



Influencia del medio fermentativo en el consumo de xilosa por *Candida intermedia* a partir de hidrolizados de bagacillo de caña de azúcar

Influence of the fermentation medium on the consumption of xylose by *Candida intermedia* from hydrolyzed sugarcane bagasse.

Ulda Campos-Felix¹; Keyla Llontop-Bernabé²; Armando Efraín Gil-Rivero^{2,*}; Luigi Villena-Zapata³; José Cruz-Monzón⁴

1 Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Hermilio Valdizan. Av. Universitaria 601 - 607 Cayhuayna - Pilco Marca - Huánuco.

2 Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Ciudad Universitaria, Av. Juan Pablo II S/N, Trujillo- Perú.

3 Facultad de Ciencias Naturales y Aplicadas. Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua

4 Facultad de Ingeniería Química. Laboratorio de Investigación de Tecnologías Limpias y Emergentes. Universidad Nacional de Trujillo. Ciudad Universitaria, Av. Juan Pablo II S/N, Trujillo- Perú.

*Autor correspondiente: arivero@unitru.edu.pe (A. E. Gil- Rivero).

ID ORCID de los autores

U. Campos-Felix:  <https://orcid.org/0000-0002-7945-3664>

K. Llontop-Bernabé:  <https://orcid.org/0000-0002-6164-3144>

A. E. Gil- Rivero:  <https://orcid.org/0000-0002-4521-5588>

L. Villena-Zapata:  <https://orcid.org/0000-0001-9430-0028>

J. Cruz-Monzón:  <https://orcid.org/0000-0001-9146-7615>

RESUMEN

El bagazo de la caña de azúcar es materia prima para la obtención diversos compuestos como la xilosa, la cual ha tomado mucha importancia en la industria alimentaria, farmacéutica y odontológica. Ante la necesidad de investigar la vía biotecnológica de conversión, se propuso como objetivo evaluar la influencia del medio fermentativo en el consumo de xilosa por *Candida intermedia* a partir de hidrolizados de bagacillo de caña de azúcar. La fase experimental incluyó el aislamiento, purificación e identificación molecular de *Candida Intermedia*. Para la obtención de azúcares fermentables se aplicó hidrólisis ácida con H₂SO₄, mientras que, en el proceso de fermentación, se evaluó el efecto del pH y de la temperatura. El seguimiento de producción de xilitol y consumo de xilosa se realizó mediante la cromatografía líquida de alta eficiencia con detector UV. Los resultados mostraron que, las mejores condiciones de fermentación para el consumo de xilosa suceden a pH 6 y a temperatura de 24 °C, logrando reducciones desde 27,88 g/L a 1,64 g/L por *Candida intermedia*. Se recomienda profundizar en el estudio de la optimización de las condiciones de consumo de xilosa que afectan su biotransformación en xilitol.

Palabras clave: caña de azúcar; pH; temperatura; hongo; biotecnología; producción.

ABSTRACT

Sugarcane bagasse is raw material for obtaining various compounds such as xylose, which has become very important in the food, pharmaceutical and dental industries. Given the need to investigate the biotechnological conversion pathway, the objective was to evaluate the influence of the fermentative medium on the consumption of xylose by *Candida intermedia* from hydrolyzed sugarcane bagasse. The experimental phase included the isolation, purification and molecular identification of *Candida Intermedia*. To obtain fermentable sugars, acid hydrolysis with H₂SO₄ was applied, while in the fermentation process, was evaluated the effect of pH and temperatures. The monitoring of xylitol production and xylose consumption was carried out by means of liquid chromatography of higher efficiency with UV detector. The results showed that the best fermentation conditions for the consumption of xylose occur at pH 6 and at a temperature of 24 °C, achieving reductions from 27.88 g/L to 1.64 g/L by *Candida intermedia*. It is recommended to deepen the study of the optimization of xylose consumption conditions that affect its biotransformation into xylitol.

Keywords: Sugar cane; pH; temperature; fungus; biotechnology; production.

Recibido: 05-06-2021.

