



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ,  
COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE  
XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces  
cerevisiae***

Allan Daniel Gómez Flores  
Asesorado por la Inga. Hilda Palma de Martini

Guatemala febrero de 2012



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ,  
COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE  
XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces  
cerevisiae***

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**ALLAN DANIEL GÓMEZ FLORES**

ASESORADO POR LA INGA. HILDA PALMA DE MARTINI

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, FEBRERO DE 2012



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. David Ricardo Cerezo Toledo
EXAMINADOR	Ing. Federico Guillermo Salazar Rodríguez
EXAMINADOR	Ing. Adolfo Narciso Gramajo Antonio
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez



## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ,  
COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE  
XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces  
cerevisiae***

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha marzo de 2011



Allan Daniel Gomez Flores





Guatemala, 08 de noviembre de 2011

Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Ingeniero Álvarez:

Por este medio hago constar que he revisado y aprobado el Informe Final del Trabajo de Graduación, del estudiante ALLAN DANIEL GOMEZ FLORES, con carné 2007-14430, el cual se titula: **COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ, COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces cerevisiae*.**

En base a lo anterior, lo someto a su consideración a efecto de continuar con el trámite respectivo para su aprobación.

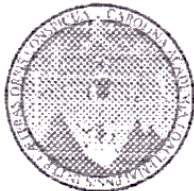
Sin otro motivo particular, me suscribo de usted,

Atentamente,



Inga. Qca. Hilda Palma de Martini  
ASESORA  
Colegiado 453





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Guatemala, 18 de noviembre 2011  
Ref.EIQ.TG.292.2011

Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-158-2011-B-IF le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERO QUÍMICO al estudiante universitario, Allan Daniel Gómez Flores, identificado con carné No. 2007-14430, titulado: "COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ, COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces cerevisiae*", el cual ha sido asesorado por la Ingeniera Química Hilda Palma de Martini.

Habiendo encontrado el referido informe final satisfactorio, se procede a recomendarle autorice al estudiante Gómez Flores, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Inga. Teresa Wisely de León Arana, M.Sc.  
COORDINADORA  
Tribunal que revisó el informe final  
Del trabajo de graduación



C.c.: archivo







UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
 FACULTAD DE INGENIERÍA  
 ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Ref.EIQ.TG.026.2012

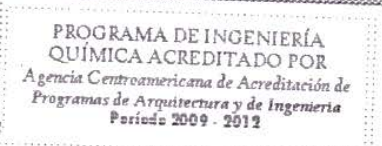
El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **ALLAN DANIEL GÓMEZ FLORES** titulado: "**COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ, COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces cerevisiae***".  
 Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

Ing. Williams Guillermo Alvarez Mejia, C.Dr.  
 DIRECTOR  
 Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, febrero de 2012

Cc: Archivo  
 WGAM/ale









El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DE MADERA DE EUCALIPTO Y OLOTE DE MAÍZ, COMO BIOMASA RESIDUAL RICA EN HEMICELULOSA, PARA LA OBTENCIÓN DE XILITOL POR MEDIO DE FERMENTACIÓN CON LEVADURA DEL TIPO *Saccharomyces cerevisiae***, presentado por el estudiante universitario **Allan Daniel Gómez Flores**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos  
Decano



Guatemala, 6 de febrero de 2012.

/gdech





## **ACTO QUE DEDICO A:**

<b>Dios</b>	Por ser el autor de la vida. Por su gran misericordia
<b>Mis padres</b>	Dalia y Juan Carlos, por la motivación que me han dado, ejemplo de esfuerzo y apoyo incondicional
<b>Mis hermanos</b>	Edgar, Enrique, Douglas, Fernando, Andrés, por su apoyo y consejos
<b>Mis amigos</b>	Por su valiosa amistad y el preciado tiempo que hemos vivido juntos
<b>Universidad de San Carlos de Guatemala</b>	Por hospedarme y proveerme de conocimiento y experiencias



## **AGRADECIMIENTOS A:**

<b>Jesús</b>	El Ingeniero Químico Creador y único camino a la salvación, a todo el que lo busca
<b>Mis hermanos</b>	Por sus acciones que me motivan a ser mejor persona.
<b>Inga. Hila Palma de Martini</b>	Por su valioso asesoramiento en este pequeño trabajo de graduación
<b>Inga. Lisely de León</b>	Por su asesoramiento y confianza
<b>Licda. Ana Mendizábal</b>	Por su ayuda en la cuantificación de azúcares y su amistad
<b>Ing. César García</b>	Por sus ideas para realizar el pequeño reactor
<b>University Bible Fellowship</b>	Por sus enseñanzas, amistad, amor
<b>Pueblo de Guatemala</b>	Por hacer posible mi estudio, por amor le serviré toda mi vida.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN	XVII
OBJETIVOS/HIPÓTESIS	XIX
INTRODUCCIÓN	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Biomasa	5
2.1.1. Biomasa residual	7
2.1.2. Biomasa forestal residual	7
2.1.3. Biomasa agrícola residual	7
2.1.4. Cultivos energéticos	8
2.2. Composición y estructura de la biomasa forestal y agrícola	8
2.2.1. Celulosa	11
2.2.2. Lignina	12
2.2.3. Hemicelulosa	13
2.3. Tratamientos a la biomasa	15
2.3.1. Tratamiento físico	15
2.3.2. Hidrólisis con ácido	16
2.3.3. Hidrólisis enzimática	18
2.3.4. Tratamiento biológico o bioconversión	19
2.3.5. Fermentación	19
2.3.5.1. Digestión anaerobia	21

	2.3.5.2.	Digestión aerobia	21
	2.3.6.	Productos potenciales de la fermentación microbiológica	21
2.4.		Selección del microorganismo para la bioconversión	22
	2.4.1.	Factores de crecimiento	24
2.5.		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
2.6.		Xilitol	28
3.		DISEÑO METODOLÓGICO	31
3.1.		Definición operacional de las variables en el proceso de obtención de xilitol	31
3.2.		Delimitación del campo de estudio	32
3.3.		Recursos humanos disponibles	32
3.4.		Recursos materiales disponibles	33
	3.4.1.	Materia prima y reactivos	33
	3.4.2.	Cristalería	33
	3.4.3.	Equipo	34
3.5.		Técnica cuantitativa	35
	3.5.1.	Diseño general	35
	3.5.2.	Tratamiento físico	36
	3.5.3.	Tratamiento químico (hidrólisis con ácido)	36
	3.5.4.	Desintoxicación del hidrolizado	36
	3.5.5.	Cultivo de la levadura	36
	3.5.6.	Fermentación	37
	3.5.7.	Concentración del producto	37
3.6.		Recolección y ordenamiento de la información	37
3.7.		Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	40
	3.7.1.	Microsoft Excel 2007	40

4.	RESULTADOS	43
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	53
	CONCLUSIONES	57
	RECOMENDACIONES	59
	BIBLIOGRAFÍA	61
	APÉNDICES	65
	ANEXOS	67





## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Estructura de la celulosa	11
2.	Estructura de la lignina	13
3.	Estructura de la hemicelulosa	14
4.	Vía metabólica de la asimilación de xilosa por bacterias y levaduras	28
5.	Estructura del xilitol	29
6.	Estructura de la D-xilosa	29
7.	Diagrama de flujo del experimento realizado para obtener xilitol a partir de fermentación, con levadura, de hidrolizados de biomasa hemicelulósica	35
8.	Formato básico de gráfica para cualquier azúcar presente luego de la hidrólisis	40
9.	Formato básico de gráfica para el consumo, productividad y rendimiento de xilitol, según el tipo de método aplicado a la biomasa	41
10.	Xilosa hidrolizada de la madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis	43
11.	Xilosa hidrolizada del olote de maíz en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis	44
12.	Xilitol en hidrolizado de madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis	45
13.	Xilitol en hidrolizado de madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis	46

14.	Xilosa fermentada según el tipo de tratamiento para el olote de maíz y madera de eucalipto, para 30 y 48 horas de fermentación	47
15.	Sacarosa fermentada para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación	48
16.	Glucosa fermentada para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación	49
17.	Xilitol fermentado para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación	50
18.	Productividad de xilitol por la levadura según el tipo de tratamiento en la madera de eucalipto y olote de maíz, para 30 y 48 horas de fermentación	51
19.	Rendimiento de xilitol por la levadura según el tipo de tratamiento en la madera de eucalipto y olote de maíz, para 30 y 48 horas de fermentación	52

## TABLAS

I.	Composición de biomasa representativa	9
II.	Composición de madera dura, eucalipto, y madera suave	10
III.	Composición de residuos del maíz	10
IV.	Matriz de variables presentes en el experimento y definición operacional	31
V.	Formato básico de tabla para xilosa y xilitol inicial en el hidrolizado	38
VI.	Formato básico de tabla para xilosa y xilitol después de la fermentación	38
VII.	Formato básico de tabla para la productividad de xilitol obtenida	39
VIII.	Formato básico de tabla para el rendimiento de xilitol obtenido y consumo de azúcar	39

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
<b>Å</b>	Amstrong, $1 \times 10^{-10} \text{m}$
<b><math>\Delta, \pm</math></b>	Delta, incertidumbre absoluta de la medida
<b>D(+)</b>	Dextrógiro
<b>XR</b>	Enzima xilosa-reductasa
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>g</b>	Gramo
<b>h</b>	Hora
<b>IR</b>	Índice de refracción
<b>l</b>	Litro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>%</b>	Porcentaje
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>psi</b>	Pounds per square inches, libras por pulgada cuadrada
<b><math>P_{xol}, Q_P</math></b>	Productividad volumétrica
<b><math>R_{xol/xsa}, Y_{P/S}</math></b>	Rendimiento de xilitol
<b>s</b>	Segundo



## GLOSARIO

<b>Acetil</b>	Grupo funcional, radical acilo del ácido acético.
<b>Álcali</b>	Óxidos, hidróxidos y carbonatos de los metales alcalinos, la mayoría actúa como bases fuertes y son muy hidrosolubles.
<b>Anaeróbicamente</b>	Término técnico que significa vida sin aire (aire usualmente es oxígeno). Proceso en el cual microorganismos descomponen material biodegradable en ausencia de oxígeno.
<b>Arabiano</b>	Polímero de arabinosa que es un monosacárido de cinco carbonos con un grupo aldehído por lo que pertenece al grupo de las aldosas y dentro de este al de las aldopentosas.
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina o adenosín trifosfato (adenosine triPhosphate).
<b>Bioconversión</b>	También conocida como biotransformación, refiere al uso de organismos vivos para llevar a cabo reacciones químicas que serían más costosas o no factibles si se realizan no biológicamente.
<b>Biomasa</b>	Materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía o materia prima para producir otros compuestos químicos.

<b>Biosíntesis</b>	Formación de sustancias en el interior de un ser vivo, o en su exterior debido a su metabolismo; proceso celular mediante el cual los organismos vivos elaboran sustancias químicas complejas a partir de otras más sencillas.
<b>Biotecnológico</b>	De la Biotecnología, tecnología desarrollada en un enfoque multidisciplinario que involucra disciplinas y ciencias como biología, bioquímica, genética, virología, agronomía, ingeniería, física, química, medicina y veterinaria entre otras.
<b><i>Candida tropicalis</i></b>	Especie de levadura en el género <i>Candida</i> , utilizada para producción de biodiesel.
<b><i>Candida parapsilosis</i></b>	Especie de levadura en el género <i>Candida</i> , poco utilizada para producción de biodiesel.
<b>Carboxil</b>	Grupo carboxi o carboxilo, es un grupo funcional. Las moléculas que contienen este grupo funcional se llaman ácidos carboxílicos o ácidos orgánicos., generalmente son débiles.
<b>Cariogénico</b>	Agente capaz de producir o inducir la producción de caries dental.
<b>Compost</b>	Llamado composta o compuesto (a veces también se le llama abono orgánico) es el producto a partir de desechos orgánicos que se obtiene de su descomposición.
<b>Cristal</b>	Sólido homogéneo que presenta una estructura interna ordenada de sus partículas reticulares, sean átomos, iones o moléculas, formados por la unión de partículas dispuestas de forma regular siguiendo

un esquema determinado que se reproduce, en forma y orientación, en todo este y que crea una red tridimensional.

**Fibrilar** Material constituido de fibra, ésta es compuesta por polímeros de alto peso molecular.

**Fitomasa** Materia viva vegetal.

**Galactano** Polisacárido (polímero de monosacáridos) constituidos exclusivamente de monómeros de galactosa. Pueden ser lineales o ramificados. La galactosa es un azúcar simple o monosacárido formado por seis átomos de carbono o hexosa.

