

## Utilización de *Candida guilliermondii* aislada del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) en la producción de xilitol

### Utilization of *Candida guilliermondii* isolated of corozo chiquito (*Bactris guineensis*) in the production of xylitol

Irina Cristina Herazo Camaño\*, Danella Ruiz Cárdenas\*\*,  
Guillermo Segundo Arrázola Paternina\*\*\*

---

#### Resumen

La levadura *Candida guilliermondii* es objeto de estudio debido a su capacidad de producir xilitol aprovechando compuestos hemicelulósicos ricos en xilosa, dado esto, la cepa *Candida guilliermondii* aislada del fruto del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) fue usada en este estudio con el fin de evaluar su capacidad para producir xilitol sobre un sustrato hidrolizado de cascarilla de arroz. El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros fermentativos como producción de xilitol, productividad volumétrica ( $Q_p$ ) y rendimiento de sustrato en producto ( $Y_{p/s}$ ) durante la fermentación con la cepa nativa *Candida guilliermondii*. Se emplearon 200 ml de medio de cultivo hidrolizado de cascarilla de arroz, el cual contenía una concentración de xilosa de 27,5 g/L. La fermentación se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones: temperatura 30 °C, pH del medio 5,8, agitación 120 rpm e inóculo adaptado de 3 g/L. Los resultados mostraron que después de 120 horas de fermentación se obtuvieron 2,6 g/L de xilitol con productividad volumétrica ( $Q_p$ ) de 0,02 g/L-h y rendimiento de sustrato en producto ( $Y_{p/s}$ ) de 0,13 g/g. De esta manera, la cepa nativa *Candida guilliermondii*, aislada del fruto de Corozo chiquito (*Bactris guineensis*), produjo xilitol bajo condiciones específicas de fermentación.

**Palabras clave:** xilosa, *Candida guilliermondii*, fermentación, levadura.

#### Abstract

The yeast *Candida guilliermondii* has been studied due to its ability to produce xylitol in xylose-rich hemicellulosic compounds, *Candida guilliermondii* strain isolated from the fruit of Corozo chiquito (*Bactris guineensis*) was used in this study to assess their ability to xylitol production on these substrates. The aim of this study was to determine the fermentation parameters such as xylitol production, volumetric productivity ( $Q_p$ ) and yield of xylitol production ( $Y_{p/s}$ ) during fermentation with the native strain *Candida guilliermondii*. Was used 200 ml of culture medium rice husk hydrolysate, which contained a xylose concentration of 27.5 g/L. The fermentation was carried out under the following conditions: temperature 30 °C, pH of 5.8, agitation 120 rpm and adapted inoculum of 3 g/L. The results showed that after 120 hours of fermentation 2.6 g / L of xylitol was achieved with volumetric productivity ( $Q_p$ ) 0.02 g/L-h and 0.13 g/g yield of xylitol production ( $Y_{p/s}$ ). The native strain *Candida guilliermondii*, isolated from the fruit of Corozo chiquito (*Bactris guineensis*) produced xylitol fermentation under specific conditions.

**Key words:** Xylose, *Candida guilliermondii*, fermentation, yeast.

**Recibido:** abril 29 de 2010

**Aprobado:** mayo 25 de 2011

\* Ingeniera de Alimentos, Universidad de Córdoba. Grupo investigación Procesos y Agroindustria Vegetales. irinahe16@yahoo.es

\*\* Ingeniera de Alimentos, Universidad de Córdoba. Danellaing@yahoo.es

\*\*\* Ingeniero de Alimentos, Ph. D. Ciencias de los Alimentos. Grupo Investigación Procesos y Agro industria de vegetales, Universidad de Córdoba. guillermo.arrazola@ua.es

## Introducción

En la actualidad, los individuos están interesados en consumir alimentos que, además de su valor nutricional, ofrezcan más beneficios adicionales para su salud, es por ello que se busca presentar alternativas para responder a las exigencias del consumidor, lo que ha generado la obtención de productos como el xilitol, cuyas propiedades y ventajas le confieren gran interés comercial e industrial.