Aceptado: 04-09-2021.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

INTRODUCCIÓN

Los comunes destinos de los residuos lignocelulósicos procedentes de la cosecha y poda, es ser reincorporados directamente al suelo, o ser mezclados con forrajes para alimentación animal, mientras que en algunos casos se recurre a quema y/o abandono de los mismos (Depuis, 2012; Diaz, 2020; Morales et al., 2021). El bagazo es uno de los residuos más abundantes de los países productores de caña de azúcar, el cual resulta de exprimir el tallo de planta, dejándose a la intemperie, donde es susceptible a procesos fermentativos por acción de bacterias y hongos (Basandra et al., 2007; Roca, 2016). Estos desechos lignocelulósicos son fuente de energía renovable y materia prima para la producción de xilosa, la cual por procesos de hidrólisis puede dar origen al xilitol (Amaguaya & Bastidas, 2020; Campo, 2018; Geijer et al., 2020; Ramírez et al., 2012).

La xilosa, también conocida como el azúcar de la madera, se obtiene a partir de productos hemicelulósicos como frutas, bayas, vegetales. A nivel industrial ha tomado importancia para la producción de alimentos, además de ser utilizada en la industria farmacéutica y odontológica (Morales & Yumbillo, 2020; Rodríguez, 2007; Olazábal et al., 2015). La xilosa es un monosacárido de 5 átomos de carbonos, se caracteriza por ser soluble al agua y con poder edulcorante similar a la

sacarosa, motivo por el cual constituye una buena opción para personas con obesidad y diabetes, debido a su bajo contenido calórico (Carvalho et al., 2003; Cerioni et al., 2019; Vallejos & Area, 2017).

Para la liberación de xilosa y hemicelulosa, se emplean ácidos fuertes o débiles, los cuales, al combinarse con factores como el tiempo y la temperatura, condicionan la eficiencia del producto final (Guerra et al., 2019; Manzoor et al., 2012; Sun et al., 2016). La xilosa por procesos de hidrogenación catalítica da origen al xilitol, para ello se requiere de una biomasa lignocelulósica y de levaduras capaces de crecer en medios ricos en xilosa y generar xilitol (Castro, 2020; Ramírez et al., 2012). Destacando las levaduras de los géneros *Candida* y *Trichosporon*, las cuales son capaces de fermentar biomasa lignocelulósica (Beltrán et al., 2020; Demichelis, 2018; García & Quinteros, 2020). El xilitol se caracteriza por ser un edulcorante no calórico de mucho interés comercial y del cual su demanda es creciente en el mundo (De la Riva et al., 2015; Morales & Yumbillo, 2020).

Ante la necesidad de un mayor conocimiento en esta área, se propuso como objetivo determinar la influencia del medio fermentativo en el consumo de xilosa por *Candida intermedia* a partir de hidrolizados de bagacillo de caña de azúcar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación y selección de *Candida intermedia*

Se colectaron flores y residuos de árboles frutales, de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de Trujillo, siendo acondicionadas para su trituración y homogenización, y de donde se transfirió 2 mL a matraces con medio YMC. El periodo de incubación fue de 1 semana, a una temperatura de a 30 °C. Luego se tomó 1 mL de muestra y se realizó una dilución (10^{-3}). Se sembró por superficie en medio de cultivo agar Sabouraud y medio YMC, y se mantuvo en observación por una semana. Se tomó 1 mL de muestra y se realizaron 3 diluciones sucesivas (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). De la última dilución se transfirió 100 uL y con un asa de Drigalsky se sembró por superficie en medio agar Sabouraud y medio YMC, que contenía 40 g glucosa/L, 10 g peptona/L, 20 g xilosa/L, 0,05 g cloranfenicol/L y 15 g agar/L. Ambos medios fueron regulados a pH 5, dejándose en incubación a 30 °C durante una semana. A partir de las colonias que crecieron, se purificaron hasta obtener 3 colonias aisladas, las cuales fueron cultivadas en medio *Chromoagar candida*, por otro lado, también se separó una muestra para su identificación molecular. A las 18 horas, las cepas purificadas fueron sembradas en un medio de cultivo que

estuvo compuesto por 20 g xilosa/L, 2 g glucosa/L, 15 g KH_2PO_4 /L, 3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /L, 1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /L y a pH de 4,5 con una temperatura de 30 °C y 200 RPM por 72 horas (Figura 1). Concluido el periodo de tiempo, se centrifugó y se guardó el sobrenadante a -30 °C.



