

EFFECTO DE LA ELECTROFERMENTACIÓN Y ROJO NEUTRO EN LA PRODUCCIÓN DE XILITOL POR *SCHEFFERSOMYCES STIPITIS*.

Keila Monzón¹, Aldo Amaro¹, Germán Aroca², Carlos Regalado¹, Blanca García¹, Jorge Gracida¹, ¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Querétaro, México, CP. 76000. ²Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile, kjmo-1993@hotmail.com.

Palabras clave: Electrofermentación, xilosa, cofactores.

Introducción. El xilitol es un azúcar de cinco carbonos, sustituto de la sacarosa independiente de insulina que tiene menor valor calórico (2.4 cal g⁻¹) (Ghaffar et al., 2017). Puede obtenerse mediante fermentación de xilosa utilizando la levadura *Scheffersomyces stipitis*, la cual tiene capacidad nativa de fermentar pentosas. Primero la xilosa se reduce a xilitol a través de una xilosa reductasa dependiente de NAD(P)H y luego se oxida a xilulosa con una xilitol deshidrogenasa (NAD) (Agbogbo y Coward-Kelly, 2008). Se ha reportado rendimiento del 2.02 g/L al utilizar una mezcla de glucosa y xilosa como fuente de carbono (Santos et al., 2016). Sin embargo la producción de xilitol es baja, se cree que al aplicar voltaje al medio de fermentación se modifica el potencial óxido-reducción extracelular por suministro de energía proceso conocido como electrofermentación (EF) (Shin et al., 2002) o mediante el uso de rojo neutro (RN) el cual funciona como mediador de electrones entre el electrodo y el microorganismo permitiendo un equilibrio de los cofactores NAD⁺/NADH.

Por lo anterior el objetivo fue evaluar el efecto del voltaje y RN en la fermentación de xilosa sobre la producción de xilitol usando *Scheffersomyces stipitis*.

Metodología. Se cultivó la levadura *S. stipitis* en medio líquido YPX como lo reporta Santos et al. (2016), a 150 rpm. Se inóculo el reactor H con 10 mL de *S. stipitis* tal como lo reporta Park et al., 2005 con extracto enzimático el cual fue obtenido mediante centrifugación a 5,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. La pastilla celular se lavó 2 veces con tampón fosfato 50 mM pH 6.5, después se agregó 25 mL del tampón fosfato 50 mM y se aplicó ultrasonido bajo las siguientes condiciones: 5 minutos de pulso y 2 minutos sin pulso durante 4 ciclos. Se aplicó un voltaje de -0.7 V, agitación magnética durante 120 h, además de esto se incluyeron dos frascos controles los cuales consistieron del mismo medio de cultivo e inóculo pero uno con RN pero sin la aplicación de voltaje (CR) y otro sin RN y sin la aplicación de voltaje (C). De los tres reactores se tomaron muestras cada 12 horas para posteriormente analizar el consumo de xilosa, xilitol, ácido acético y etanol mediante HPLC como lo reporta Melo, 2017. Los experimentos se realizaron por duplicado.

Resultados.

En la Figura 1 se puede observar el consumo de xilosa, se observa que el mayor consumo de xilosa a las 72 h fue

cuando se aplico el voltaje y se utilizo el mediador así mismo en la Tabla 1 se muestra los rendimientos de xilitol, ácido acético y etanol del extracto enzimatico, se observa que la mayor producción de xilitol se obtuvo cuando se utilizo mediador pero sin la aplicación de voltaje, sin embargo a pesar de observar esa tendencia el análisis estadístico muestra que no existe diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en ninguno de los parametros evaluados, por lo que se debe evaluar otro voltaje, alargar el tiempo de fermentación y aumentar el numero de replicas, dado que se ha reportado que estas tecnicas pueden permitir el transporte de electrones con ventajas como el bajo potencial de reducción estándar similar al de NAD/NADH, (Im et al., 2018).

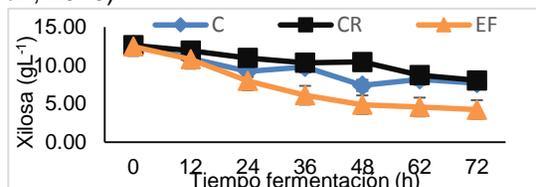


Fig. 1. Consumo de xilosa por extracto enzimático de *S. stipitis* durante 72 horas, bajo EF (-700 mV) y rojo neutro como mediador (EF), fermentación con rojo neutro y sin aplicación de voltaje (CR), fermentación sin rojo neutro y sin aplicación de voltaje (C).

Tabla 1. Rendimiento de xilitol, ácido acético y etanol del extracto enzimático de *S. stipitis* a las 72 horas, bajo EF (-700 mV) y rojo neutro como mediador (EF), fermentación con rojo neutro y sin aplicación de voltaje (CR), fermentación sin rojo neutro y sin aplicación de voltaje (C).

	Rendimientos Yp/s		
	Xilitol	Ácido acético	Etanol
EF	0.02 ± 0.02 a	0.13 ± 0.05 a	0.33 ± 0.11 a
CR	0.05 ± 0.02 a	0.17 ± 0.08 a	0.38 ± 0.12 a
C	0.03 ± 0.02 a	0.11 ± 0.02 a	0.43 ± 0.10 a

Conclusiones. Se debe de evaluar otro voltaje y aumentar el tiempo de fermentación que permita el aumento de la producción de xilitol por *S. stipitis*.

Agradecimientos. Al FOFI-UAQ y al CONACYT por la beca otorgada No. 627353.

Bibliografía.

- Ghaffar et al. (2017). *Chem. Central J.*, 11(1), 1–6.
- Agbogbo, F. K., & Coward-Kelly, G. (2008). *Biotech. Letters*, 30(9), 1515–1524.
- Santos et al. (2016). *Bioresource Technol.*, 219, 319–329
- Shin et al. (2002). *Appl Microbiol Biotechnol.*, 58:476–481.
- Park et al. (2005). *J. microbiology.*, 451–455.