El xilitol es un alcohol pentahidroxilado, de gran importancia por su poder edulcorante, el cual posee propiedades fisicoquímicas que facilitan su uso en la industria alimenticia, farmacéutica y odontológica (Silva *et al.*, 2001b). Presenta propiedades anticariogénicas por el hecho de no ser utilizado por los microorganismos de la flora bucal, en particular por la bacteria *Streptococcus mutans*, lo que evita la formación de ácidos que atacan el esmalte dental (Fennema, 1993). También es utilizado en la preparación de alimentos para el tratamiento de personas con diabetes, desórdenes en el metabolismo de lípidos, lesiones renales y parenterales (Mäkinen, 2000).

El xilitol puede ser obtenido a través de procesos biotecnológicos con levaduras capaces de asimilar y fermentar la xilosa a xilitol. Diferentes cepas de *Candida guilliermondii* han sido empleadas en investigaciones con muy buena producción de xilitol. El interés por esta levadura se debe a que es una de las especies con mayor capacidad de producción de xilitol con respecto a otras levaduras, estudios reportan concentraciones de xilitol desde 36,8 g/L hasta 64,02 g/L, y coeficientes de rendimiento de sustrato en producto incluso de 0,72 g/g (Silva *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2005; Mussato, 2004; Granstrom, 2002; Silva *et al.*, 2001a; Roberto *et al.*, 1999).

El corozo chiquito o mararay (*Bactris guineensis*), es nativo de los bosques ambrófilos, es una palma de hojas pinnadas con folículos uniformes y su tallo está cubierto de espinas muy finas (Pérez, 1990). El corozo chiquito es un fruto autóctono de la Costa Atlántica colombiana, a partir del cual se obtiene una bebida alcohólica de color vino tinto con excelentes características organolépticas, llamada popularmente vino de corozo. Dentro de las cepas microbianas que intervienen en la fermentación alcohólica y maloláctica espontánea en la obtención del vino y como cepa nativa del fruto se encuentra la levadura *Candida guilliermondii* (Martínez *et al.*, 2007).

En esta investigación se evaluó la capacidad de producción de xilitol de la cepa nativa *Candida guilliermondii*, aislada del fruto de corozo chiquito (*Bactris*

*guineensis*) durante la bioconversión de xilosa a xilitol por fermentación *batch* en un medio hidrolizado de cascarilla de arroz.

## Materiales y métodos

### Levadura *Candida guilliermondii*

Se utilizó la levadura *Candida guilliermondii* de la colección de cepas de la Universidad de Córdoba, la cual fue aislada del corozo chiquito (*Bactris guineensis*), cosechado en el departamento de Córdoba. La levadura se encontraba conservada en viales con glicerina al 20%, a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Medio de cultivo

Se empleó un hidrolizado de cascarilla de arroz obtenido según Herazo *et al.* (2009), el cual contenía una concentración de xilosa de 27,5 g/L. El hidrolizado de cascarilla de arroz fue sometido a un proceso de detoxificación, el cual consistió en someter el medio hidrolizado a una clarificación, utilizando una precapa con 2,5% de carbón activado a 200 rpm y  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante una hora. Luego se filtró y llevó a autoclave a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 15 min para la esterilización del medio (Mussato y Roberto, 2004).

El hidrolizado esterilizado se enriqueció con 20 g/L de extracto de salvado de arroz, 3 g/L de sulfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) y 0,1 g/L de cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Mussato y Roberto, 2004).

Posteriormente, la levadura fue inoculada al medio hidrolizado de cascarilla, para una adaptación previa al proceso de fermentación. El inóculo fue incubado durante 24 horas en un erlenmeyer de 250 ml que contenía 100 ml de hidrolizado, en un shaker orbital a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  y 120 rpm. Las células fueron recuperadas por centrifugación a 2000 rpm por 15 min y resuspendidas en agua estéril.