Figura 1. Cepas de levaduras sembradas en medio *Chromoagar candida*.

Preparación de hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar

La hidrólisis ácida se realizó con H_2SO_4 , a 115 °C por 17 minutos y con 3 tratamientos. Para ello se empleó frascos con tapa rosca, 30 g de bagacillo de caña de azúcar, agua destilada y H_2SO_4 cc, tal como se detalla en la tabla 1. Luego de salir de la autoclave, se filtró y se preservó en refrigeración 4 °C.

Tabla 1

Pruebas para la optimización del hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar

Tratamiento	Bagacillo caña de azúcar (g)	Agua (mL)	H ₂ SO _{4cc} (mL)
1	30	720	6
2	30	720	3
3	30	500	3

Para la detoxificación del filtrado obtenido del hidrolizado, se regula el pH con perlas de hidróxido de sodio y H₂SO_{4cc}, ajustándose a pH 5. Obteniéndose un precipitado el cual fue centrifugado a 9000 RPM por 12 minutos. Luego se tomó una muestra de 3 mL, para la medición de la cantidad de azúcares obtenidos, empleándose espectrofotómetro.

Proceso fermentativo y producción de xilosa

Para la preparación de los medios de cultivo se utilizaron 750 mL de hidrolizado detoxificado, procedente del tratamiento 2 y una solución de sales, la cual estuvo compuesta por 750 mL de agua destilada, 2 g/L glucosa, 15 g/L KH₂PO₄, 3 g/L (NH₄)₂SO₄, 1 g/L MgSO₄·7H₂O, luego fue autoclavado por 15 minutos a 121 °C, considerándose como variable el pH de 5, 6 y 7 y la temperatura de 24, 28 y 32 °C (Tabla 2).

Tabla 2

Diseño experimental producción y consumo de xilosa, por *Candida intermedia*

Tratamiento	pH	Temperatura °C
1	5	24
2	6	24
3	7	24
4	5	28
5	6	28
6	7	28
7	5	32
8	6	32
9	7	32

Para el proceso de fermentación a los medios de cultivo se transfirió 10 mL de inóculo (10%v/v) con un OD600 de 1,0 en 90 mL de medio y se incubó durante las primeras 24 horas a 240 RPM. Se regula el pH empleando NaOH y para favorecer el crecimiento de *Candida intermedia* se mantuvo una agitación de 200 RPM durante las primeras 24 horas, luego se mantuvo a 100 RPM para facilitar la producción. Para la cuantificación y consumo de xilosa, se empleó un sistema de cromatografía líquida HPLC-UV con un equipo UHPLC Thermo Scientific UltiMate 3000 Rapid Separation y una columna Shodex SUGAR SP0810, considerándose una fase móvil 89% agua y 11% acetonitrilo, flujo es 0.700 ml/min, temperatura de columna 80 °C, temperatura del detector 50 °C e inyección de 10 ul durante 45 minutos.



Figura 2. Hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar después de salir de la autoclave por 15 minutos a 121 °C.

Análisis estadístico

Se empleó un diseño factorial de 3², evaluándose la optimización del hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar y la producción y consumo de xilosa a partir de un pH de 5, 6 y 7 y 24, 28 y 32 °C, por *Candida intermedia*. Los resultados fueron analizados con el software libre RStudio versión 4.0.3., estimándose la media, desviación estándar y coeficiente de variación, además de emplearse la prueba de ANOVA de Welch, Games-Howell y post hoc de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la extracción de la xilosa se empleó bagazo de caña de azúcar, a través de una hidrólisis ácida. Empleándose 3 tratamientos, con diferente volumen de agua y concentración de ácido sulfúrico (Figura 3 y Tabla 3). Comprobándose que el tratamiento 1 (720 ml de agua + 6 ml de ácido sulfúrico), tuvo un efecto negativo en la cantidad de azúcares reductores generados, debido a la generación de furfural, ácido acético y hidroximetilfurfural. Estos compuestos son altamente nocivos ya que inhiben el crecimiento de *Candida intermedia*, siendo necesario la realización de procesos de detoxificación empleando hidróxido de sodio. Sin embargo, cabe resaltar que investigaciones de Ledezma et al. (2018), sostienen que el hidróxido de sodio puede disminuir en un 72% la generación de ácido acético y furfural (González & Barbosa, 2018; Parejas, 2019; Villarreal et al., 2006).