**Glucano** Polímero de glucosa.

**Glucosa** Monosacárido con fórmula molecular igual que la fructosa pero con diferente posición relativa de los grupos -OH y O=. Es una hexosa, es decir, que contiene 6 átomos de carbono, y es una aldosa, esto es, el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula. La aldohexosa glucosa posee dos enantiómeros, L y D, la D-glucosa es predominante en la naturaleza.

**Hemicelulosa** Heteropolisacárido formado por un conjunto heterogéneo de polisacáridos y por un solo tipo de monosacáridos unidos por enlaces  $\beta$ . Consiste en polímeros de pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (glucosa, manosa, galactosa), y ácidos urónicos (glucurónico, galacturónico). Forma parte de las paredes de las diferentes células de los tejidos del vegetal, recubriendo la superficie de las fibras de

celulosa. Se caracteriza por ser una molécula con ramificaciones, como lo es el ácido urónico, capaz de unirse a las otras moléculas mediante enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula de la presión ejercida sobre esta por el resto de las células que la rodean.

<b>Heteropolímero</b>	Polímero compuesto por más de un tipo de monómero.
<b>Hexosas</b>	Monosacáridos formados por una cadena de seis átomos de carbono. Su fórmula general es $C_6H_{12}O_6$ . Las más importantes desde el punto de vista biológico son: glucosa, galactosa y fructosa.
<b>Hidrólisis</b>	Rompimiento al azar de los enlaces que componen un polímero para obtener sus monómeros, ya sea por la acción de un ácido, base o enzima.
<b>Hidrolizado</b>	Producto de la hidrólisis, solución con gran cantidad de monómeros de un azúcar.
<b>Hidroximetilfurfural</b>	HMF o 5-(hidroximetil)furfural, es un aldehído y un furano formado durante la descomposición térmica de las pentosas.
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alta eficiencia (high performance liquid chromatography.)
<b>Intracelular</b>	Propio o relativo al interior de una célula.
<b>IUPAC</b>	Unión internacional de química pura y aplicada (international union of pure and applied chemistry).
<b>Lejía negra</b>	Licor (o lejía) recuperado tras la separación de la pasta química de otros productos disueltos



resultantes del proceso de cocción en la elaboración de papel, contiene lignina y residuos.

**Lignina**

Polímero natural complejo y aromático del que existen muchos polímeros estructurales. Después de los polisacáridos, la lignina es el polímero orgánico más abundante en el mundo vegetal, es la única fibra no polisacárido que se conoce. Proporciona resistencia al ataque de los microorganismos, impidiendo la penetración de las enzimas destructivas en la pared celular, y del ataque de un ácido o base. La molécula de lignina presenta un elevado peso molecular, que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico); es insoluble en ácidos y soluble en álcalis fuertes.

**Lignocelulosa**

Combinación de celulosa, lignina y hemicelulosa. La celulosa y hemicelulosa, están estrechamente unidos a la lignina.

**Manano**

Polisacárido, polímero del azúcar manosa. La manosa es una aldosa, es decir su grupo químico funcional es un aldehído en el carbono 1.

**ME**

Madera de eucalipto.

**Metoxil**

grupo funcional o radical consistente en un grupo metilo unido a un oxígeno.

**Mezcla racémica**

Mezcla con distintos tipos de compuestos, azúcares en este caso.

**Microfibrilla**

Generalmente compuestas de celulosa, conforman la pared celular primaria de una célula vegetal.

Son cilindros de diámetro aproximado de 250Å y largos. Las microfibrillas de celulosa se encuentran atadas por carbohidratos no fibrilares a los que se denomina genéricamente hemicelulosa.

<b>NAD<sup>+</sup></b>	Forma oxidada de la enzima dinucleótido de nicotinamida y adenina (nicotinamide adenine dinucleotide), agente oxidante aceptor de electrones.
<b>NADH</b>	Forma reducida de la enzima dinucleótido de nicotinamida y adenina (nicotinamide adenine dinucleotide), agente reductor donante de electrones.
<b>NADP<sup>+</sup></b>	Forma oxidada de la enzima fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate).
<b>NADPH</b>	Forma reducida de la enzima fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate).
<b>OM</b>	Olote de maíz.
<b>PEF</b>	Porcentaje de eliminación de furfural.
<b>Pentosa, pentosano</b>	Monosacárido formado por una cadena de cinco átomos de carbono. Como en los demás monosacáridos aparecen en su estructura grupos hidroxilo. Además, también pueden llevar grupos cetónicos o aldehídos. La fórmula general de las pentosas es C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> .
<b>Polialcohol, poliol</b>	Denominados también como azúcares alcohólicos.

Se caracterizan por ser una familia de compuestos químicos orgánicos con sabor dulce, se consideran carbohidratos hidrogenados cuyo grupo carbonilo (aldehído, cetona, azúcar reductor) ha sido reducido a un grupo hidroxilo primario o secundario (es decir a un alcohol). Los azúcares alcohólicos poseen la fórmula general  $H(HCHO)_{n+1}H$ , mientras que los azúcares tienen  $H(HCHO)_nHCO$ . Se emplean en numerosas aplicaciones alimentarias como edulcorantes en substitución del azúcar (sucrosa). Los polialcoholes poseen contenidos calóricos muy bajos y su poca fermentabilidad hace que no contribuyan a las caries.

**Polisacáridos**

Moléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos, son polímeros de peso molecular muy elevado.

**Poliuronidos**

Homopolisacáridos (solo un tipo de poliscárido) formados por unidades de ácidos urónicos, generalmente estructurales.

**PPP**

Vía metabólica pentosa fosfato (pentose phosphate phatway) de azúcar hacia alcohol.

**Presión osmótica**

Presión que se debe aplicar a una solución para detener el flujo neto de disolvente a través de una membrana semipermeable.

**Redox**

Reacción de reducción-oxidación, óxido-reducción, o simplemente reacción redox, es toda reacción química en la cual existe una transferencia electrónica entre los reactivos, dando lugar a un cambio en los estados de oxidación de los mismos

con respecto a los productos.

***Saccharomyces cerevisiae***

Hongo unicelular, un tipo de levadura utilizado industrialmente en la fabricación de pan, cerveza y vino. Se reproducen de forma asexual por gemación.

**Xilano**

Polisacárido constituido por una cadena lineal de residuos de xilosa, diversas ramificaciones y sustituciones, componente mayoritario de la hemicelulosa. La cadena consta de 30-100 unidades de  $\beta$ -D-xilopiranosas con enlaces 1,4-glicosídicos. Algunos xilanos también presentan arabinosa, glucosa, galactosa y glucuronato en ramas laterales unidas al C3 de la xilosa.

**Xilitol**

Azúcar alcohol (poliol) utilizado como sustituto de origen natural del azúcar común. Se encuentra en las fibras de varias frutas y vegetales, cerezas, hongos, entre otras. Equivalente a la sucrosa en dulzura con solo dos terceras partes de contenido energético y no cariogénico.

**Xilosa**

Azúcar aislada de la madera, clasificada como un monosacárido del tipo aldopentosa, de cinco carbonos e incluye un grupo funcional aldehído. Debido a su grupo carboxil libre es un azúcar agente reductor. Su reducción con hidrogenación catalítica produce xilitol y su degradación catalizada por ácido origina HMF y furfural, un solvente especial en la industria y precursor de polímeros sintéticos.

## RESUMEN

Se obtuvo xilitol a partir de los hidrolizados de biomasa residual de origen agrícola, olote de maíz, y forestal, madera de eucalipto, por medio de fermentación con levadura del tipo *Saccharomyces cerevisiae*. Para llegar al producto deseado se aplicó a la biomasa tratamientos físicos, químicos y biológicos. El tratamiento físico, consistió en la reducción de tamaño a un rango de tamiz establecido.

El tratamiento químico se realizó en un pequeño reactor de acero inoxidable. Ácido sulfúrico se agregó en 1, 2 y 3% masa-ácido/masa-total, según el caso, se calentó en el reactor hasta 110 y 120°C, según el caso, durante 20 minutos, se ajustó el hidrolizado a pH 5 y se filtró.

Posteriormente se desintoxicó el hidrolizado con carbón activado y luego se filtró, por último se trató biológicamente el hidrolizado, se añadió levadura, previamente cultivada anaeróbicamente y adaptada en un medio con D-xilosa, nutrientes y pH 5, luego se fermentó a 28°C por 30 y 48 horas, según el caso, teniendo condiciones de oxígeno limitado.

Para la madera de eucalipto se obtuvo el mayor rendimiento de  $0,438\text{g}_{\text{xilitol}}/\text{g}_{\text{xilosa}}$  en 30 horas al tratar la biomasa con 3% de ácido a 110°C. Para el olote de maíz se obtuvieron  $0,120\text{g}_{\text{xilitol}}/\text{g}_{\text{xilosa}}$  en 30 horas al tratar la biomasa con 1% de ácido a 120°C.



# OBJETIVOS

## General

Aprovechar desperdicios de biomasa ricos en hemicelulosa, de madera de eucalipto y olote de maíz, de los cuales se obtiene el xilitol, producto de la fermentación de sus hidrolizados

## Específicos

1. Determinar el rendimiento de la madera de eucalipto para producir xilitol, a partir de sus hidrolizados, por medio de fermentación con *S. cerevisiae*.
2. Determinar el rendimiento del olote de maíz para producir xilitol, a partir de sus de sus hidrolizados, por medio de fermentación con *S. cerevisiae*.
3. Comparar rendimientos para concluir la mejor de las dos biomásas utilizadas para producción de xilitol por fermentación.
4. Establecer un procedimiento básico, disponible a mejoras, para obtención de xilitol por fermentación a partir de biomasa residual rica en hemicelulosa.
5. Establecer el efecto del tiempo de fermentación en el rendimiento.

## **HIPÓTESIS**

### Investigación

Es posible obtener xilitol a partir de fermentación de los hidrolizados de madera de eucalipto y el olote de maíz.



## INTRODUCCIÓN

La actividad industrial, agrícola y forestal, entre otras, genera desperdicios o residuos que generalmente se pueden y deben reciclar; en el caso los residuos de madera y verduras son materiales, líquidos y sólidos, que no tienen calidad suficiente para otras aplicaciones de importante consumo y uso humano, a menos que se trate de razones energéticas. El mayor enfoque actual, para utilizar los desechos agrícolas y forestales ha sido entonces generar biocombustibles, aunque existe gran conjunto de soluciones alternativas para ese tipo de desechos; así rara vez se utilizan para obtener productos alimenticios.

El xilitol es un poliol de origen natural, compuesto por cinco átomos de carbono, el cual tiene el equivalente en dulzura de la sacarosa. Fue desarrollado en 1970, es relativamente caro pero atractivo, debido a sus propiedades beneficiosas, también usado como endulzante, especialmente para confitería en bajo contenido de azúcar debido a que es no cariogénico y para uso en productos para diabéticos. Su fórmula química es  $C_5H_{12}O_5$  y con masa molecular de 152,15 g/mol.

Es producido comercialmente por conversión enzimática o reducción química con catalizador, de hidrolizados de precursores ricos en xilosa, tales como astillas de madera de abedul. Generalmente, en la industria es manufacturado por la hidrogenación de la xilosa con catalizador de níquel, el uso de catalizador metálico hace al proceso contaminante y de elevado precio. Por esta razón existe la opción para la industria, de un proceso biotecnológico para el uso de la xilosa proveniente de los hidrolizados de residuos forestales y agrícolas.

Actualmente se tiene buena comprensión sobre el contenido de los desechos agrícolas y domésticos, se sabe que están constituidos principalmente de lignocelulosa, hemicelulosa y celulosa, la hemicelulosa está formada por hexosas y pentosas, en este caso se tiene mayor interés en el contenido de pentosas. La levadura consume fuentes de carbono para su metabolismo, tal como lo son la glucosa y sacarosa, es popular el uso de levadura para producir etanol a partir de residuos azucareros y muy llamativo pues económicamente es factible. Por tanto, la levadura puede consumir otras fuentes de carbono, obteniendo productos que pueden ser de interés y distintos al etanol.

En este trabajo se utilizó *S. cerevisiae* natural para realizar la fermentación de la xilosa a xilitol. La *S. cerevisiae* se adaptó con oxígeno limitado a un medio solamente de D(+)-xilosa como única fuente de carbono, con la intención que ésta utilice dicha azúcar como principal fuente de alimento. El ácido sulfúrico permite romper las cadenas de xilano en la hemicelulosa dejando en solución líquida la xilosa del xilano. Se esperó que a mayor cantidad de ácido sulfúrico, mayor xilosa se hidrolizase, además se esperó presencia de glucosa en el hidrolizado, así se manipuló la cantidad en porcentaje de ácido utilizado para hidrólisis y el tiempo de fermentación.