### Condiciones de fermentación

La fermentación se llevó a cabo en frascos erlenmeyer de 500 ml, que contenían 200 ml de medio de cultivo hidrolizado de cascarilla. Las condiciones de fermentación fueron: temperatura  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH del medio 5,8, agitación en shaker orbital a 120 rpm y tamaño de inóculo adaptado de 3 g/L (Silva *et al.*, 2005). Se proporcionaron las condiciones de semi-aireado requeridas para favorecer la producción de xilitol con una relación volumen de líquido a volumen del matraz de 0,4 v/v (Silva *et al.*, 2001b).

El proceso de fermentación se realizó durante 120 h, tomándose muestras cada 12 h. Se analizó la concentración de xilitol, consumo de xilosa y la concentración de biomasa en el tiempo. Una vez finalizados los análisis se determinó la productividad volumétrica en xilitol y el factor de conversión de xilosa en xilitol ( $Y_{P/S}$ ).

### **Diseño experimental**

Con el fin de evaluar la producción de xilitol y consumo de xilosa en el tiempo durante la fermentación utilizando la levadura *Candida guilliermondii*, se desarrolló un diseño experimental completamente aleatorizado, unifactorial, en donde el tiempo se analizó a 10 niveles y se realizaron 3 repeticiones por cada nivel, para medir las variables respuestas: consumo de xilosa, producción de xilitol y crecimiento celular.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos durante el proceso de fermentación se realizó un análisis de varianza y el Test de Tukey, utilizando el paquete estadístico SAS Versión 1.

### **Métodos analíticos**

Para medir la concentración de biomasa en el medio hidrolizado se elaboró una curva estándar para la levadura *Candida guilliermondii*, esta curva consistió en relacionar las medidas directas de peso seco celular con las indirectas de densidad óptica (absorbancia).

La medición de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro (Espectronic 20D+) a 600 nm, longitud de onda que ha sido empleada por otros autores para la construcción de curva de peso seco para *Candida guilliermondii* (Silva et al., 2001a; Silva et al., 2001b).

Las concentraciones de xilosa y xilitol en el hidrolizado se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), mediante un cromatógrafo líquido (Waters, modelo 600 Controller) utilizando una columna Varian Carbohydrates Ca, bajo las siguientes condiciones de operación: eluyente, agua; temperatura, 90 °C; volumen de muestra, 20 µL; flujo, 0,5 mL/min; presión en la columna, 1070 ± 10 psi; sistema de detección, índice de refracción (IR), como estándares xilosa y xilitol (Sigma®).

## **Resultados y discusión**

### **Producción de xilitol por (*Candida guilliermondii*)**

Durante el proceso fermentativo se alcanzó una producción de xilitol de 2,6 g/L durante 120 horas de fermentación, con un rendimiento de sustrato en pro-

ducto ( $Y_{P/S}$ ) de 0,13 g/g y una productividad volumétrica ( $Q_p$ ) de 0,02. Estos parámetros fermentativos indican que la cepa *Candida guilliermondii* aislada del fruto de corozo chiquito (*Bactris guineensis*), produce xilitol en muy bajas concentraciones comparada con otras cepas de su mismo género y especie.

En relación con lo anterior se observa que la especie *Candida guilliermondii* es considerada una de las mayores productoras de xilitol, con una muy buena bioconversión de xilosa a xilitol. Roberto et al. (1999) obtuvieron concentraciones de xilitol de 36,8 g/L al emplear *Candida Guilliermondii* en medios de cultivo de paja de arroz con 62 g/L de xilosa. Silva et al. (2001a), en un estudio con la cepa *Candida guilliermondii* FTI 20037 encontraron una óptima concentración de xilosa y nivel de inóculo de 82 y 3 g/L respectivamente, a estas condiciones la concentración de xilitol fue de 52 g/L. Mussato (2004) alcanzó una concentración máxima de xilitol de 64,02 g/L y coeficiente de rendimiento de producto de 0,72 al usar *Candida guilliermondii* FTI 20037 durante la producción de xilitol empleando hidrolizado hemicelulósico de paja de arroz como medio de fermentación en frascos agitados.