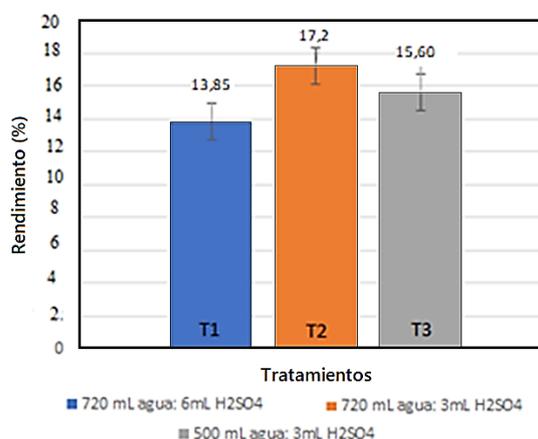


Figura 3. Rendimiento promedio para la optimización del hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar.

Tabla 3

Estadística de la optimización del hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar y la producción de xilosa, según variable y tratamiento

Variable	Tratamiento	Media (L1;L2)*	Des.Est.**	CV (%)**
W muestra	T1	30,042 (29,989;30,095)	0,050	0,166
	T2	30,152 (29,995;30,309)	0,150	0,498
	T3	30,032 (30,011;30,052)	0,019	0,063
Volumen recuperado (mL)	T1	659,000 (638,190;679,81)	19,829	3,01
	T2	668,830 (660,430;677,240)	8,010	1,198
	T3	433,33 (424,140;442,520)	8,756	2,021
Azúcares Reductores Totales (g/L)	T1	6,322 (5,641;7,002)	0,649	10,266
	T2	7,390 (7,276;7,504)	0,109	1,475
	T3	10,807 (9,787;11,826)	0,972	8,994
Rendimiento (%)	T1	13,837 (12,641;15,033)	1,140	8,239
	T2	16,389 (16,157;16,620)	0,220	1,342
	T3	15,597 (14,018;17,177)	1,505	9,649
Producción de xilosa (S) g/L	T1	20,350 (12,472;28,228)	0,877	4,310
	T2	1,635 (0;6,908)	0,587	35,902
	T3	4,405 (2,944;5,867)	0,163	3,700
	T4	18,260 (16,227;20,293)	0,226	1,238
	T5	3,740 (1,834;5,656)	0,212	5,668
	T6	6,720 (5,831;7,609)	0,099	1,473
	T7	18,980 (4,114;33,846)	1,655	8,720
	T8	8,365 (7,160;9,572)	0,134	1,602
	T9	9,305 (7,717;10,893)	0,177	1,902

Tabla 4

Análisis de varianza de la optimización del hidrolizado de bagacillo de caña de azúcar, según variables de estudio, tratamiento y grupos homogéneos

Variable	p-valor*	Promedios (Grupos homogéneos)**		
		T1	T2	T3
W muestra	0,228 ¹	30,04a	30,15a	30,03a
Volumen recuperado (mL)	0,000 ¹	659,00a	668,83a	433,33b
Azúcares Reductores Totales (g/L)	0,000 ¹	6,32c	7,39b	10,81a
Rendimiento (%)	0,000 ²	13,84b	16,39a	15,60a

1 Se hizo uso del Análisis de Varianza de Welch y la identificación de grupos homogéneos con Games-Howell.

2 Se hizo uso del Análisis de Varianza Unifactorial y la identificación de grupos homogéneos con post hoc de Duncan.

*El p-valor es significativo al 5% ($p < 0,05$).