Los resultados esperados se hallaron y se demuestra, generalizando, que a mayor cantidad de ácido mayor cantidad de xilosa se hidroliza de la biomasa, y esta xilosa a mayor tiempo de fermentación más cantidad de xilitol produce; por supuesto está disponible la investigación para hallar los máximos y óptimos de cantidad de ácido y tiempo de fermentación.

## 1. ANTECEDENTES

Estudios sobre la producción de xilitol a nivel laboratorio, mientras que los productores industriales de xilitol poseen sus propias técnicas industriales confidenciales. Se citan, desde la bibliografía de este trabajo, los estudios relevantes para la elaboración del experimento.

En el artículo científico titulado *producción de xilitol a partir de levaduras nativas colombianas*, por Vanegas Córdoba, Isleny Andrea; Yeppez Pérez, María del Socorro y Ruiz Villadiego, Orlando Simón; se realizó la búsqueda de microorganismos nativos colombianos con potencial para la producción de xilitol.

Se aislaron 25 especies de levaduras identificando el 84% con el kit API 20C-AUX, *Candida kefyri*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* presentaron la mayor capacidad para degradar la xilosa, estos luego fueron seleccionados para evaluar su capacidad productora de xilitol. También se realizaron cultivos de levadura discontinuos en matraces agitados a 200rpm y 35°C por 30 horas, en un medio sintético de xilosa como fuente de carbono, el consumo de xilosa y producción de xilitol se evaluaron por cromatografía de capa fina y de alta resolución.

Los rendimientos máximos se lograron con *Candida kefyri* y *C. tropicalis*,  $Y_{P/S}$  de 0.5 y 0.43 g/g respectivamente, utilizando una concentración inicial de 20 g/l de xilosa.

En el artículo científico titulado *aprovechamiento del bagazo de caña en la producción biotecnológica de xilitol por Candida parapsilosis*, por

Rodríguez Durán, Nadia Adelina, et al; se utilizó bagazo subproducto del proceso de extracción de azúcar, así como la levadura *Candida parapsilosis* (NRRL Y-2315) en la producción de xilitol. Se determinaron las condiciones óptimas de desintoxicación de los hidrolizados de bagazo de caña concentrados para la eliminación de la mayor cantidad de inhibidores del crecimiento microbiano sin afectar la concentración de azúcares.

Se elaboró un diseño multifactorial fraccionado con tendencia central para determinar el efecto de la concentración de carbón activado, pH inicial y duración del tratamiento a 45°C y 150 rpm, sobre el porcentaje de eliminación de furfural (PEF).

El modelo estadístico predice adecuadamente el PEF y que las condiciones óptimas para la desintoxicación son pH 3,8, 58,4 min y carbón activado 1/30 obteniéndose un valor de PEF de 99,95%, conservándose concentraciones de 48,3, 3,6, 6,9 y 3,9 g/L de xilosa, glucosa, arabinosa y ácido acético, respectivamente, lo cual significa una baja concentración de furfural (0,0033 g/L) con un elevado porcentaje de recuperación de azúcares (90,38 %).

La mayor producción de xilitol se obtuvo con 60 g/L, pH 6 y 26°C, y la mayor formación de biomasa con 15 g/L, pH 5 y 26°C, los factores que tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el rendimiento en xilitol fueron concentración inicial de xilosa, temperatura, interacción entre xilosa inicial-pH y pH-temperatura

El artículo científico titulado *a rare sugar xylitol. part I: the biochemistry and biosynthesis of xylitol*, por Birger Granströ, Tom; Izumori Ken y Leisola, Matti; se concentra en la bioquímica de la biosíntesis de xilitol y los problemas relacionados al balance redox intracelular, se evaluó los efectos que tiene la restricción de oxígeno en la reducción microbiana de D-xilosa a

xilitol, por cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, metabólicamente modificada, y *Candida*; la cepa *Candida* tuvo ventaja sobre la *S. cerevisiae* metabólicamente modificada en términos de la toma de D-xilosa y mantenimiento del balance redox intracelular.

La disponibilidad de oxígeno es un factor importante en términos de producción de xilitol a partir de D-xilosa, bajo condiciones de oxígeno limitado, la fosforilación oxidativa no fue capaz de volver a oxidar todo el NADH generado; por lo tanto, la concentración intracelular de NADH se incrementó resultando en acumulación de xilitol. Cabe mencionar que es para limitación de oxígeno, es decir condiciones semi anaerobias pero no anaerobias o completamente aerobio.

En el artículo científico titulado *effect of phosphate buffer concentration on the batch xylitol production by Candida guilliermondii*, por Cortez, D.V. y Roberto, I.C.; se utilizó un medio complejo, hidrolizados lignocelulósicos. El inóculo se preparó en un Erlenmeyer de 125ml con 50ml de medio de xilosa 30g/l, glucosa 5g/l,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3g/l,  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,1g/l y 20%v/v de extracto de arroz. pH de medio se ajustó a 5,3 añadiendo NaOH, la levadura se cultivó por 30 horas. Se evaluó el efecto de concentración del buffer fosfato en el crecimiento y producción de xilitol por *Candida guilliermondii* FTI 20037. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo en forma batch, utilizando earlenmayers de 100ml en un medio semisintético.

Al medio se le añadió buffer fosfato en diferentes concentraciones, desde 200 a 600mmol/l.  $Y_{P/S}$  y  $Q_P$  fueron mejoradas cuando el medio de fermentación tuvo 600mmol/l de buffer fosfato. Bajo estas condiciones se obtuvo un  $Y_{P/S}$  de 0,75g/g y  $Q_P$  de 0,66g/l·h. Mientras que en ausencia del buffer  $Y_{P/S}$  de 0,52g/g y  $Q_P$  de 0,44g/l·h.

La solución buffer fosfato promovió un control más fácil del pH durante la agitación de los frascos de fermentación. Además, el rendimiento de xilitol y la productividad fueron significativamente mejorados al añadir al medio fosfato de potasio. Esto se puede deber al efecto osmótico en la célula y control de pH de la solución.

En el artículo científico titulado *optimization of fed-batch fermentation for xylitol production by candida tropicalis*, por Kim, J.H., et al; se utilizó *Candida tropicalis* ATCC 13803, dos sustratos en el medio para fermentación, la glucosa para crecimiento celular y xilosa para la producción de xilosa, la levadura se mantuvo en un medio de 10g/l extracto de levadura, 20g/l de bactopentona, 50g/l de xilosa, 15g/l de agar.

El medio de inóculo se tuvo con la misma composición que el de mantenimiento pero se agregaron 20g/l de glucosa y 60g/l de xilosa, al medio de fermentación se le añadió 30g/l de glucosa y 100g/l de xilosa, se fermentó batch 1L de solución en un fermentador de 3,5L KoBiotech; durante la fermentación el oxígeno se mantuvo a 1% y pH 6, así como la cuantificación de los azúcares por HPLC con IR.

Cuantificado el etanol por cromatografía de gases y un detector ionizador de flama, se determinaron concentraciones óptimas de xilosa de 100g/l xilosa, xilosa con xilitol menos de 200g/l, fueron óptimas para producción de xilitol, probablemente por un incremento en la presión osmótica que interfiere con el transporte de xilosa, flujo de xilitol para secreción del metabolismo de la célula. La fermentación batch optimizada resultó en 187g/l de concentración de xilitol,  $0,75g_{\text{xilitol}}/g_{\text{xilosa}}$  en rendimiento de xilitol, y  $3,9g_{\text{xilitol}}/l \cdot h$  en productividad volumétrica.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Biomasa

El término biomasa en realidad es un tanto engañoso pues es muy general, en esta investigación no se referirá a la biomasa como proteínas, lípidos, y otros compuestos biológicos, sino que se referirá como recursos basados en plantas, incluyendo madera, cultivos y residuos agrícolas, pastos y componentes de estas fuentes, siendo la biomasa, en esta investigación, un término de “fotomasa” ó “masa fotosintética”, pues se origina a partir de la fotosíntesis.

Decir que la biomasa es un material emergente y fuente de químicos quizá parezca redundante porque la madera ha sido utilizada como un material y como una fuente de químicos, desde siglos atrás; en la actualidad se piensa que la biomasa es un material emergente, sin embargo, la definición de emergente es, aumentar, volverse notable y evolucionar; en este sentido, la biomasa como fuente de material y químicos está todavía emergiendo, desde 1990, y probablemente continuará así en el futuro.

Generalmente, la biomasa es sinónimo de compost y energía (biocombustibles). La biomasa energética se puede clasificar según criterios de, origen, composición, contenido en humedad, entre otros. Según el origen de la biomasa se pueden distinguir dos grandes grupos de biomasa, de origen residual y cultivos energéticos.

Cerca de la década de 1920, la industria casi completamente se basó en la biomasa y del carbón como fuente de materiales y químicos, “a inicios

del siglo XIX surgió el petróleo, el cual desde ese entonces, se convirtió en la más grande fuente de químicos y materiales plásticos; al mismo tiempo estaban surgiendo tecnologías de metales modernos, vidrio y químicos, para obtener materiales como acero alto en carbón, acero inoxidable, aleaciones con aluminio y organometales, mientras que el campo de los materiales derivados de biomasa estaba disminuyendo”<sup>1</sup>, pues los nuevos materiales son más baratos de producir y a veces más resistentes de lo que son los productos obtenidos biotecnológicamente.

La Segunda Guerra Mundial, el embargo de petróleo en la década de 1970, y la guerra de Iraq de 1990 a 1991, incrementó la demanda de los países en vías de desarrollo para tener materiales modernos, cambios en la economía de materiales competitivos, el deseo de la no dependencia de combustibles fósiles en la década del 2000, un re despertar por el ambiente y un interés global en el reciclaje; causaron un renovado interés en la utilización de la biomasa.

Se cuenta con el ejemplo de Brasil, Europa, Asia y Estados Unidos, por el interés y avances en el uso de la biomasa; por tanto Guatemala, país rico en producción de frutas, verduras y madera, puede aprovechar este gran potencial y producir ya sea biocombustibles o químicos a partir de la gran variedad de biomasa; así que después de cientos de años, con la ayuda de la Ingeniería Genética, la biomasa es otra vez una fuente emergente de materiales y químicos.

---

<sup>1</sup> ROWELL, Roger M. *Emerging technologies for materials and chemicals from biomass*. p. 11.



### **2.1.1. Biomasa residual**

La biomasa de origen residual es la que se genera, en su mayoría, en las actividades de producción y transformación en los sectores agrícola, forestal e industrial, son residuos porque carecen de valor económico en el contexto en el que se generan, ya sea en las actividades desarrolladas dentro del “sector primario (residuos agrícolas, ganaderos y forestales), secundario (residuos que se generan en las industrias transformadoras de las materias primas primarias) o terciario (residuos producidos por el consumo humano, como la fracción orgánica de los residuos urbanos, aguas residuales y aceites de fritura)”.<sup>2</sup>

### **2.1.2. Biomasa forestal residual**

La biomasa forestal residual, es la generada por la explotación de los bosques, como los residuos de ramas, hojas, tocones y raíces, corteza, aserrín y virutas, limpias de los bosques, entre otros, también dentro de este grupo se incluyen los residuos forestales industriales procedentes de las industrias papeleras y de pasta de papel, como las lejías negras ricas en lignina.

### **2.1.3. Biomasa agrícola residual**

- Restos de poda, levantamiento de cultivos (plantas viejas), de olivos, frutales, viñedos.
- Cereales, cultivos hortícolas, cultivos industriales, como la paja de cereal y el bagazo de maíz.
- Estiércol
- Industria azucarera (melazas, bagazos)
- Industria del café (marros, cascarilla)

---

<sup>2</sup> GARCÍA PRADO, María. *Biorrefinerías: situación actual y perspectivas del futuro*. p. 13.

- Elaboración de cerveza y malta (bagazo, grano residual)
- Elaboración de vino
- Elaboración de frutos secos (cáscaras y pieles)

#### **2.1.4. Cultivos energéticos**

Son cultivos que se destinan, en forma exclusiva, para la producción de energía, ya sea que se queme o que se utilice para elaboración de biocombustibles, generalmente, éste es el fin para la biomasa residual y cultivos energéticos.

#### **2.2. Composición y estructura de la biomasa forestal y agrícola**

Están compuestas en su mayoría de polisacáridos de elevado peso molecular, se emplean en la producción de biocombustibles sólidos con fines térmicos y/o eléctricos y para la producción de los denominados biocombustibles de segunda generación.