Asimismo, Silva et al. (2006) en su estudio de optimización en la obtención de xilitol en hidrolizado de paja de arroz por *Candida guilliermondii* FTI 20037 reportan una máxima concentración de xilitol de 52,4 g/L, en 96 horas de fermentación con rendimiento de sustrato en producto ( $Y_{P/S}$ ) de 0,65 g/g, y una productividad volumétrica de xilitol de ( $Q_p$ ) de 0,54, el cual está muy distante del ( $Q_p$ ) de 0,02 obtenido en esta investigación.

De esta manera, los rendimientos de xilitol en el tiempo de fermentación en esta investigación no son similares a muchos de los estudios realizados por diferentes autores en fermentaciones de hidrolizados de paja de arroz por la levadura *Candida guilliermondii*, debido a las diferencias existentes en las condiciones en que se desarrollaron los experimentos, y por el gran número de variables que influyen en el metabolismo de la levadura durante la obtención de este metabolito. Dentro de estas variables se encuentran la concentración de inóculo, pH, temperatura, concentración de sustrato, la disponibilidad de oxígeno y la diferencia de composición química de hidrolizados hemicelulósicos. El suministro y la disponibilidad de oxígeno es uno de los factores que más afecta el metabolismo de esta levadura, siendo decisivo en la velocidad de síntesis, rendimiento de xilitol y en el crecimiento celular. Según Zou et al. (2010), un aumento del valor inicial del  $K_{i,a}$  de 0,033 a 0,37 h<sup>-1</sup> produce un rápido consumo de xilosa y un aumento de 5 veces la masa de células. Sin

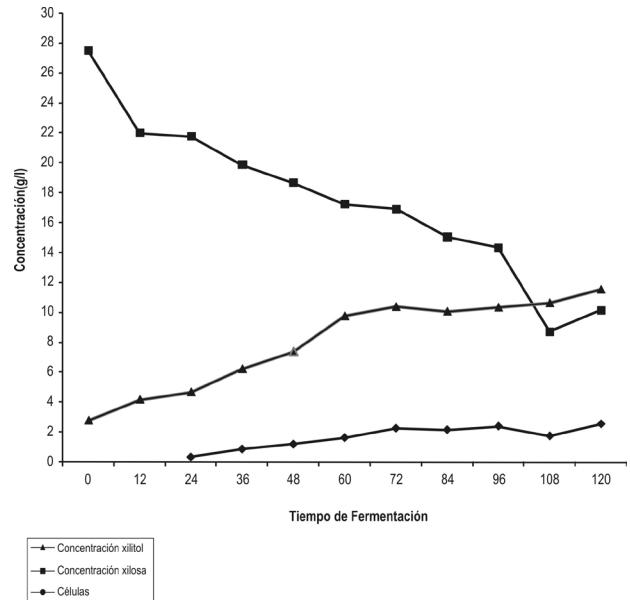
embargo, la producción de xilitol no sigue el mismo patrón debido a que la mayor producción de xilitol de 11,9 g/L con un rendimiento de 0,61 g/g se alcanza con un valor inicial de  $K_{1a}$  de 0,075 h<sup>-1</sup>.

Otra variable de marcada influencia en la producción de xilitol es la concentración de sustrato; según Mussatto y Roberto (2008), para una concentración de xilosa inicial de 70 g/L, se observó una producción de xilitol de 0,78 g/g y productividad de 0,58 g/L, sin embargo, en medios hemicelulósicos hidrolizados, cuando la concentración de xilosa es demasiado alta, el rendimiento del microorganismo fermentativo es drásticamente alterado por la presencia de altos niveles de mezcla de azúcares y otras sustancias tóxicas que inhiben el metabolismo microbiano. De esta manera, la concentración óptima de xilosa inicial va a estar influenciada por factores como las características del cultivo y el tipo levadura que se emplee (Silva *et al.*, 2001b; Mussatto y Roberto, 2008; Mussatto y Roberto, 2004).