** Las medias con letras diferentes son significativamente diferentes.

En la Tabla 4 se visualiza el uso de la prueba de ANOVA de Welch, para las variables W muestra, Volumen recuperado (mL), Azúcares Reductores Totales (g/L) y rendimiento (%), para la variable Volumen recuperado (mL), el p-valor de significancia resultó ser un valor menor que 0,05 ($p = 0,000 < 0,05$), siendo los tratamientos T1 y T2, quienes no presentaron diferencia significativa así mismo, para la variable Azúcares Reductores Totales (g/L), el p-valor adjunto resultó ser menor que 0,05 ($p = 0,000 < 0,05$), lo que indica la existencia de diferencia significativa entre sus medias, donde el tratamiento T3, presentó un valor medio significativamente mayor. Por otro lado para la

variable Rendimiento (%), el p-valor de la prueba de ANOVA unifactorial, alcanzó un valor menor que 0,05 ($p = 0,000 < 0,05$), rechazando la hipótesis de igual de medias, siendo los tratamientos T2 (720 ml de agua + 3 ml de ácido sulfúrico) y T3 (500 ml de agua + 3 ml de ácido sulfúrico), quienes no presentaron diferencia significativa entre sus medias, además de presentar los mayor rendimientos (%) promedios significativamente más altos, según la prueba post hoc de Duncan, sin embargo, cabe resaltar que el tratamiento 2 obtuvo el mayor rendimiento promedio (Morales et al., 2018; Sheldon, 2007; Velázquez et al., 2020).

Tabla 5Análisis de varianza para el consumo de xilosa por *Candida intermedia*, según variables de estudio, tratamiento y grupos homogéneos

Variable	p-valor*	Promedios (Grupos homogéneos) ***								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Xilosa (S) g/L	0,000 ¹	20,350a	1,635f	4,405e	18,260ab	3,740e	6,720d	18,980ab	8,365c	9,305c

1 Se hizo uso del Análisis de Varianza de Welch y la identificación de grupos homogéneos con Games-Howell.

* El p-valor es significativo al 5% ($p < 0,05$).

