 5.5.

In order to evaluate which of the two factors (concentration of acid, solid-liquid ratio, or both) has a greater effect on the concentration of xylose obtained, a two-way ANOVA was carried out with a confidence level of 95 %. The result showed that the percentage of acid was the main factor in the hydrolyses performed ( $p \leq 0.05$ ), and in this study, the solid-liquid ratio shows no significant difference ( $p > 0.05$ ) between treatments (Table 5).

**Cuadro 5. Análisis de varianza de los factores involucrados en la obtención de xilosa.**  
**Table 5. Analysis of variance of the factors involved in the extraction of xylose.**

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	G.L	Cuadrados Medios	F	p ≤
Ácido sulfúrico, %	1162.62	2	581.309	17.98	0.0100
Relación s/l <sup>†</sup>	305.479	2	152.739	4.72	0.0885
Residuos	129.311	4	32.3277		
Total	1597.41	8			

<sup>†</sup>Relación sólido/líquido ♦ Solid-liquid ratio.

La concentración máxima de xilitol fue 29.23 g L<sup>-1</sup> (Cuadro 6) y se obtuvo con hidrolizado sin detoxificar, aunque el proceso de detoxificación mejora la capacidad de fermentación de los microorganismos en medios a base de hidrolizados lignocelulósicos (Alriksson *et al.*, 2011; Cavka y Jönsson, 2013). Los tratamientos 1 al 8 corresponden a fermentaciones en medios con hidrolizados detoxificados, mientras que del 9 a 19 corresponden a los no detoxificados. Una vez alcanzada la máxima producción de xilitol la concentración de xilosa disminuye debido a la conversión de este a xilitol, ya que este último es un metabolito primario, lo cual significa que está relacionado con el crecimiento de la levadura; es decir, *D. hansenii* utiliza xilosa como fuente de carbono para poder crecer y por ello la relación xilosa-crecimiento es inversamente proporcional. Por tanto, es importante establecer el tiempo de fermentación óptimo, porque cuando el microorganismo entra a fase estacionaria desciende la concentración del metabolito.

### Production of xylitol in detoxified and non-detoxified media

The highest concentration of xylitol in the media detoxified with active carbon was obtained in TH8 (40 g xylose, 35 °C, 200 rpm) with 28.8 g L<sup>-1</sup> after 48 h of fermentation; whereas in non-detoxified media, TH11 (30 g xylose, 35 °C, 150 rpm) produced a maximum concentration of 29.23 g L<sup>-1</sup> after 48 h. The concentration of xylitol was similar in the media with detoxified and non-detoxified hydrolysate. Although Carvalheiro *et al.* (2005) mentioned that xylitol production is favored by high concentrations of xylose, in our study, the lowest concentration of xylitol was in the medium with 50 g L<sup>-1</sup> of the carbon source. Carvalheiro *et al.* (2005) carried out detoxification treatments in hydrolyzed acids from rice straw, and found that the use of ionic exchange resin eliminated the highest concentration of furfural, although the media designed with these detoxified

**Cuadro 6. Condiciones de fermentación empleadas para la producción de xilitol y parámetros fermentativos.**  
**Table 6. Conditions of fermentation used for the production of xylitol and fermentative parameters.**