Asimismo, la cepa *Candida guilliermondii* empleada en esta investigación se aisló de una matriz nativa, lo cual sugiere que las condiciones de desarrollo de la fermentación influyeron en el consumo de xilosa y la producción de xilitol por parte de la levadura. La cepa *Pichia guilliermondii* NRRL Y-12723, levadura fúngica, variante de la levadura *Candida guilliermondii* (forma asexual), es una cepa potencialmente productora de xilitol a partir de xilosa, sin embargo, produce concentraciones muy bajas de xilitol en presencia de mezclas de azúcares al sufrir represión por la glucosa (Timothy *et al.*, 2000).

En la figura 1 se observa que desde el inicio hasta las 36 horas de fermentación la concentración de biomasa aumentó, mientras que la concentración de xilosa comenzó a disminuir sin ninguna apreciable producción de xilitol; en estas primeras horas de fermentación ocurrieron los mayores cambios en cuanto a consumo de xilosa, se presume que en este tiempo las células emplearon la xilosa principalmente para su crecimiento (Villalba *et al.*, 2009; Vanegas, 2004).

Sin embargo, se observa que después de 120 h de fermentación solo se ha consumido el 63% de la concentración inicial de xilosa (27,5 g/L), quedando aún una concentración de sustrato en el medio de 10,16 g/L. Uno de los factores que afectan el consumo de xilosa al emplear hidrolizados hemicelulósicos es la procedencia y composición de este debido a las diferencias que existen en las concentraciones de los compuestos que lo conforman, incluyendo inhibidores y mezclas de otros azúcares. En relación con esto,



**Figura 1.** Comportamiento de las concentraciones de xilosa, xilitol (HPLC) y biomasa celular durante la fermentación.

al hidrolizado de cascarilla de arroz empleado como medio de cultivo no se le realizó análisis para caracterizar las concentraciones y los tipos de azúcares e inhibidores existentes, no obstante, el hidrolizado sin concentrar presentó una composición de azúcares reductores totales de 23,5 g/L, lo que indica la presencia de otro tipos de azúcares diferentes a la xilosa, hecho que pudo causar una disminución en el consumo de la xilosa por la levadura. Un resultado muy similar al presente estudio lo obtuvieron Timothy *et al.* (2000) al reportar una producción máxima de xilitol de 6 g/L, en ensayos con mezclas de glucosa, xilosa y arabinosa, con concentración inicial de xilosa de 25 g/L.

A partir de las 36 hasta las 72 h de fermentación se observó que la levadura sigue con el crecimiento celular acelerado, pero asociado a una acumulación lenta del metabolito de interés (xilitol) y al consumo de xilosa. Luego de las 72 h el crecimiento disminuye considerablemente tendiendo a ser constante, asociado a la producción de xilitol y consumo de xilosa. Según Sampaio *et al.* (2005), el xilitol no está directamente asociado al crecimiento de la levadura, y aunque no está disociado totalmente de este, el consumo de xilosa y la producción de xilitol son considerablemente pequeños cuando las velocidades de crecimiento son máximas.

El rendimiento de xilitol obtenido durante los ensayos podría estar influenciado por la insuficiente concentración de xilosa inicial disponible (27,5 g/L), teniendo en cuenta que una alta concentración de sustrato