** Las medias con letras diferentes son significativamente diferentes.

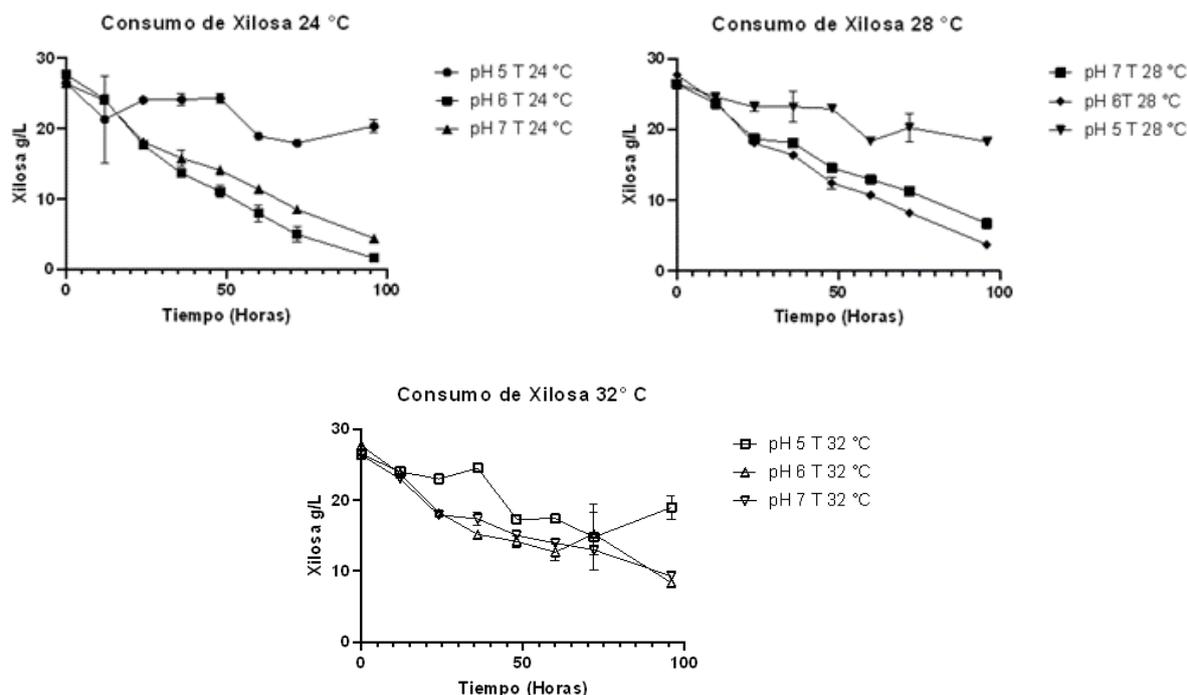


Figura 4. Consumo de xilosa a pH 5, 6 y 7 y 24, 28 y 32 °C a partir de hidrolizado de caña de bagazo por *Candida intermedia*.

Por otro lado, la tabla 5 permite visualizar el p-valor de significancia asociado a la prueba de ANOVA de Welch de la variable Xilosa (S) g/L, siendo un valor menor que 0,05 ($p = 0,000 < 0,05$), lo que permite concluir que existe diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el tratamiento 1 (T1), quien presentó la media significativamente mayor, sin embargo empleándose la prueba post hoc de Games-Howell, se identificó que el tratamiento 2 (pH 6 y temperatura 24 °C), permitió favorecer el consumo de xilosa de 27,88 g/L a 1,64 g/L por *Candida intermedia* (Figura 4), lo cual es indicador que las condiciones óptimas favorecen el consumo de la xilosa y que posiblemente favorezcan la producción de xilitol por *Candida intermedia* (Flores et al., 2017; Galindo, 2020; Wu et al., 2018). Ya que parámetros como el pH y temperatura son determinantes en la inhibición o activación de un sustrato y en la generación de un determinado producto (Reyes et al., 2016). Cabe resaltar que otras investigaciones sostienen el uso de otros hongos como *Candida fermentai* y *Trichosporon pullalans*, los cuales cuentan con la capacidad de fermentar hidrolizados hemicelulósicos procedentes de la caña de azúcar (Demichelis, 2018). Sin embargo, la región La Libertad,

genera una gran diversidad de residuos lignocelulósicos, a consecuencia del procesamiento de espárrago, maíz, alcachofa, caña de azúcar y cascara de arroz, todos con la potencialidad de ser usados como materia prima (Bardales et al., 2015). Por otro lado, investigaciones de Rangel et al. (2009) afirman que temperaturas entre los 125 y 130 °C, optimizan la producción de xilosa, liberado durante el proceso de hidrólisis hasta 42,4 gL⁻¹. Cabe resaltar que investigaciones que emplearon (en el hidrolizado) sustratos conformados por paja de arroz, trigo y eucalipto, obtuvieron 18,3 gL⁻¹, 24,3 gL⁻¹ y 10,6 gL⁻¹ de xilosa (Chávez & Rojas, 2019; Martínez, 2002). Si bien *Candida intermedia* tiene una alta capacidad de absorción y conversión de varios azúcares lignocelulósicos, cabe resaltar que investigaciones de Moreno et al. (2017), Moreno et al. (2019) y Geijer et al. (2020), sostienen que para la obtención de microorganismos que puedan convertir fácilmente las fracciones celulósica y hemicelulósicos en producto el mejoramiento genético constituye se la principal herramienta de solución, para lograr una producción económicamente rentable.

CONCLUSIONES

Se concluye que el medio fermentativo con un pH de 6 y temperatura de 24°C, favorece el consumo de xilosa de 27,88 g/L a 1,64 g/L, por *Candida intermedia* a partir de hidrolizados de bagacillo de caña de azúcar. Se

recomienda profundizar en el estudio de la optimización de las condiciones de consumo de xilosa que afectan su biotransformación en xilitol.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial al Laboratorio de Investigación de Tecnologías Limpias y Emergentes, de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la