Tratamiento	Xilosa g L <sup>-1</sup>	Temp (°C)	RPM	Detox	T (h)	Xilitol (g L <sup>-1</sup> )	Y <sub>P/S</sub> (g g <sup>-1</sup> )	Qp (g L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
TX1	30	30	150	HD	36	23.58 ± 5.50a,b	0.84 ± 0.16a	0.49 ± 0.11d
TX2	30	30	200	HD	36	28.41 ± 2.90a,b	1.18 ± 0.40a	0.79 ± 0.01c
TX3	30	35	150	HD	48	23.8 ± 2.37b	0.89 ± 0.06a	0.5 ± 0.05d
TX4	30	35	200	HD	36	25.56 ± 5.47a,b	0.97 ± 0.01a	0.71 ± 0.02c
TX5	40	30	150	HD	48	27.97 ± 5.55a,b	0.78 ± 0.37a	0.58 ± 0.28b,c
TX6	40	30	200	HD	36	23.42 ± 4.64a,b	0.85 ± 0.20a	0.65 ± 0.16c
TX7	40	35	150	HD	36	26.79 ± 3.03a,b	0.73 ± 0.13a	0.74 ± 0.08c
TX8	40	35	200	HD	48	28.86 ± 8.98a,b	0.82 ± 0.25a	0.6 ± 0.19c
TX9	30	30	150	HND	24	25.99 ± 4.49a,b	1.03 ± 0.14a	1.08 ± 0.09a
TX10	30	30	200	HND	48	22.73 ± 5.20a,b	0.82 ± 0.21a	0.47 ± 0.16d
TX11	30	35	150	HND	48	29.23 ± 2.64a,b	1.16 ± 0.06a	0.61 ± 0.02d
TX12	30	35	200	HND	24	26.4 ± 4.48a,b	1.01 ± 0.13a	1.1 ± 0.09a
TX13	40	30	150	HND	36	23.4 ± 4.46a,b	0.68 ± 0.15a	0.97 ± 0.06a
TX14	40	30	200	HND	48	22.74 ± 4.42a,b	0.66 ± 0.13a	0.47 ± 0.09d
TX15	40	35	150	HND	24	27.07 ± 9.65a,b	0.78 ± 0.35a	1.13 ± 0.25a
TX16	40	35	200	HND	36	19.22 ± 1.09c	0.51 ± 0.01b	0.53 ± 0.01d
TX17	50	30	150	HND	24	15.93 ± 2.43c	0.35 ± 0.07d	0.66 ± 0.05c
TX18	50	30	200	HND	24	20.44 ± 4.60b	0.43 ± 0.01c,d	0.85 ± 0.01b
TX19	50	35	200	HND	24	21.78 ± 0.38a,b	0.45 ± 0.01c	0.91 ± 0.01a

a,b,c,d Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre los tratamientos (Fisher;  $p \leq 0.05$ ); °Desviación estándar (95 %); RPM: revoluciones por minuto; HD: hidrolizado detoxificado; HND: hidrolizado no detoxificado; Y<sub>P/S</sub>: Factor de rendimiento y Qp: productividad volumétrica ♦ Different letters in a column indicate significant differences between treatments (Fisher;  $p \leq 0.05$ ); °Standard deviation (95 %); RPM: revolutions per minute; HD: detoxified hydrolysates; HND: non-detoxified hydrolysates; Y<sub>P/S</sub>: Yield factor and Qp: volumetric productivity.

\* Se muestra el tiempo al cual se obtuvo la máxima concentración de xilitol en cada tratamiento ♦ Indicates the time at which the highest concentration of xylitol was reached in each treatment.



Dentro de los métodos más comunes de detoxificación está el ajuste de pH con carbonato de calcio, seguido de adsorción con carbón activado (Carvalho *et al.*, 2005). Greetham *et al.* (2016) mencionan que una concentración baja de ácido acético ejerce un efecto antagónico contra furfural, lo cual permite que la levadura crezca bajo estas condiciones de estrés.