incrementa la concentración final del producto en el caldo hidrolizado (Silva *et al.*, 2006). Los valores óptimos reportados de concentración de xilosa para la producción de xilitol están entre 60 y 80 g/L. Silva *et al.* (2001a), reportan una concentración de xilosa inicial de 82 g/L en donde se optimiza la producción de xilitol (52 g/L) con un factor de rendimiento de 0,65. La disponibilidad de sustrato en los rangos descritos es consecuencia de los factores o las variables que se manejen durante la hidrólisis de compuestos hemicelulósicos, siendo la temperatura, el tiempo de hidrólisis, la concentración, el tipo de ácido y el diámetro de partícula del material hemicelulósico importantes variables influyentes en la obtención de azúcares reductores, durante el desarrollo de la hidrólisis. La concentración del ácido es el factor más determinante en el rendimiento obtenido de los azúcares, mientras que la temperatura lo es en la degradación de estos. Herazo *et al.* (2009) observaron que a medida que se aumenta la concentración de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y disminuye el diámetro de partícula de cascarilla se presenta mayor degradación de los azúcares, encontrando que en diámetros de cascarilla de 1600-800 µm la concentración en azúcares reductores aumenta con el aumento de la concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, mientras que la concentración de azúcares reductores tiende a disminuir con los diámetros de partícula comprendidos entre 800-500 µm y 500-250 µm al aumentar la concentración de ácido sulfúrico.

La temperatura en que se lleva a cabo la hidrólisis determina la mayor conversión de hemicelulosa y celulosa a glucosa, xilosa y a otros compuestos; sin embargo, si las temperaturas son elevadas y los tiempos prolongados, continúa la degradación de estos azúcares en compuestos tóxicos como hidroximetilfurfural (HMF), furfural y ácido acético, reduciéndose de manera significativa los azúcares disponibles en el hidrolizado (Herazo *et al.*, 2009; Mussatto *et al.*, 2005).

Igualmente, en el medio de cultivo podrían estar presentes compuestos que inhibieron la fermentación de xilosa por la levadura, la presencia de estos compuestos (hidroximetilfurfural, furfural y ácido acético) en el hidrolizado no se comprobó, existiendo la posibilidad de estar en altas concentraciones, ya que estos inhibidores pueden presentarse incluso en tratamientos de obtención de hidrolizados pocos severos como resultado de la hidrólisis ácida por la degradación de azúcares, constituyéndose un factor importante en la obtención de bajos rendimientos de xilitol debido a que estos pueden presentar serias interferencias en los procesos de fermentación (Silva *et al.*, 2001b; Mussatto y Roberto, 2008).

Aunque se aplicaron diferentes tratamientos para la reducción de estos en el hidrolizado, tales como tratamiento con carbón activado y adaptación de la levadura, no se realizaron tratamientos de eliminación de los mismos por separado, y hay que tener en cuenta que la toxicidad de estos compuestos se puede ver aumentada por la procedencia del hidrolizado o por algunas de las condiciones de fermentación usadas, entre las que se encuentran condiciones fisiológicas de las células, concentración de oxígeno disuelto y pH (Mussatto *et al.*, 2004). A esto se le suma el efecto sinérgico existente cuando se combinan fenoles, compuestos aromáticos y ácidos (Parajo *et al.*, 1998). Asimismo, las condiciones de aireación afectaron los rendimientos de xilitol, teniendo en cuenta que las tasas altas de aireación favorecen el consumo de xilosa y la división celular, mientras que las tasas bajas favorecen el rendimiento de sustrato en producto (Santos *et al.*, 2003). *Candida guilliermondii* presenta buenos rendimientos de xilitol (0,66 g/g) al emplear tasas de transferencia de oxígeno de 2,2 mol/lh, (Preziosi *et al.*, 2004).

## Conclusiones

Bajo las condiciones desarrolladas en esta investigación la producción máxima de xilitol fue de 2,6 g/L obtenido después de 120 h de fermentación, siendo la productividad volumétrica de xilitol (Q<sub>p</sub>) de 0,02 g/L-h y el rendimiento de sustrato en producto Y<sub>p/s</sub> de 0,13 g/g. De esta manera, la levadura *Candida guilliermondii* aislada como cepa nativa del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) puede ser utilizada para obtener xilitol a partir de cascarilla de arroz (*Oriza sativa*).