Universidad Nacional de Trujillo, por facilitar sus instalaciones para la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaguaya, L., & Bastidas, V. (2020). Determinación de la cinética química del proceso de obtención de furfural mediante la hidrólisis ácida de los residuos lignocelulósicos "*Saccharum officinarum*". (Tesis pregrado). Universidad de Guayaquil. Ecuador.
- Beltrán, L., Hernández, S., Maldonado, I., Reyes, C., Contreras, I., & Castro, C. (2020). Valorisation of agroindustrial residues acid hydrolyzates as carbon sources for ethanol production by native yeast strains with different fermentative capabilities. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 22(2), 78-87.
- Bardales, C., Ruiz, C., & León, C. (2015). Evaluación de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales del Departamento La Libertad, Perú como potenciales materias primas para la obtención de bioetanol. *Arnaldea*, 22(1), 225-232.
- Campo, Y., Clemencia, D., & Ibarra, E. (2018). Aprovechamiento de la cascarilla de arroz para la obtención del xilitol con pretratamiento con ultrasonido. *Revista Distancia al Día*, 7(1), 41-45.
- Carvalho, W., Silva, S., Santos, J., & Converti, A. (2003). Xilitol production by ca-alginate entrapped cells: comparison of different fermentation systems. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 553-559.
- Castro, P. (2020). Estudio de la producción de xilitol a partir de residuos de fruta: experimentos preliminares y revisión de literatura. (tesis pregrado). Universidad de Los Andes. Colombia.
- Chávez, T., & Quezada, M. (2019). Influencia de la concentración de ácido sulfúrico y el tiempo en hidrólisis de peladilla de espárrago (*Asparagus officinalis* L.) y brácteas de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) para obtención de xilosa. (Tesis pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Cerioni, J., Nichio, N., & Santori, G. (2019). Producción de xilitol a partir de la hidrogenación de xilosa en fase acuosa con catalizadores de níquel. 5° Jornada ITE. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata.
- De la Riva, G., Colli, J., & Juárez, E. (2015). Clonación y caracterización del gen codificador del transportador de xylose de *Debranomyces hansenii* en *E.coli*. *Revista Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2(4), 561-567.
- Demichelis, P. (2018). Selección de levaduras productoras de etanol y xilitol a partir de hidrolizado de eucalipto. (tesis pregrado). Universidad de la República de Uruguay. Montevideo, Uruguay.
- Díaz, D. (2020). Ingeniería metabólica para la producción de biolípido a partir de residuos industriales ricos en xilosa en *Ashbya gossypii*. (Tesis posgrado). Universidad de Salamanca, España.
- Flores, E., Guadalupe, M., & Villasis, M. (2017). El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. Estadística inferencial. *Revista Alergia México*, 64(3), 364-370.
- Galindo, H. (2020). Estadística para no estadísticos: una guía básica sobre la metodología cuantitativa de trabajos académicos. Editorial 3Ciencias. Alcoy, España.
- García, J., & Quinteros, O. (2020). Caracterización del bagazo de caña de azúcar de variedades del ingenio azucarero Tababuela para bioenergía. (Tesis pregrado). Universidad Técnica del Norte. Ecuador.
- Geijer, C., Faria, F., Moreno, A., Stenberg, S., Mazurkewich, S., & Olsson, L. (2020). Genomic and transcriptomic analysis of *Candida intermedia* reveals the genetic determinants for its xylose-converting capacity. *Biotechnol Biofuels*, 13, 48.
- González, J., & Barbosa, E. (2018). Estudio de la obtención de carbón sulfonado y producción preliminar de furfural a partir de soluciones de xilosa. (Tesis pregrado). Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Colombia.
- Guerra, L., Zorro, A., Rosselló, C., & González, E. (2019). Liberación de xilosa y hemicelulosas en pretratamientos al bagazo de caña con empleo de ácido cítrico. *Centro azúcar*, 46(2), 1-10.
- Ledezma, E., Ruíz, R., Bustos, G., Montes, N., Roa, V., & Rodríguez, G. (2018). Producción de xilitol a partir de hidrolizados ácidos no detoxificados de bagazo de sorgo por *Debaryomyces hansenii*. *Agrociencia*, 52, 1095-1106.
- Manzoor, A., Zia-Ullah, K., Hussain, A., Uzma, S., Qurat-ul-Ain, S., & Baig, S. (2012). Diluted sulfuric acid: a cheap acid for optimization of bagasse pretreatment. *Science International (Lahore)*, 24 (1), 41-45.
- Martínez, E., Villareal, L., Almeida e Silva, J., Solenzal, A., Canilha, L., & Mussatto, S. (2002). Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(5), 295-301.
- Morales, M., Mesa, L., Ley, N., De Armas, A., Acosta, D., González, E. (2021). Estudios previo inversionistas para la producción de furfural-etanol y tableros a partir de bagazo de caña de azúcar. *Revista ION*, 34(2):17-29.
- Morales, M., & Yumbillo, D. (2020). Determinación de la eficiencia del proceso de purificación de hidrolizados de la biomasa residual del bagazo de caña de azúcar. (Tesis pregrado). Universidad de Guayaquil. Ecuador.
- Morales, L., Castillo, O., Acosta, R., Garza, E., & Rodríguez, G. (2018). Aprovechamiento de bagazo de caña de azúcar para obtención de furfura. *Inventio, La génesis de la cultura universitaria en Morelos*, 34(1), 39-43.
- Moreno, A., Carbone, A., Pavone, R., Olsson, L., & Geijer, C. (2019). Evolutionary engineered *Candida intermedia* exhibits improved xylose utilization and robustness to lignocellulose-derived inhibitors and ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103, 1405-1416.
- Moreno, A., Tellgren, C., Soler, L., Dainat, J., Olsson, L., & Geijer, C. (2017). Complete Genome Sequences of the Xylose-Fermenting *Candida intermedia* Strains CBS 141442 and PYCC 4715. *Genome Announc*, 5(14), e00138-17.
- Parejas, A. (2019). Procesos de revalorización catalizada de xilosa vía furfural sobre sistemas basados en MgO, ZrO₂ y TiO₂. (Tesis posgrado). Universidad de Córdoba, Argentina.
- Ramírez, A., Rojas, O., Álvaro, P., & Vega, J. (2012). Obtención de xilosa a partir de desechos lignocelulósicos de la producción y proceso industrial de la piña (*Ananas comusus*). *Uniciencia*, 26, 75-89.
- Rangel, E., Guzmán, F., Gómez, J., & Aguilar, M. (2009). Establecimiento de las condiciones de hidrólisis del bagazo de caña para la obtención máxima de xilosa y mínima de inhibidores. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
- Reyes, J., Quintana, P., Coronado, C., & Castro, A. (2016). Simulación del proceso de producción de bioetanol a partir de la mezcla glucosa/xilosa incluyendo los efectos de temperatura, pH y concentración de azúcares. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1), 1-9.