Villarreal *et al.* (2006) realizaron una hidrólisis con residuo hemicelulósico de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) y usaron una cepa de *Candida guilliermondii* encargada de la conversión de xilosa; la máxima concentración de xilitol alcanzada fue 32.7 g L<sup>-1</sup> a las 48 h de fermentación, con un rendimiento de 0.57 g g<sup>-1</sup> y Qp de 0.68 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Mussatto y Roberto (2001) hidrolizaron paja de arroz con 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 121 °C por 20 min y una relación sólido/líquido 1:10, y para la conversión de xilosa por *C. guilliermondii* FTI 20037 usaron 20 g L<sup>-1</sup> de xilosa en los medios de cultivo y obtuvieron 0.72 g g<sup>-1</sup> y productividad volumétrica de 0.61 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Carvalho *et al.* (2006) evaluaron la producción de xilitol por *D. hansenii* en medios a base de hidrolizados ácidos de granos de cervecera, procesaron hidrolizados detoxificados con carbón activado y no detoxificados, y los valores para Y<sub>p/S</sub> obtenidos fueron 0.51 y 0.5 g g<sup>-1</sup> y para Qp 0.29 y 0.33 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en medios detoxificados y no detoxificados, respectivamente. Esas cantidades son menores a las de nuestro estudio: máximos de 1.16 g g<sup>-1</sup> y 1.13 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para Y<sub>p/S</sub> y Qp respectivamente, a las 24 h de fermentación en medio sin detoxificar; en hidrolizado detoxificado los valores de Y<sub>p/S</sub> y Qp máximos fueron 1.18 g g<sup>-1</sup> y 0.79 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. La tendencia en ambos estudios fue similar en cuanto a mayor productividad volumétrica de xilitol desde medios no detoxificados. Huang *et al.* (2011) aislaron la cepa de *C. tropicalis* JH030 desde lodos residuales de una planta productora de bioetanol, evaluaron su crecimiento y producción de xilitol en medios no detoxificados de paja de arroz y reportaron un Y<sub>p/S</sub> = 0.71 g g<sup>-1</sup>. En nuestro estudio los medios a base de bagazo de sorgo blanco variedad RB-Paloma, aún sin detoxificar, son fuente considerable de carbono para el proceso de crecimiento de *D. hansenii* y su conversión de xilosa a xilitol debido a un buen rendimiento y productividad volumétrica, que es superior a lo reportado en otros estudios con materiales lignocelulósicos.

Wang *et al.* (2011) emplearon hidrolizados de mazorca de maíz y realizaron fermentaciones a 150

hydrolysates had a low xylitol yield (0.51 g g<sup>-1</sup>). This may be due to the fact that these processes eliminate inhibiting compounds as well as other compounds, such as minerals that can serve as growth factors for yeast.

The highest concentration of xylitol was 29.23 g L<sup>-1</sup> (Table 6) and was obtained using a non-detoxified hydrolysate, although the detoxification process promotes the ability of fermentation of microorganisms in media based on lignocellulosic hydrolysates (Alriksson *et al.*, 2011; Cavka and Jönsson, 2013). Treatments 1 to 8 are fermentations with detoxified hydrolysates, while treatments 9 to 19 are non-detoxified. After reaching the maximum production of xylitol, the concentration of xylose decreases, due to its conversion into xylitol, since the latter is a primary metabolite, meaning it is related to the growth of yeast; that is, *D. hansenii* uses xylose as a source of carbon to grow and therefore the relation xylose-growth is inversely proportional. Therefore, it is important to establish the optimum time of fermentation, because when the microorganism enters a stationary phase, the concentration of the metabolite decreases.

Some of the most common detoxification methods include adjusting the pH with calcium carbonate, followed by adsorption with active carbon (Carvalho *et al.*, 2005). Greetham *et al.* (2016) mention that a low concentration of acetic acid exerts an antagonistic effect on furfural, which helps yeast grow under these stress conditions.

Villarreal *et al.* (2006) performed a hydrolysis with hemicellulosic eucalyptus (*Eucalyptus grandis*) and they used a strain of *Candida guilliermondii* responsible for the conversion of xylose; the highest concentration of xylitol reached was 32.7 g L<sup>-1</sup> after 48 h of fermentation, with a yield of 0.57 g g<sup>-1</sup> and a Qp of 0.68 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Mussatto and Roberto (2001) hydrolyzed rice hay with 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 121 °C for 20 min and a solid-liquid ratio of 1:10, and for the conversion of xylose by *C. guilliermondii* FTI 20037, they used 20 g L<sup>-1</sup> of xylose in the culture media and they obtained 0.72 g g<sup>-1</sup> and a volumetric productivity of 0.61 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Carvalho *et al.* (2006) evaluated the production of xylitol by *D. hansenii* in media based on acid hydrolysates from beer grains, they processed detoxified and non-detoxified hydrolysates with active carbon, and the values obtained for Y<sub>p/S</sub> were 0.51 and 0.5 g g<sup>-1</sup>, and for Qp, 0.29 and 0.33 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>

y 200 rpm con  $140 \text{ g L}^{-1}$  de xilosa y temperatura de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; la mayor cantidad de xilitol se obtuvo con 200 rpm, y una  $Q_p$  de  $2.12 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  a las 24 h de fermentación. Aunque la productividad volumétrica es el doble de la obtenida en nuestro estudio, la concentración de xilosa empleada es casi cinco veces mayor, lo cual aumenta los costos de producción.