Existen varios tipos diferentes de biomasa lignocelulósica, incluyendo residuos agrícolas, cultivos herbáceos, árboles de madera dura y coníferos (madera suave), y residuos sólidos municipales, estos tipos de biomasa exhiben un amplio rango de susceptibilidades al pretratamiento y sacarificación debido a sus diferencias estructurales y composición. Así, previo al describir el proceso de pretratamiento, se debe proporcionar los conocimientos de la estructura física y composición química de los materiales lignocelulósicos; el enfoque se mantiene en los materiales herbáceos de fruta y de madera.<sup>3</sup>

Los materiales agrícolas y forestales, están compuestos mayormente de celulosa, hemicelulosa y lignina, pero también contienen cenizas y otros

---

<sup>3</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 293.

llamados materiales extraños, es difícil establecer una composición estándar para la biomasa forestal y agrícola, pues varía según el tipo de árbol, madera, verdura, fruta, etcétera. Típicamente se puede establecer una composición de materiales lignocelulósicos representativos. Se presenta a continuación

Tabla I. **Composición de biomasa representativa**

Biomasa	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)	Otros (%)	Extractivos (%)
Residuos Agrícolas	32	38	17	13	-
Madera Dura de ciclo corto y poco utilizadas	23	50	22	-	5
Cultivos herbáceos Energéticos	30	45	15	10	-

Fuente: HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 294

La celulosa es el mayor componente, seguido por la hemicelulosa y lignina; la fracción de papel de los desechos sólidos municipales es compuesta mayormente de celulosa, la madera dura es principalmente compuesta, aproximadamente, de 50% celulosa (seca), 23% hemicelulosa y 22% lignina. Los materiales herbáceos y residuos agrícolas contienen, de alguna manera, alta proporción de hemicelulosa (30-33%) relativa a la celulosa (38-45%) y bajos niveles de lignina (10-17%), “la composición y cantidad de compuestos extraños varía ampliamente entre los distintos tipos de biomasa, los componentes extraños abarcan extractivos, no extractivos, grasas, aceites, proteína, y ceniza”.<sup>4</sup>

<sup>4</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 294.

Los extractivos son compuestos solubles en agua o solventes orgánicos, en biomasa forestal incluyen terpenos (alcohol isopropeno y cetonas), resinas (grasas, ácidos grasos, alcoholes, resinas ácidas, y fitoesteroles) y fenoles (principalmente taninos).

Los no extractivos son principalmente compuestos inorgánicos tales como carbonatos alcalinotérreos y oxalatos, tanto como algunos materiales que no son de la pared celular, como almidones, pectinas y proteínas. Cristales de sílice no extractiva son abundantes en materiales herbáceos pero no en especies de madera.

Tabla II. **Composición de madera dura, eucalipto, y madera suave**

	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)
Madera dura (angiospermas), Eucalipto	23	50	22
Madera suave (gimnospermas)	25 – 35	45 – 50	25 – 35

Fuente: HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 294

Tabla III. **Composición de residuos del maíz**

Residuos de maíz	% total de azúcares			
	Xilosa	Arabinosa	Glucosa	Otros
Mazorca (Olote)	65,1	9,6	25,3	-
Hojas	59,0	9,4	29,1	2,5
Tallo	70,5	9,0	14,5	5,9
Cáscara	53,5	12,3	32,6	1,6
Médula	71,5	9,8	15,7	3,0

Continuación tabla III

Fibras	63,8	6,6	26,8	2,8
--------	------	-----	------	-----

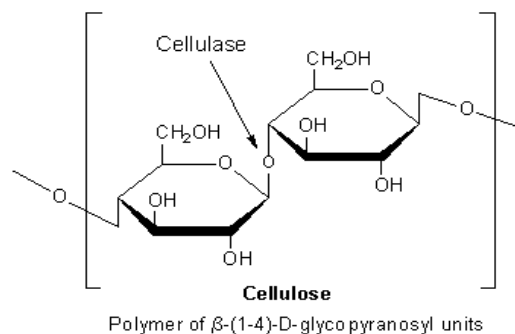
Fuente: FLICKINGER, Michael C.; DREW, Stephen W. *Encyclopedia of bioprocess technology - fermentation, biocatalysis, and bioseparation*. p. 1392

### 2.2.1. Celulosa

La celulosa es un polímero lineal de unidades de D-glucosa anhidros, unidas por enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos, la celulosa natural existe como un cristal fibroso con la llamada estructura de enrejado celulosa-I; sin embargo, la celulosa-I es convertida a celulosa-II por métodos fisicoquímicos tal como la absorción intercrystalina, los cristales de celulosa (celulosa-I o celulosa-II) están organizados en un compactado de microfibrillas cristalizadas, de un ancho de 35-40Å y cerca de 500Å de largo.

Un modelo muy aceptado de la estructura de cristal de la celulosa es el modelo de cadena plegable, figura 1, en la cual segmentos del polímero lineal de celulosa están plegados hacia atrás, y así sucesivamente a lo largo del eje mayor del cristal fibrilar para conformar microfibrillas individuales.

Figura 1. Estructura de la celulosa



Fuente: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/carbohydrate-analysis.html#Cellulose>. 15 nov. 2011

### 2.2.2. Lignina

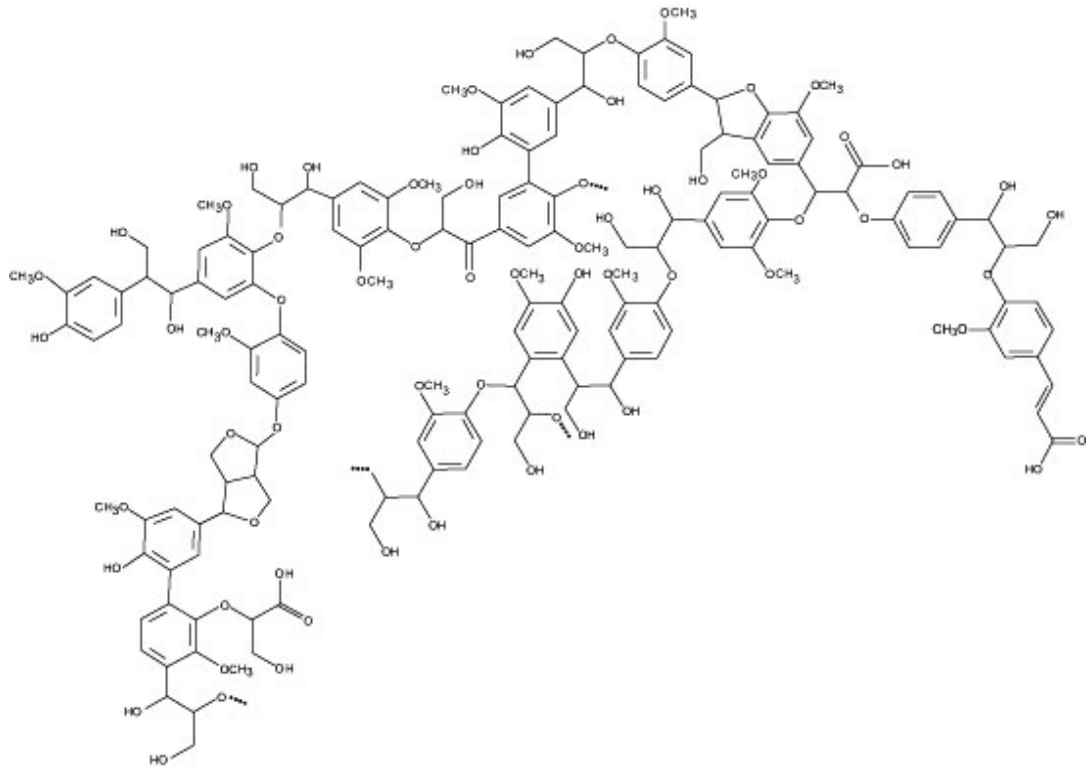
La lignina es un polímero de difícil degradación, está compuesta por ácidos fenilpropanoico, polimerizados en una compleja estructura tridimensional, monómeros individuales están unidos por uniones éter y carbón-carbón, figura 2. La lignina se forma por un mecanismo de polimerización radical libre y tiene, por tanto, una estructura al azar y sin orden, “se cree que la lignina y la hemicelulosa constituyen un escudo efectivo alrededor de las fibras de celulosa, lo cual añade fuerza estructural a la matriz de biomasa; es posible que enlaces covalentes existan entre la hemicelulosa y lignina, pero esto es aún incierto”.<sup>5</sup>

La cantidad de lignina en madera suave (25-35%) es apreciablemente mayor que en la madera dura (18-25%), y que las especies herbáceas y los residuos agrícolas (10%-20%); mientras más cantidad de lignina exista en la biomasa, más difícil es para esta susceptible a los ataques enzimáticos de los microorganismos, e hidrólisis con ácido o álcali.

---

<sup>5</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 295.

Figura 2. Estructura de la lignina



Fuente: [http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/enzymes-for-aer.html#lignin\\_related\\_enzymes](http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/enzymes-for-aer.html#lignin_related_enzymes). 15 nov. 2011.

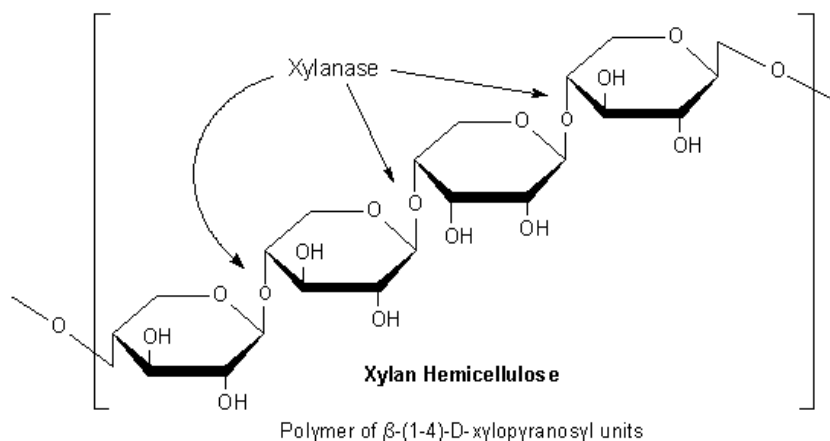
### 2.2.3. Hemicelulosa

La hemicelulosa es una cadena más corta de polisacáridos amorfos de celulosos y poliuronidos. Los celulosos son heteropolímeros compuestos por hexosas (manano, galactano y glucano) y pentosanos (xilano y arabiano). Los poliuronidos son similares a los celulosos, pero con cantidades apreciables de ácido hexurónico (glucurónico, galacturónico), y menor cantidad de grupos metoxil, acetil y grupos libres de carboxil. El xilano y glucomanano son los carbohidratos dominantes que componen la hemicelulosa, “la hemicelulosa de madera dura contiene, principalmente,

xilano, mientras que, la hemicelulosa de madera suave contiene, principalmente, glucomanano”.<sup>6</sup>

Por lo tanto la hemicelulosa es gran fuente de xilanos, que son los que se pueden fermentar para obtener el xilitol, la materia prima tiene que ser de mayor contenido en hemicelulosa, podría ser entonces limitada a residuos agrícolas y madera. El xilano es un polisacárido constituido por una cadena lineal de de xilosa y diversas ramificaciones y sustituciones; específicamente la xilosa es la que se fermenta a xilitol.

Figura 3. Estructura de la hemicelulosa



Fuente: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/carbohydrate-analysis/carbohydrate-analysis-ii.html>. 15 nov. 2011

<sup>6</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 295.



### **2.3. Tratamientos a la biomasa**

Muchos químicos simples y polímeros pueden ser producidos por modificación química o por fermentación de la hemicelulosa, así también como de la celulosa, lignina y almidón, pero a mediano y largo plazo, la conversión de biomasa hemicelulósica a xilitol usando microorganismos, y otros sistemas biológicos, es más atractiva.

La biomasa agrícola y principalmente la forestal son difíciles de tratar, como anteriormente se ha explicado, estas constan de lignina, difícil de degradar, para convertirlas en azúcares fermentables como la xilosa (D-xilosa o L-xilosa) o glucosa, es necesario realizar pretratamientos, previos a la fermentación, para que se rompa la lignina permitiendo tener acceso a la celulosa y a la hemicelulosa, la hemicelulosa, en este caso, es la única gran fuente de xilanos en la biomasa a utilizar, los xilanos son los que darán origen a la xilosa que es fermentada a xilitol.

Así los xilanos, químicos intermedios ricos en grupos hidroxilo, surgen a partir de la hemicelulosa, de esta manera los materiales hemicelulósicos pueden ser descompuestos en xilanos.

#### **2.3.1. Tratamiento físico**

Es un pretratamiento a la biomasa, todo proceso de tratamiento envuelve un paso inicial mecánico o físico, en el cual la biomasa es reducida mediante una combinación de trituración, astillado, molienda o fresado. Aquí se busca reducir lo más posible el tamaño de la biomasa sólida.