- Roca, W. (2016). Caracterización de variedad caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) en los componentes estructurales agronómicos para la producción biotecnológica de alimento animal en la fabricación de *Saccharina rustica* como suplemento alimenticio en el Cantón Junín, Ecuador. (Tesis pregrado). Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Rodríguez, T. (2007). Evaluación de la producción de xilitol a nivel piloto, por vía fermentativa a partir de xilosa comercial. Tesis para adoptar la Licenciatura de Tecnología en Alimentos. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Sheldon, M. (2007). Introducción a la estadística. Editorial Reverte. Barcelona, España.
- Sun, S., Sun, S., Cao, X., & Sun, R. (2016). The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, 199, 49-58.
- Olazábal, R., Suárez, E., Sánchez, A., Valdés, J., & Martínez, A. (2015). D-Xilosa y Glucosa a partir de residuos de la Industria Azucarera. *Revista Científica de la UCSA*, 2(2), 6-22
- Vallejos, M., & Area, M. (2017). Chapter 12 - xylitol as bioproduct from the agro and forest biorefinery. *Food Bioconversion*, 2017, 411- 432.
- Velázquez, L., López, L., Bolaños, E., & Illescas, O. (2020). Simulación dinámica del proceso de remoción de hemicelulosa y producción de xilosa a partir de residuos agroindustriales. XLI Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.
- Villarreal, M., Prata, A., Felipe, M., & Silva, J. (2006). Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Enzyme Microb. Technol.*, 40, 17-24.
- Wu, J., Hu, J., Zhao, S., He, M., Hu, G., Ge, X., & Peng, N. (2018). Single-cell Protein and Xylitol Production by a Novel Yeast Strain *Candida intermedia* FL023 from Lignocellulosic Hydrolysates and Xylose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 185, 163-178.