Por último, con las concentraciones máximas de cada tratamiento de fermentación se realizó un ANDEVA multifactorial con 95 % de confianza y no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 7). Así, con estos resultados se estima que no existe diferencia entre utilizar hidrolizados detoxificados o no detoxificados, lo cual significa un aumento potencial en la producción de xilitol con reducción de tiempo, costo y materiales al eliminar el proceso de detoxificación en los hidrolizados.

## CONCLUSIONES

El bagazo de sorgo blanco variedad RB-Paloma puede aprovecharse para obtener xilosa para medios de fermentación. En este estudio se demuestra que no hay diferencia entre la obtención de xilosa en harina gruesa, fina o una mezcla de ellas. La concentración de ácido sulfúrico es el factor de mayor impacto en las hidrólisis, porque al aumentarla se obtiene una mayor concentración de xilosa. En el hidrolizado de bagazo de sorgo RB-Paloma la xilosa presente es una buena fuente de carbono para para la producción de xilitol por *D. hansenii*.

La detoxificación permite reducir el contenido de furfural y ácido acético que en altas concentraciones inhiben el crecimiento de microorganismos para la fermentación; sin embargo, *D. hansenii* pudo

in detoxified and non-detoxified media, respectively. These amounts are lower than those obtained in our study: top values of  $1.16 \text{ g g}^{-1}$  and  $1.13 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  for  $Y_{P/S}$  and  $Q_p$  respectively, after 24 h of fermentation in a non-detoxified medium; in a detoxified hydrolysate, values for  $Y_{P/S}$  and maximum  $Q_p$  were  $1.18 \text{ g g}^{-1}$  and  $0.79 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . The tendency in both studies was similar regarding higher volumetric productivity of xylitol from non-detoxified media. Huang *et al.* (2011) isolated the strain of *C. tropicalis* JH030 from residual sludge from a bioethanol-producing plant, they evaluated its growth and production of xylitol in non-detoxified rice hay media and reported a  $Y_{P/S} = 0.71 \text{ g g}^{-1}$ . In our study, the media based on RB-Paloma white sorghum straw, still not detoxified, are a considerable amount of carbon for the *D. hansenii* growth process and its conversion from xylose to xylitol due to a good yield and volumetric productivity, which is higher to reports from other studies with lignocellulosic materials.

Wang *et al.* (2011) used hydrolysates from maize ears and carried out fermentations at 150 and 200 rpm with  $140 \text{ g L}^{-1}$  of xylose and a temperature of  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; the highest amount of xylitol was obtained with 200 rpm, and a  $Q_p$  of  $2.12 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  after 24 h of fermentation. Although the volumetric productivity is double than the one in our study, the concentration of xylose used is almost five times higher, which increases production costs.

Finally, with the highest concentrations of each fermentation treatment, a multifactorial ANOVA was carried out, with a 95 % confidence and no significant differences were found (Table 7). Therefore, these results help us deduce that there is no difference between using detoxified or non-

**Cuadro 7. Análisis de varianza para xilitol.**  
**Table 7. Analysis of variance for xylitol.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G. L.	Cuadrado medio del error	Razón-F	$p \leq$
Efectos principales					
A: xilosa	53.0942	2	26.5471	3.09	0.0797
B: temperatura	10.1644	1	10.1644	1.18	0.2963
C: rpm	1.113	1	1.113	0.13	0.7246
D: detox	8.42451	1	8.42451	0.98	0.3399
Residuos	111.579	13	8.58298		
Total (corregido)	222.413	18			

metabolizar xilosa en presencia de estos compuestos inhibidores. Lo anterior muestra el potencial de este residuo agrícola para elaborar medios de fermentación, como una alternativa en la producción de xilitol.

### AGRADECIMIENTOS

El autor principal expresa su agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México por la beca otorgada (No. 393704). Este proyecto fue financiado por la Secretaría de Educación Pública (Apoyo a la Incorporación de Nuevos PTC UAT-PTC-169).