Las astillas, o chips de biomasa tienen una dimensión característica de 1-3 cm, las astillas luego se pueden, preferiblemente, “moler o fresar para llevarla a una dimensión de 0.2-2.0mm”.<sup>7</sup>

Mientras más pequeño se desea el tamaño de la partícula, más energía se debe gastar en las máquinas pero en parte es bueno pues aumenta la superficie de contacto para el tratamiento con ácido, dando un aumento en la cantidad de azúcar que se hidroliza de la biomasa, claro es que existe un tamaño de partícula óptimo para el proceso.

Algunos investigadores han concluido que el proceso de molienda, especialmente la molienda con bola vibratoria, incrementa la reactividad de la celulosa y hemicelulosa al reducir su cristalinidad, además de incrementar la superficie de área externa que se expone al ácido.

### **2.3.2. Hidrólisis con ácido**

Este es un pretratamiento químico, su objetivo es romper la estructura de la fibra de lignocelulosa (lignina y celulosa) para facilitar el ataque enzimático de la levadura. Durante este pretratamiento se produce el fraccionamiento de la biomasa en sus componentes principales, celulosa, hemicelulosa y lignina, mayor reducción de la cristalinidad de la celulosa y el aumento del área superficial accesible.

Las características que debe cumplir un pretratamiento para poder alcanzar la etapa comercial incluyen bajos requerimientos tanto de productos químicos como de energía, que se originen pocos efluentes y se evite la producción de diversos compuestos que afecten negativamente a etapas sucesivas en la obtención de bioproductos, el xilitol.

---

<sup>7</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 303.

En los pretratamientos químicos se emplean agentes químicos para alterar la estructura lignocelulósica y hemicelulósica para solubilizar las azúcares básicas que las constituyen, entre los pretratamientos químicos más estudiados se encuentran los tratamientos con ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y agentes oxidantes, el principal inconveniente que presenta este tipo de pretratamientos es que requieren de una etapa de neutralización previa a la fermentación y que se producen una serie de compuestos que afectan negativamente a las etapas posteriores, especialmente la fermentación pues dañan a la célula.

Los ácidos más empleados son los ácidos clorhídrico y sulfúrico. Los procesos industriales de hidrólisis ácida pueden realizarse mediante ácidos concentrados a bajas temperaturas o ácidos diluidos a altas temperaturas.

A elevadas temperaturas y en presencia de ácidos, se produce una degradación de los azúcares procedentes de la fracción hemicelulósica, que pueden afectar negativamente a la posterior fermentación, la degradación de algunos azúcares, especialmente los provenientes de la hemicelulosa, tal como la xilosa, origina subproductos tóxicos para la levadura como el furfural y el hidroximetilfurfural, para disminuir la degradación de estos azúcares se suele realizar un proceso de hidrólisis ácida en dos etapas, una primera suave en la que se hidroliza la hemicelulosa, seguida de una más severa que altere la estructura de la celulosa.

La hidrólisis con ácido diluido es uno de los procesos más antiguos, también se puede realizar con ácido concentrado, se ha demostrado que es más efectiva con ácido diluido y a altas temperaturas.

A medida que se aumenta la concentración de ácido y el tiempo en la hidrólisis ácida, mayor es la cantidad de azúcares extraídos, se encuentra una mayor presencia de xilosa en el licor originado, además al "aumentar la

temperatura, en el pretratamiento, la cantidad de azúcares liberados en la sacarificación aumenta”.<sup>8</sup>

Debe existir un tiempo prudente, donde se evite la degradación continua de los azúcares y donde se logre la mayor solubilización de estos azúcares provenientes de la hemicelulosa. Por supuesto, siempre se solubilizarán hexosas provenientes de la celulosa y lignina.

Lograr altos rendimiento en la conversión del xilano a xilosa es necesario para alcanzar procesos totales favorables económicamente, porque el xilano forma hasta una tercera parte del total de carbohidratos in muchos materiales hemicelulósicos.

Actualmente el Laboratorio Nacional de Energía Renovable de Estados Unidos, *National Renewable Energy Laboratory (NREL)*, favorece la hidrólisis con ácido diluido como el pretratamiento de opción para un proceso comercial de biomasa, “el tratamiento con ácido diluido a altas temperaturas causa que la hemicelulosa se hidrolice en sus azúcares y evita su descomposición a furfural”.<sup>9</sup>

### **2.3.3. Hidrólisis enzimática**

El proceso consiste en descomponer la celulosa y la hemicelulosa de la biomasa en azúcares sencillos y transformarlos por fermentación, aquí se utilizan directamente enzimas puras y asiladas de cierto microorganismo; como resultado del pretratamiento se obtiene una disolución de azúcares provenientes de la ruptura de la hemicelulosa y un residuo sólido (constituido principalmente por la celulosa del residuo original).

---

<sup>8</sup> KLASS, Donald L. *Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals*. p. 502..

<sup>9</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. p. 306.

La hidrólisis enzimática presenta ventajas frente a la hidrólisis química, como menores costes de equipamiento debido a que se realiza a presión atmosférica y temperaturas próximas a la ambiental, mayores rendimientos y no necesita utilizar agentes químicos.

#### **2.3.4. Tratamiento biológico o bioconversión**

Es también conocida como transformación microbiana, biotransformación, o en los casos de ciertas industrias como fermentación microbiológica, y son cambios menores en las moléculas, tal como la introducción de una función hidroxil o keto o la saturación/insaturación de una estructura cíclica compleja. El microorganismo por lo tanto actúa como un biocatalizador, las bioconversiones tienen muchas ventajas sobre los procesos químicos, una ventaja importante es estereoquímica; pues la forma biológicamente activa de un producto es hecha.

En contraste, varias síntesis químicas producen mezclas racémicas causando la complicada separación del producto deseado. Las enzimas también juegan un papel importante, bacterias unicelulares, actinomicetos, levaduras y hongos han sido utilizados en bioconversiones, las enzimas responsables de estas conversiones pueden ser intracelulares o extracelulares, producidas por el microorganismo.

#### **2.3.5. Fermentación**

La fermentación es un proceso biológico mediante el cual algunos polímeros, azúcares monoméricos o aminoácidos se rompen en sustancias de menor peso molecular tales como los ácidos orgánicos y solventes neutros como el etanol, la fermentación puede llevarse a cabo mediante gran variedad de microorganismos como bacterias, levaduras y hongos; por tanto la fermentación es una bioconversión.

Las reacciones de fermentación se realizan a nivel industrial en los fermentadores, donde el jugo azucarado es mezclado con otros nutrientes para crear las condiciones favorables para el microorganismo. Cuando la población microbiana alcanza un determinado tamaño comienza la fermentación y continúa hasta que se consumen todos los azúcares fermentables, o hasta que se produce la inhibición del metabolismo del microorganismo por el producto final.

Los rendimientos en los productos de fermentación son bajos en comparación con los procesos de síntesis química, sin embargo, el proceso es muy específico y puede dirigirse a la formación de determinados productos: etanol, metanol, ácido cítrico, glicerol, xilitol y otros edulcorantes, emulsionantes, vitaminas, ácidos grasos, aceites, enzimas, sustancias de aplicación farmacéutica y proteínas heterólogas, proteínas celulares, entre otros.

La ventaja de la fermentación, en comparación con la síntesis química de cierto producto, es que generalmente genera desechos no contaminantes, fáciles de reciclar, o en el caso de la levadura misma, son reutilizables para una nueva aplicación como abono, alimento animal o humano, o en el mismo proceso. Otra ventaja es que el proceso de fermentación es más barato que la síntesis química, aunque no para todos los procesos de fermentación y por eso mismo ahora se aplica la ingeniería genética al microorganismo para obtener buenos rendimientos del producto y hacer el proceso factible económicamente, esto en ciertos casos pues aún no es posible, todavía, en ciertos procesos.

Cualquier material orgánico es apto de ser fermentado en moléculas de menor tamaño, pero son los azúcares de seis átomos de carbono los de mayor disponibilidad en la naturaleza, ya sea en forma de monosacáridos (mayoría en forma de glucosa y menores cantidades de fructosa, galactosa y

manosa), en disacáridos (maltosa, sacarosa, lactosa) o en forma polimérica, como en el almidón, celulosa, inulina y hemicelulosa. Por lo tanto los azúcares de seis átomos de carbono son los más fermentados en la industria.

#### **2.3.5.1. Digestión anaerobia**

La digestión anaerobia es un proceso de fermentación sin presencia de oxígeno. Este proceso de transformación puede aplicarse sobre cualquier tipo de biomasa, especialmente en aquellas con un alto contenido de humedad.

#### **2.3.5.2. Digestión aerobia**

En la digestión aerobia, la fermentación se lleva a cabo con presencia de oxígeno, aquí a la biomasa se le garantiza un suministro de oxígeno mediante agitación, ya sea mecánica o por el mismo flujo de aire, el proceso es complejo ya que interviene una gran variedad de microorganismos: mesófilos, termófilos, bacterias esporígenas y actinomicetos. El rendimiento del proceso depende de parámetros como la temperatura, pH, humedad, nutrientes, y los niveles de oxígeno, por lo que es necesaria una buena aireación y agitación durante el mismo.

#### **2.3.6. Productos potenciales de la fermentación microbiológica**

En la actualidad alrededor del 85% de los productos químicos se obtienen a partir de aproximadamente 20 productos químicos base (“building blocks”). “De estos 20 productos, 8 proceden de la industria petroquímica, a

partir de los cuales se producen más de 300 compuestos intermedios que a su vez pueden transformarse en alrededor de 30 000 productos finales”.<sup>10</sup>

En el Laboratorio Nacional del Pacífico Noroeste (*Pacific Northwest National Laboratory*) y en el Laboratorio Nacional de Energía Renovable (*National Renewable Energy Laboratory*), en Estados Unidos, se han identificado los 12 productos químicos base, potenciales, que se pueden obtener a partir de la biomasa lignocelulósica (lignina, celulosa y hemicelulosa). Entre éstos se encuentra el xilitol y arabinitol. Además, partiendo de estas moléculas o productos químicos base pueden obtenerse compuestos intermedios o derivados, algunos otros pueden ser el ácido succínico, ácido aspártico, ácido glucorónico, sorbitol, glicerol, entre otros.

Los azúcares fermentables de la biomasa rica en hemicelulosa pueden ser, en su mayoría, de cinco (xilosa) y seis átomos de carbono (glucosa), finalmente la fermentación ofrece un gran potencial de obtención de nuevos productos químicos base dada la gran diversidad de microorganismos existentes y los avances en la biotecnología y genética.

#### **2.4. Selección del microorganismo para la bioconversión**

Es como objetivo principal en la biotecnología encontrar el microorganismo adecuado para el proceso deseado. Una amplia variedad de alternativas están disponibles, desde aislar microorganismos del ambiente a usar técnicas moleculares sofisticadas para modificar un microorganismo existente. El microorganismo a elegir debe tener una producción de enzimas que consumen el substrato para producir el producto deseado. Estos producen las enzimas como parte de su metabolismo, ya sea natural o modificado genéticamente.

---

<sup>10</sup> GARCÍA PRADO, María. *Biorrefinerías: situación actual y perspectivas del futuro*. p. 85



Algunos microorganismos producen las enzimas deseadas para realizar la bioconversión del sustrato en poca cantidad, o a veces en ninguna pues naturalmente no las poseen, aun así se puede modificar genéticamente al microorganismo para que produzca estas enzimas, no obstante hay que considerar cuál microorganismo rinde mejor con estas modificaciones.

Las enzimas juegan el papel principal en la bioconversión a tal punto que no es necesario tener al microorganismo sino solo la enzima para la bioconversión, pero es totalmente necesario tener al microorganismo que produzca la enzima que luego se aislar. Aunque se puede producir la enzima por síntesis química pero es un proceso demasiado caro.

Una forma de aumentar la producción enzimática en un microorganismo que produce la enzima deseada pero en pocas cantidades, es por medio de la adaptación en un medio parecido en donde se desarrolla la bioconversión del sustrato.

Las manipulaciones genéticas son entonces útiles para producir microorganismos con las características deseadas, es por esto que los métodos de genética microbiana son importantes en el desarrollo de cultivos microbianos para la industria microbiológica, si se piensa llevar los experimentos para producción industrial los cuales un ingeniero químico es capaz de desarrollar.

En investigaciones previas se ha utilizado la *Saccharomyces cerevisiae* con modificaciones genéticas, recombinante, para hacer que esta produzca la enzima xilosa reductosa, principal enzima que convierte la xilosa en xilitol, entre otras.

Se ha utilizado levaduras como *Candida guilliermondii*, *Candida peltata*, *Candida parapsilosis*, *Candida maltosa*, *Candida tropicalis* y bacterias como *Corynebacterium*. Generalmente se experimenta con *C. parapsilosis* recombinante, en este trabajo se utilizó la *S. cerevisiae* natural y realizó el experimento parecido a como se haría industrialmente en cuanto al equipo y materia prima utilizada.