## Referencias bibliográficas

- Carvalho, W., Santos, J., Canilha, L., Silva, S., Perego, P., Converti, A. 2005. Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate metabolic behaviour of *Candida guilliermondii* cells entrapped in Ca-alginate. *Biochemical Engineering Journal*, 25: 25-31.
- Fennema, O. 1993. *Química de los alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia. pp. 23-24.
- Granstrom, T. 2002. Biotechnological production of xylitol with candida yeasts. Dissertation for the degree of doctor of Philosophy Helsinki. University of Technology. Department of Chemical Technology.
- Herazo, I., Ruiz, D., Arrazola, G. 2009. Bioconversión de xilosa a xilitol por *Candida guilliermondii* empleando cascarilla de arroz (*Oriza sativa*). *Revista Temas Agrarios*, 14 (2): 32-39.
- Mäkinen, K. 2000. Can the pentitol-hexitol theory explain the clinical observation made with xylitol. *Medical hypotheses*, 54: 603-613.
- Martínez, E., Ortega, L. 2007. Aislamiento e identificación de cepas nativas del corozo chiquito (*bactris minor*) cosechado en el de-

- partamento de Córdoba, y estudio de su mercadeo. Montería, Colombia, Universidad de Córdoba.
- Mussatto, S., Roberto, I. 2008. Establishment of the optimum initial xylose concentration and nutritional supplementation of brewer's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Process Biochemistry*, 43: 540-546.
- Mussatto, S., Roberto, I. 2004. Kinetic behavior of *Candida guilliermondii* yeast during xylitol production from highly concentrated hydrolysate. *Process biochemistry*, 39: 1433-1439.
- Parajo, J., Domínguez, H., Domínguez, J. 1998. Biotechnological production of xilitol, Part 3: operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. *Bioresource Technology*, 66: 25-40.
- Pérez A. 1990. *Plantas útiles de Colombia*. Medellín: Editorial Víctor Hugo.
- Preziosi-Belloy, L., Nolleau, V., Navarro, J. 2004. Xylitol production from aspenwood hemicellulose hydrolysate by *Candida guilliermondii*. *Biotechnology Letters*, 22 (3): 239-243.
- Roberto, I., Mancilha, I., Sato, S. 1999. Influence of KLa on bioconversion of rice straw hemicellulose hydrolysate to xylitol. *Bio-process and Biosystems Engineering*, 21 (6): 505-508.
- Sampaio, F., Mantovani, H., Passos, F., De Moraes, C., Converti, A. 2005. Bioconversion of D-xylose to Xylitol by *Debaryomyces hansenii* UFV-170. *Process Biochemistry*, 40 (11): 3600-3606.
- Santos, J., Carvalho, W., Silva, S., Converti, A. 2003. Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate in fluidized bed reactor, effect o air flowrate. *Process Biochemistry*, 19 (4): 1210-1215.
- Silva, C., Silva, S., Roberto, I. 2005. Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. *Journal of Food Engineering*, 75 (1): 115-119.
- Silva, C., Roberto, I. 2001a. Optimization of xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI-20037 using response surface methodology. *Process Biochemistry*. 36: 1119-1124.
- Silva, C., Roberto, I. 2001b. Improvement of xylitol by *Candida guilliermondii* FTI 20037 previously adapted to rice straw hemicellulosic hydrolysate. *Letters in Applied, Microbiology*, 32: 248-252.
- Timothy, D., Bruce, S. 1999. Xylitol production from corn fibre hydrolyzates by a two-stage fermentation process. *Process Biochemistry*, 35: 765-769.
- Vanegas, C. 2004. Aislamiento y caracterización de cepas nativas de levaduras productoras de xilitol. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6 (2): 31-36.
- Villalba, M., Vélez, T., Arias, M., Arrázola, G. 2009. Producción de xilitol a partir de cascarilla de arroz utilizando *Candida guilliermondii*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 62 (1): 4897-4905.
- Zou, Y., Qi, K., Chen, X., Miao, X., Zhong, J. 2010. Favorable effect of very low initial KLa value on xylitol production from xylose by a self-isolated strain of *Pichia guilliermondii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109 (2): 149-152.