### LITERATURA CITADA

- Aguilar R., J. A. Ramírez, G. Garrote, and M. Vázquez. 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *J. Food Eng.* 55: 309-318.
- Allen S. A., W. Clark, J. M. McCaffery, Z. Cai, A. Lanctot, P. J. Slininger, and S. W. Gorsich. 2010. Furfural induces reactive oxygen species accumulation and cellular damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Biofuels* 3: 1-2.
- Alriksson B., A. Cavka, and L. J. Jönsson. 2011. Improving the fermentability of enzymatic hydrolysates of lignocellulose through chemical in-situ detoxification with reducing agents. *Bioresource Technol.* 102: 1254-1263.
- Carvalho F., L. C. Duarte, S. Lopes, J. C. Parajó, H. Pereira, and F. M. Girio. 2005. Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCMI 941. *Process Biochem.* 40: 1215-1223.
- Cavka A., and L. J. Jönsson. 2013. Detoxification of lignocellulosic hydrolysates using sodium borohydride. *Bioresource Technol.* 136: 368-376.
- Chandel A. K., S. S. Da Silva, and O. V. Singh. 2013. Detoxification of lignocellulose hydrolysates: biochemical and metabolic engineering toward white biotechnology. *Bioenergy Res.* 6: 388-401.
- de Albuquerque T. L., I. J. da Silva, G. R. de Macedo, and M. V. P. Rocha. 2014. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: a review. *Process Biochem.* 49: 1779-1789.
- de Arruda P. V., C. L. B. Rodrigues, D. D. V. da Silva, and M. D. G. de Almeida-Felipe. 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: 815-822.
- Field S. J., P. Ryden, D. Wilson, S. A. James, I. N. Roberts, D. J. Richardson, and T. A. Clarke. 2015. Identification of furfural resistant strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* from a collection of environmental and industrial isolates. *Biotechnol. Biofuels* 8: 1-8.
- Greetham D., Hart, A. J., Tucker, G. A. 2016. Presence of low concentrations of acetic acid improves yeast tolerance to hydroxymethylfurfural (HMF) and furfural. *Biomass & Bioenergy* 85:53-60
- detoxified hydrolysates, which means a potential increase in the production of xylitol with a reduction in time, cost, and materials, by eliminating the detoxification process in the hydrolysates.

### CONCLUSIONS

The straw of RB-Paloma white sorghum can be used to obtain xylose for fermentation media. This study shows that there is no difference between the extraction of xylose from fine flour, coarse flour, or a mixture of both. The concentration of sulfuric acid is the factor of the most impact in hydrolysis, because increasing it leads to a higher concentration of xylose. In RB-Paloma sorghum straw hydrolysates, the xylose present is a good source of carbon for the production of xylitol by *D. hansenii*.

Detoxification helps to reduce the amount of furfural and acetic acid, which, in high concentrations, inhibit the growth of microorganisms for fermentation; however, *D. hansenii* was able to metabolize xylose in the presence of these inhibiting compounds. This shows the potential of this agricultural residue in the production of fermentation media as an alternative in the production of xylitol.

—End of the English version—



- Herazo, I. C., D. Ruiz, and G. S. Arrazola. 2009. Bioconversión de xilosa a xilitol por *Candida guilliermondii* empleando cascarilla de arroz (*Oriza sativa*). *Temas Agrarios* 14: 1-18
- Huang, C. F., Y. F. Jiang, G. L. Guo, and W. S. Hwang. 2011. Development of a yeast strain for xylitol production without hydrolysate detoxification as part of the integration of co-product generation within the lignocellulosic ethanol process. *Bioresource Technol.* 102: 3322-3329.
- Koutinas A. A., A. Vlysidis, D. Pleissner, N. Kopsahelis, I. L. Garcia, I. K. Kookos, and C. S. K. Lin. 2014. Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers. *Chem. Soc. Rev.* 43: 2587-2627.
- Mäkinen K. K., and E. Söderling. 1980. A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol and xylose in wild berries and commercial fruits. *J. Food Sci.* 45: 367-371.
- Mussatto S. I., and I. C. Roberto. 2004. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technol.* 93: 1-10.
- López-Linares, J. C., I. Romero, C. Cara, E. Castro, and S. I. Mussatto. 2018. Xylitol production by *Debaryomyces hansenii*