#### **2.4.1. Factores de crecimiento**

Los microorganismos a menudo crecen y se reproducen cuando minerales y fuentes de energía, carbono, nitrógeno, fósforo y azufre son provistos. Estos organismos tienen enzimas y vías metabólicas necesarias para sintetizar todos los componentes requeridos para su bienestar. Varios microorganismos, por otro lado, son faltos de una o más enzimas esenciales. Por lo que no pueden manufacturar todos los constituyentes indispensables. Los compuestos orgánicos requeridos, porque son componentes orgánicos esenciales de la célula y porque no pueden ser sintetizados por el microorganismo son llamados factores de crecimiento, son

- Amino ácidos
- Purinas y piridinas
- Vitaminas

La yema de huevo es un ejemplo de un proveedor de fuentes de aminoácidos. Los aminoácidos son para que el microorganismo sintetice proteínas para su crecimiento; también contiene vitaminas A, D y E. “Las vitaminas constituyen todo o una parte de las enzimas de los microorganismos, y tienen poca influencia en el crecimiento” <sup>11</sup>. Además contiene fósforo, manganeso, hierro, yodo, cobre y calcio.

---

<sup>11</sup> SAMAYOA MENÉNDEZ, Erick Norman. *Análisis cuantitativo comparativo del huevo como fuente de proteínas esenciales en la alimentación del ser humano*. p. 14-16.

## 2.5. *Saccharomyces cerevisiae*

Es un hongo unicelular y comúnmente llamada levadura, la *S. cerevisiae* tiene una importancia industrial histórica y cuenta con una larga lista de aplicaciones en fermentación de la biomasa. Por ejemplo esta fermenta la glucosa por la vía Embden-Meyerhoff-Parnas dando el etanol como único producto, con pocas cantidades de glicerol y acetato para mantener un balance intracelular.

La *S. cerevisiae* es una levadura anaerobia facultativa, capaz de crecimiento anaerobio pues tiene un sistema respiratorio restringido capaz de un efecto “Crabtree”, hay una pequeña pérdida de rendimiento en la fermentación, este efecto es necesario por su fundamental importancia en la fermentación de carbohidratos porque normalmente desacopla la utilización de sustrato de la respiración, aún en presencia de oxígeno. La temperatura de crecimiento óptimo de la *S. cerevisiae* es de 28°C, máximo de 40°C y mínimo de 1-3°C. Además “la *S. cerevisiae* puede crecer en un medio, considerado extremo, de pH 2 a 3”.<sup>12</sup>

Su sistema de transporte facilitado de difusión de un azúcar maximiza la eficiencia de la energía intracelular al eliminar la necesidad de ATP generada anaeróbicamente, lo anterior de manera principal para la producción de etanol. Pero existe una desventaja con la *S. cerevisiae* natural, carece de una vía de asimilación de xilosa estable y niveles adecuados de una vía enzimática de pentosa fosfato para fermentar la xilosa a etanol; así esta desventaja es aprovechable para otras aplicaciones, por ejemplo la producción de xilitol en un ambiente rico en xilosa.

Si la levadura *S. cerevisiae* se desarrolla en un ambiente rico en xilosa, los productos en mayor cantidad al final de la fermentación son el xilitol y el

---

<sup>12</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*, p. 343.

etanol. La *S. cerevisiae* puede asimilar la xilosa a través de la vía pentosa fosfato; la levadura utiliza la xilulosa, que es un conjunto de enzimas para asimilar la xilosa, este conjunto de enzimas es principalmente la D-xilulosa-5-fosfato, D-xilosa isomerasa, xilulosa kinasa, xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa.

Dado que la *S. cerevisiae* es utilizada ampliamente para fermentaciones en la industria de bebidas alcohólicas y de etanol y que la fermentación es una bioconversión, en este trabajo la fermentación es la bioconversión que la *S. cerevisiae* es capaz de realizar con la xilosa a xilitol y subproductos.

Progresos se han visto desde los años 1990 a fin de lograr una levadura alta en fermentación de xilosa, usando medios sintéticos de laboratorio suplementados con D-xilosa pura. También teniendo como uso preferido de levaduras modificadas genéticamente.

Varias levaduras, por ejemplo la familia *Saccharomyces* o *Candida*, poseen xilosa reductasa dependiente de NADPH, la cual cataliza la reducción de xilosa a xilitol como primer paso en su metabolismo. El xilitol puede ser oxidado subsecuentemente por la acción de xilitol deshidrogenasa, la cual usa preferencialmente  $\text{NAD}^+$  como un aceptor de electrones. Un excedente de NADH durante la limitación transitoria de oxígeno inhibe la actividad de xilitol deshidrogenasa resultando en la acumulación de xilitol, ver figura 4. “El oxígeno actúa como aceptor en la oxidación”.<sup>13</sup>

La presencia de glucosa induce en la *S. cerevisiae* a la regeneración de NADH por medio de PPP, no obstante, cuando la D-xilosa sirve como fuente de carbono esto no ocurre.

---

<sup>13</sup> HIMMEL, Michael E. *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*. p. 348.

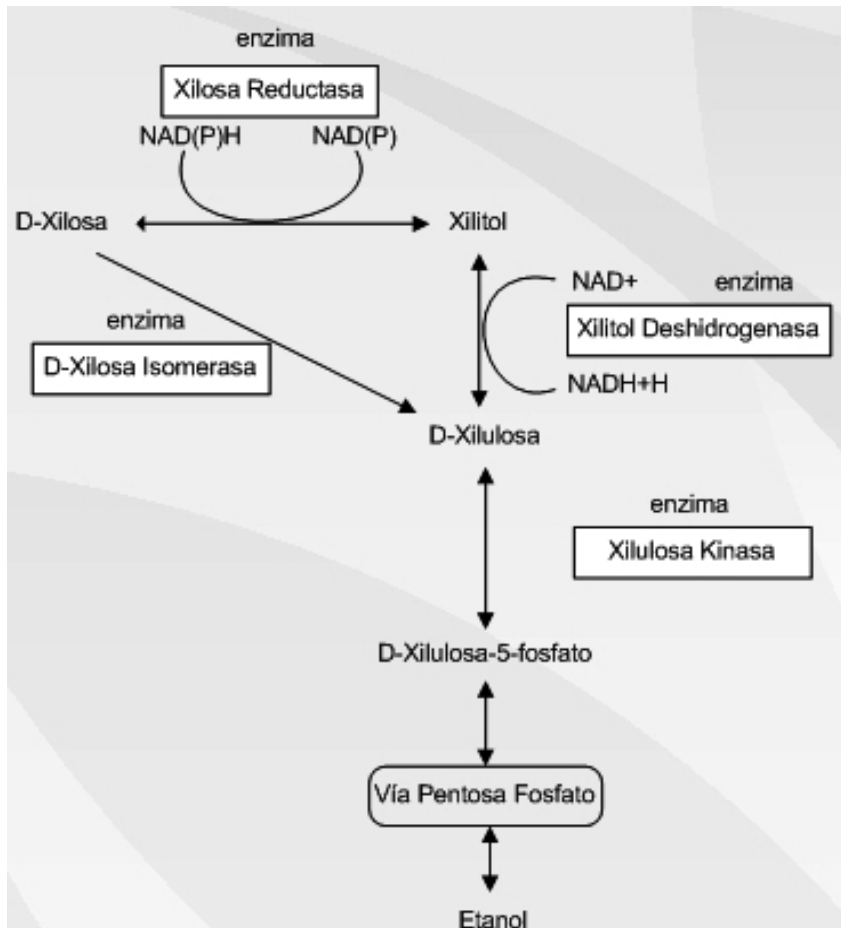
Debido al hecho que la D-xilosa es una fuente de carbón no preferida por la *S. cerevisiae*. Recientemente, resultados alentadores han sido reportados por la mejora de la toma de D-xilosa por medio de técnicas de mutación espontánea, abriendo nuevas posibilidades si se considera la producción de etanol. En términos de producción microbiana de xilitol, la cepa más prominente para producción debería tener dependencia dual de XR, ya que abolirá parcialmente el cuello de botella en la regeneración de NADH por medio de PPP.

En términos de acumulación de xilitol, “la inhibición de actividad de la enzima XDH por la concentración de NADH intracelular y la regeneración de NAD son ambas igualmente significantes en reacciones bioquímicas”<sup>14</sup>. Además, la cepa para producción debe ser un consumidor natural de D-xilosa o que posea las correspondientes características en términos de toma de D-xilosa y que mantenga el balance redox intracelular, “la mayoría de cepas *Candida* caben en esta categoría”.

---

<sup>14</sup> BIRGER GRANSTRÖ, Tom; IZUMORI, Ken; LEISOLA, Matti. *A rare sugar xylitol. Part I: the biochemistry and biosynthesis of xylitol*. p. 278

Figura 4. **Vía metabólica de la asimilación de xilosa por bacterias y levaduras**



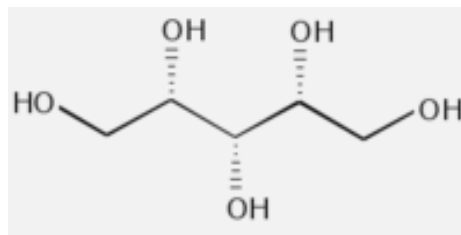
Fuente: HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*, p. 247

## 2.6. Xilitol

Es un polialcohol de azúcar, es una pentosa (aldosa). Su nombre IUPAC es (2R, 3R, 4S)-Pentano-1, 2, 3, 4, 5-pentol. Es soluble en agua. El xilitol puede obtenerse por fermentación de la xilosa presente, por ejemplo, en los bagazos de caña de azúcar y de maíz, y los licores sulfíticos de la industria papelera.

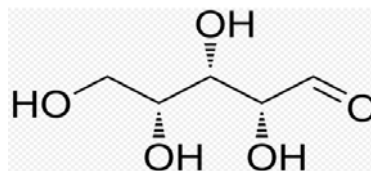
Es conocido como Xilitol CFSAN, CAS 87-99-0, EINECS 201-788-0, Xylitol, Xylite, Xylit, Eutrit, Kannit, Klinit, Kylit, Newtol, Torch, Xyliton, Xylitol C, Xylo-pentano-1, 2, 3, 4, 5-pentol ó Xylisorb.

Figura 5. **Estructura del xilitol**



Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Xylitol-2D-structure.svg>. 15 nov. 2011

Figura 6. **Estructura de la D-xilosa**



Fuente: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Xylose\\_linear.png](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Xylose_linear.png). 15 nov. 2011

El xilitol se encuentra naturalmente, en pequeñas cantidades (menos de 0.9g/100g), en varias frutas y vegetales que constituyen parte de la dieta humana. Es uno de los poliol azúcares más caros de producir. En una escala industrial se produce por medio de una reducción química con catalizador metálico de la xilosa derivada de los hidrolizados hemicelulósicos. El hidrolizado de abedul es el substrato más común. El proceso químico es caro debido a la alta temperatura y presión necesaria para la hidrogenación de la xilosa. Aún más, la cara purificación y separación del xilitol.

Pero el xilitol puede ser formado, como un intermediario metabólico de la D-xilosa, por una amplia variedad de microorganismos. “Es convertido a partir de la xilosa por la NADPH-dependiente aldehído reductasa o a partir de la xilulosa por la NAD-dependiente xilitol deshidrogenasa” <sup>15</sup>. Varias cepas de levaduras naturales tienen la habilidad para producir cantidades significativas de xilitol a partir de la xilosa reductasa que producen extracelularmente, como una actividad metabólica común en ellas.

Usualmente, el rendimiento en peso del xilitol producido a partir de xilosa por levaduras naturales es cerca del 75-80%.

Un equipo de cromatografía HPLC, con IR se utiliza para realizar la cuantificación del xilitol. Para esto se debe contar con un estándar de xilitol, es decir de alta pureza, con el que se realiza una curva de calibración en el cromatógrafo con diferentes puntos donde se espera que esté la concentración de xilitol. Un mínimo de cinco inyecciones de xilitol estándar basta para elaborar la curva de calibración.

La muestra a analizar se puede filtrar en filtro de membrana de 0.45µm, también se puede utilizar uno de 0.20µm. Generalmente en el cromatógrafo la columna se trabaja a temperatura desde 26 a 32°C, en algunos casos según la viscosidad, debido a la concentración de azúcares de la muestra, desde 70 a 80°C; en la fase móvil se puede utilizar agua o acetonitrilo, velocidad de flujo entre 0.5 a 0.6ml/min y 20µl de muestra, es común trabajar 1.0 a 1.5ml/min.

---

<sup>15</sup> SMITH, Jim; HONG-SHUM, Lily. *Food additives data book*. p. 1000-1003.



### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Definición operacional de las variables en el proceso de obtención de xilitol.

Las variables a modificar se eligieron para decidir cuál tratamiento a la biomasa es el mejor, y hallar el rendimiento de la levadura natural para metabolizar xilitol.

Tabla IV. **Matriz de variables presentes en el experimento y definición operacional**

No.	Variable	En el proceso es:		Factores perturbadores en el proceso	
		Constante	Variable	Controlable	No Controlable
Obtención de Xilitol					
1	Temperatura hidrólisis		X		
2	pH cultivo de levadura	X			
3	Composición del medio de cultivo de levadura	X			
4	pH de fermentación	X			
5	Volumen a fermentar	X			
6	Tiempo hidrólisis	X			
7	Tiempo fermentación		X		
8	Cantidad de biomasa	X			
9	Tipo de levadura	X			
10	Concentración de ácido de hidrólisis		X		

Continuación tabla IV

11	Xilosa y xilitol hidrolizadas				X
12	Otras azúcares Hidrolizadas				X
Análisis del Ambiente Externo					
13	Temperatura ambiente				X
14	Presión atmosférica				X
15	Oxígeno en aire				X

Fuente: elaboración propia

### 3.2. Delimitación del campo de estudio

- Área/Industria: Bioingeniería / Microbiología Industrial
- Proceso: Fermentación de biomasa rica en hemicelulosa
- Etapa del proceso: Comparación del rendimiento de los hidrolizados de madera de eucalipto y olote de maíz para la producción de xilitol
- Ubicación: Universidad de San Carlos de Guatemala, laboratorios de Microbiología Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Laboratorio Individual.  
Centro de Ingeniería Bioquímica de la Universidad del Valle de Guatemala.

### 3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigador: Allan Daniel Gómez Flores

- Asesora: Inga. Hilda Palma

### **3.4. Recursos materiales disponibles**

Se utilizó cristalería para laboratorio, un reactor de acero inoxidable escala laboratorio y equipo especial para cuantificación de azúcares.

#### **3.4.1. Materia prima y reactivos**

- Madera de eucalipto, sin preferencia de género
- Olote de maíz, sin preferencia de tipo
- Agua desmineralizada
- Ácido sulfúrico al 97%
- Carbonato de calcio
- Carbón activado
- Levadura panificadora activa
- Nutrientes para la levadura
- D-Xilosa >99% pureza
- Xilitol >99% pureza

#### **3.4.2. Cristalería**

- Pipetas serológicas de 5 y 10mL
- Probetas de 10, 50 y 100mL
- Beackers de 50, 100, 200, 500 y 1 000mL
- Varillas de agitación
- Cajas de petri
- Tubos de ensayo
- Kitasato

### **3.4.3. Equipo**

- Autoclave
- Balanza digital
- Medidor de pH
- Incubadora microbiológica
- Horno
- Campana de extracción
- Microscopio
- Bomba de vacío
- Embudo Buchner
- Papel filtro
- Cromatógrafo HPLC con IR
- Plancha de calentamiento con agitación.
- Pizetas
- Pinzas de metal
- Agitadores magnéticos
- Mangueras de hule
- Perillas de succión.
- Termómetro
- Sierra

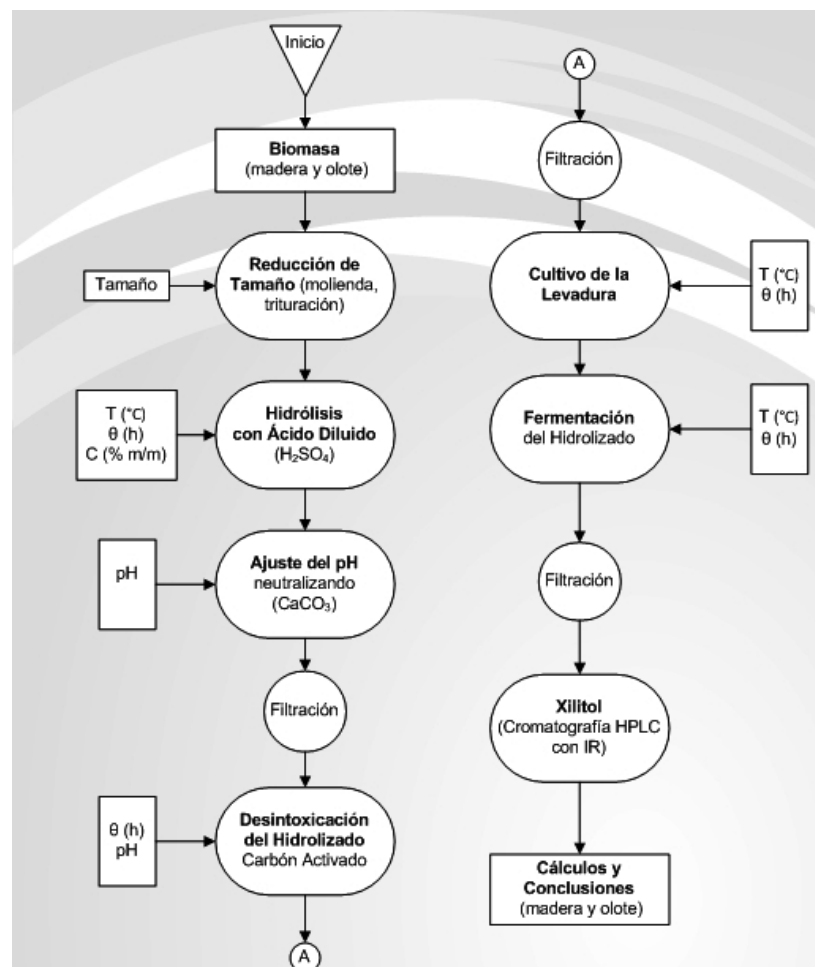
### 3.5. Técnica cuantitativa

En esta sección se presentan detalladamente la descripción básica de cada etapa del experimento.

#### 3.5.1. Diseño general

Se presenta a continuación la técnica cuantitativa utilizada por medio del diagrama de flujo del experimento y las variables que afectan cada etapa

Figura 7. Diagrama de flujo del experimento



Fuente: elaboración propia

### **3.5.2. Tratamiento físico**

Utilizando una sierra eléctrica, cada biomasa se redujo a astillas de tamiz 30 a 40.

### **3.5.3. Tratamiento químico (hidrólisis con ácido)**

Se colocaron dentro de un reactor de acero inoxidable 500g de biomasa, se le añadió agua desmineralizada a 70°C, en proporción 2(agua):1(biomasa). El ácido sulfúrico se agregó en 1, 2 y 3% masa ácido/masa total. La mezcla acidificada se calentó, en un reactor de acero inoxidable, a 110 y 120°C durante 20min. Se dejó enfriar el hidrolizado hasta temperatura ambiente, se añadió carbonato de calcio para ajustar la mezcla a pH 5. Se filtró para eliminar sal precipitada y sólidos de biomasa. Generalmente la presión en el reactor durante la hidrólisis a 110°C fue de 18,0psi  $\pm$  2,5psi, y a 120°C fue de 20,0psi  $\pm$  2,5psi.

El reactor utilizado es de grosor de pared de 1/16 pulgadas, altura 8,3pulg, diámetro 6pulg, tapa plana, manómetro, termómetro, válvula alivio de 60psi.

### **3.5.4. Desintoxicación del hidrolizado**

Se trasegó el hidrolizado a un beacker de 1000ml y se le añadió 20g/l de carbón activo, dejando actuar a éste por 2 horas a 30°C; seguido se procedió a su filtración. Se tomó una muestra del hidrolizado desintoxicado para cuantificar azúcares.

### **3.5.5. Cultivo de la levadura**

Se cultivó en un medio líquido definido, 250ml de agua desmineralizada a pH 5, el pH se ajustó con ácido sulfúrico; compuesto por 30g/l D-xilosa,

levadura 4g/l, yema de huevo 4g/l y 3ml del hidrolizado desintoxicado, incubado a 28°C durante 24 horas antes de la fermentación. Se tomó una muestra de cultivo, antes de la fermentación, para cuantificar azúcares.

### **3.5.6. Fermentación**

En un frasco earlenmayer se sirvieron 200ml de hidrolizado desintoxicado, se añadieron 8ml de una solución de D-xilosa 15g/l, yema de huevo 6g/l y 25ml del cultivo de levadura, dejando fermentar durante 30 y 48 horas; la fermentación se realizó a 28°C y presión ambiente, cada earlenmayer se tapó con un círculo de papel con cinco agujeros de 1cm de diámetro, a cada agujero se le colocó una delgada capa de algodón.

### **3.5.7. Concentración del producto**

Se preparó la muestra fermentada para su análisis filtrándola con filtros de PTFE de 20µm. Se utilizó un cromatógrafo de HPLC marca HP con auto muestreado, y con un medidor de Índice de Refracción marca Agilent Technologies. En el equipo de cromatografía se utilizó una columna NH2 ZORBAX 4.6x250 mm, 5µm, fase móvil acetonitrilo agua proporción 70/30, temperatura de 26°C en el detector y en el termostato (tcc), 1,5 ml/minuto de flujo. En estas condiciones del equipo se hallaron los tiempos de retención para la xilosa y xilitol, 3,991min y 4,553min respectivamente. Previamente se realizó la curva de calibración con estándares de D(+)-xilosa, xilitol, fructosa, sacarosa y glucosa. La concentración se trabajó en g/ml.

### **3.6. Recolección y ordenamiento de la información**

Se inició el experimento con 500g de biomasa a trabajar, en sus condiciones naturales se le realizó el tratamiento físico, seguido de este tratamiento no se le realizó alguna modificación a su nueva condición.

Durante y después del experimento, se ordenaron los datos según los formatos básicos de tablas que a continuación se muestran

Tabla V. **Formato básico de tabla para xilosa y xilitol inicial en el hidrolizado**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	XsaHi <sub>0</sub> (g/l)	XsaFe <sub>0</sub> (g/l)	Δ XsaFe <sub>0</sub> (±g/l)	XolHi <sub>0</sub> (g/l)
Madera de Eucalipto/ Olote de Maíz	110 ± 1	A1	1				
		A2	2				
		A2	3				
	120 ± 1	A4	1				
		A5	2				
		A6	3				

Fuente: elaboración propia

Tabla VI. **Formato básico de tabla para xilosa y xilitol después de la fermentación**

Biomasa	No.	Xsa <sub>f</sub> (g/l)	XolHPLC <sub>f</sub> (g/l)	XolC <sub>f</sub> (g/l)	Δ XolC <sub>f</sub> (±g/l)	Tiempo de Fermentación (h)	
Madera de Eucalipto/ Olote de Maíz	A1					30 ± 1.4E-4	
	A2						
	A2						
	A4	A4					30 ± 1.4E-4
		A5					
		A6					

Fuente: elaboración propia



Tabla VII. **Formato básico de tabla para la productividad de xilitol obtenida**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	Tiempo de Fermentación (h)	$P_{xol}$ (g/l·h)	$\Delta P_{xo}$ ( $\pm$ g/l·h)
Madera de Eucalipto/ Olote de Maíz	$110 \pm 1$	A1	$30 \pm 1.4E-4$		
		A2			
		A2			
	$120 \pm 1$	A4	$30 \pm 1.4E-4$		
		A5			
		A6			

Fuente: elaboración propia

Tabla VIII. **Formato básico de tabla para el rendimiento de xilitol obtenido y consumo de azúcar**

Biomasa	No.	$R_{xol/xsa}$ (g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$\Delta R_{xol/xsa}$ ( $\pm$ g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$X_{saC}$ (g/l)	$\Delta X_{saC}$ ( $\pm$ g/l)
Madera de Eucalipto/ Olote de Maíz	A1				
	A2				
	A2				
	A4				
	A5				
	A6				

Fuente: elaboración propia

### **3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información**

Los datos obtenidos se analizaron y ordenaron con la ayuda de software para computadora.