- and *Candida guilliermondii* from rapeseed straw hemicellulosic hydrolysate. *Bioresource Technol.* 247: 736-743.
- Oliva J. M., M. J. Negro, F. Saez, I. Ballesteros, P. Manzanares, A. Gonzalez, A., and M. Ballesteros. 2006. Effects of acetic acid, furfural and catechol combinations on ethanol fermentation of *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochem.* 41: 1223-1228.
- Pal S., V. Choudhary, A. Kumar, D. Biswas, A. K. Mondal, and D. K. Sahoo. 2013. Studies on xylitol production by metabolic pathway engineered *Debaryomyces hansenii*. *Bioresource Technol.* 147: 449-455.
- Pappu, S. M. J., and S. N. Gummadi. 2016. Multi response optimization for enhanced xylitol production by *Debaryomyces nepalensis*. *3Biotech.* 6: 1-10.
- Pappu S. M. J., and S. N. Gummadi. 2017. Artificial neural network and regression coupled genetic algorithm to optimize parameters for enhanced xylitol production by *Debaryomyces nepalensis* in bioreactor. *Biochem. Eng. J.* 120: 136-145.
- Pereira R. S., S. I. Mussatto, and I. C. Roberto. 2011. Inhibitory action of toxic compounds present in lignocellulosic hydrolysates on xylose to xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *J. Industr. Microbiol. Biotechnol.* 38: 71-78.
- Pérez-Bibbins B., R. P. de Souza-Oliveira, A. Torrado, M. G. Aguilar-Uscanga, and J. M. Domínguez. 2014. Study of the potential of the air lift bioreactor for xylitol production in fed-batch cultures by *Debaryomyces hansenii* immobilized in alginate beads. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 98: 151-161.
- Prakasham R. S., R. S. Rao, and P. J. Hobbs. 2009. Current trends in biotechnological production of xylitol and future prospects. *Current trends Biotechnol. Pharm.* 3: 8-36.
- Prakash G., A. J. Varma, A. Prabhune, Y. Shouche, and M. Rao. 2011. Microbial production of xylitol from D-xylose and sugarcane bagasse hemicellulose using newly isolated thermo-tolerant yeast *Debaryomyces hansenii*. *Bioresource Technol.* 102: 3304-3308.
- Sena L. M., C. G. Morais, M. R. Lopes, R. O. Santos, A. P. Uetanabaro, P. B. Morais, and C. A. Rosa. 2017. d-Xylose fermentation, xylitol production and xylanase activities by seven new species of *Sugiyamaella*. *Antonie van Leeuwenhoek.* 110: 53-67.
- Sepúlveda E., S. J. Téllez-Luis, V. Bocanegra-García, J. A. Ramírez, and M. Vázquez. 2006. Production of detoxified sorghum straw hydrolysates for fermentative purposes. *J. Sci. Food Agric.* 86: 2579-2586.
- Téllez-Luis S. J., J. A. Ramírez, and M. Vázquez. 2002. Mathematical modelling of hemi-cellulosic sugar production from sorghum straw. *J Food Eng.* 52: 285-291.
- Vernacchio L., M. J. Corwin, R. M. Vezina, S. I. Pelton, H. A. Feldman, T. Coyne-Beasley, and A. A. Mitchell. 2014. Xylitol syrup for the prevention of acute otitis media. *Pediatrics* 133: 289-295.
- Villarreal M. L. M., A. M. R. Prata, M. G. A. Felipe, and J. A. E. Silva. 2006. Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Enzyme Microb. Technol.* 40: 17-24.
- Wang L., M. Yang, X. Fan, X. Zhu, T. Xu, and Q. Yuan. 2011. An environmentally friendly and efficient method for xylitol bioconversion with high-temperature-steaming corncob hydrolysate by adapted *Candida tropicalis*. *Process Biochem.* 46: 1619-1626.