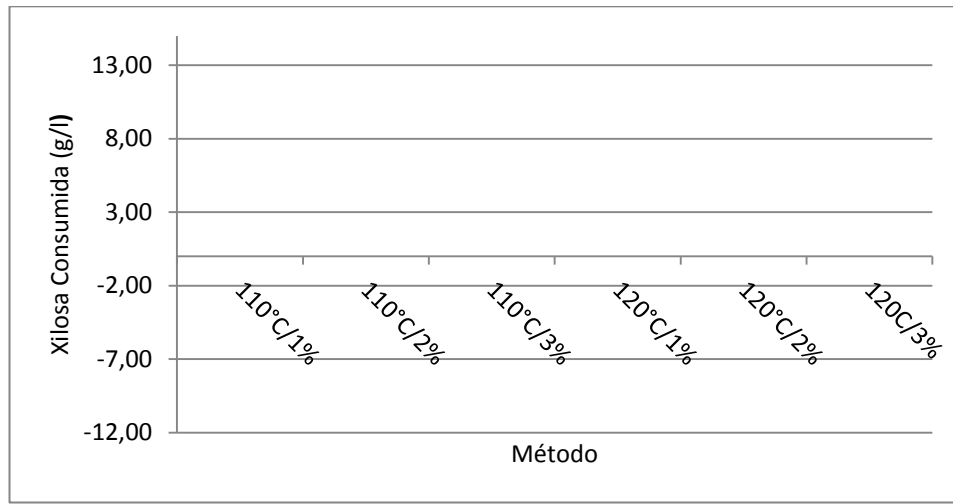
#### **3.7.1. Microsoft Excel 2007**

Se empleó Microsoft Excel 2007 para realizar los cálculos matemáticos, todas las gráficas y sus modelos de regresión. Los modelos de regresión empleados se escogieron como una curva que pase por todos los puntos obtenidos, un modelo cuadrático fue el que más se utilizó. Sin embargo, las condiciones experimentales afectan los resultados y por lo tanto no se puede afirmar que todos los modelos son exactos. Los intervalos de validez de los modelos experimentales son aplicables solo para el conjunto de valores que puede tomar la variable independiente durante el experimento. Los formatos básicos de gráficas se presentan a continuación

Figura 8. **Formato básico de gráfica para cualquier azúcar presente luego de la hidrólisis**

Fuente: elaboración propia

Figura 9. **Formato básico de gráfica para el consumo, productividad y rendimiento de xilitol, según el tipo de método aplicado a la biomasa**

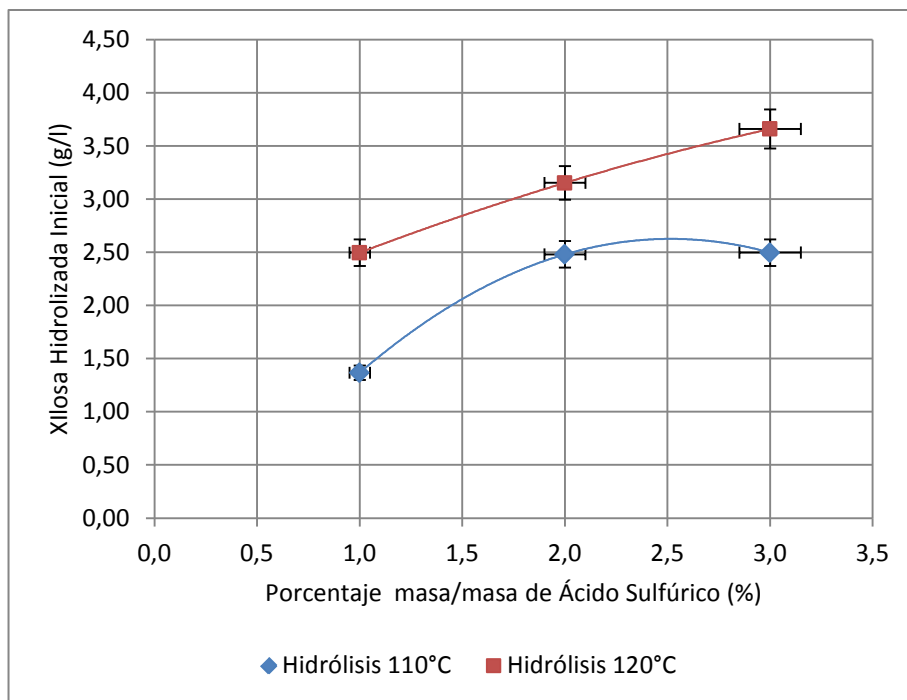


Fuente:elaboración propia



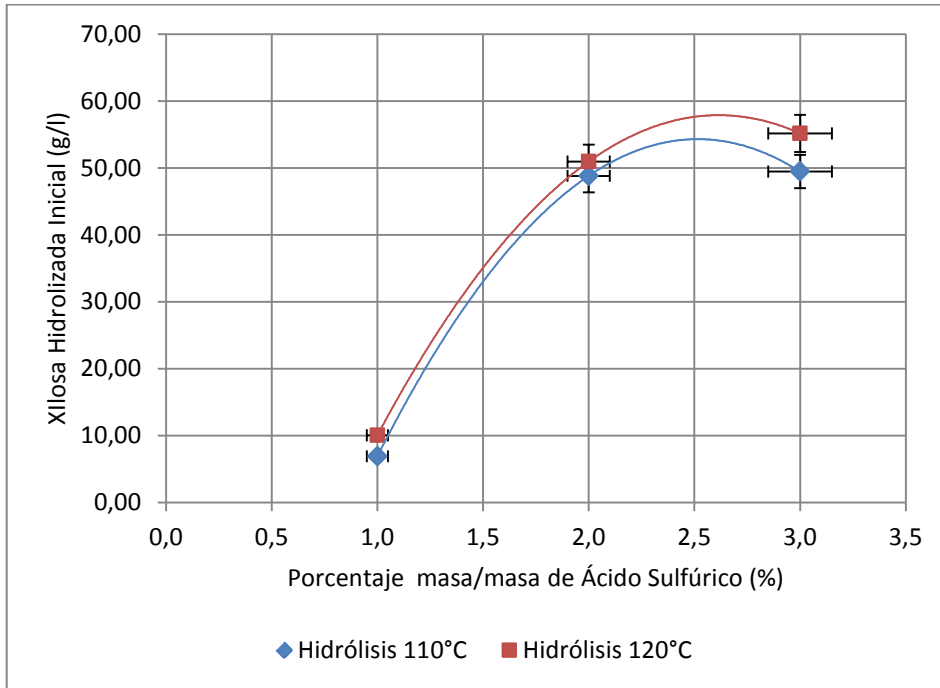
## 4. RESULTADOS

Figura 10. **Xilosa hidrolizada de la madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis**



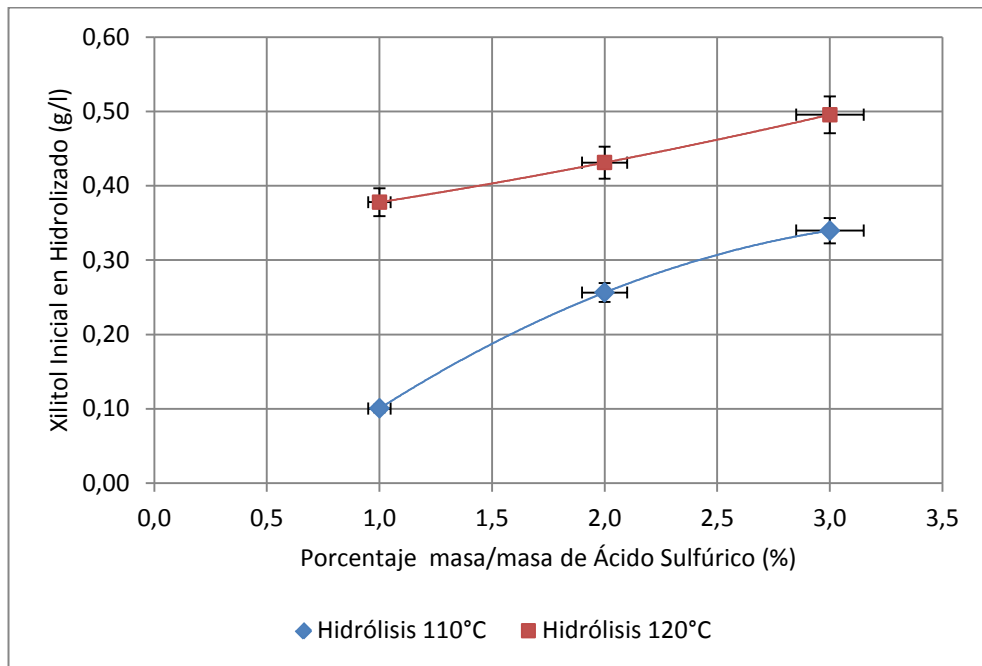
Fuente: elaboración propia basado en tablas IX y XIII

Figura 11. **Xilosa hidrolizada del olote de maíz en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis**



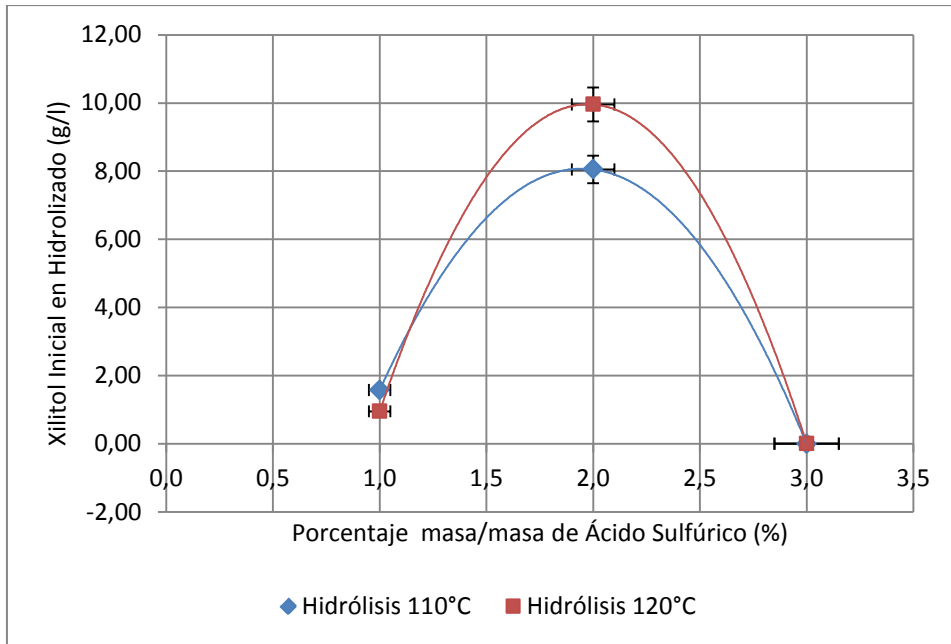
Fuente: elaboración propia basado en tablas XVII y XXI

Figura 12. **Xilitol en hidrolizado de madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis**



Fuente: elaboración propia basado en tablas IX y XIII

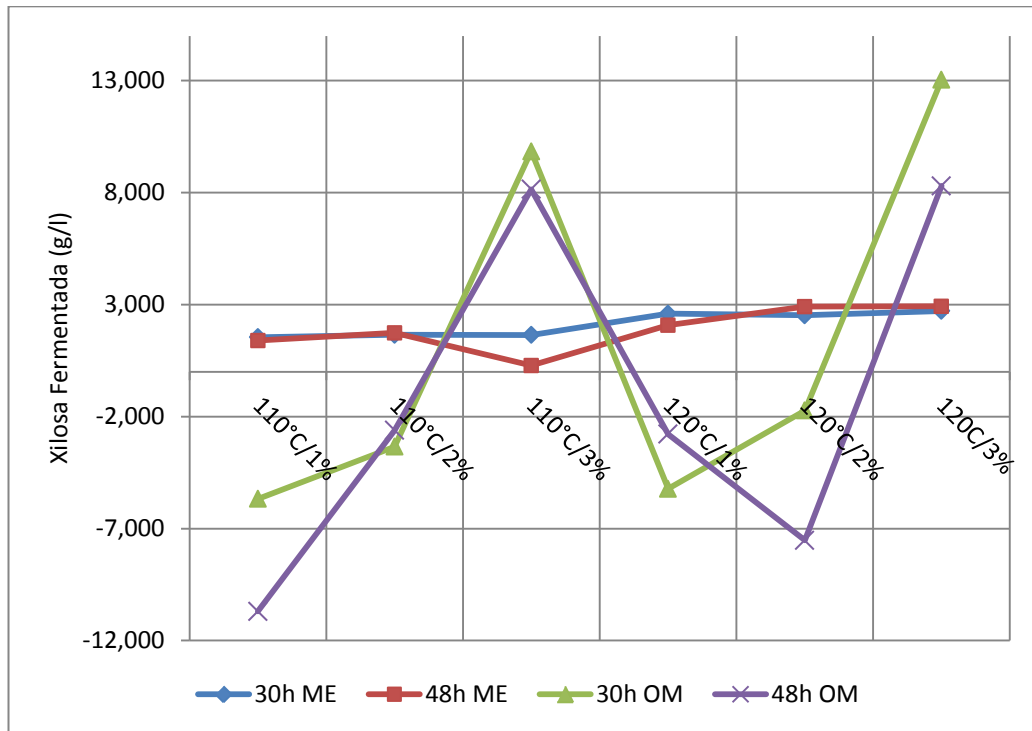
Figura 13. **Xilitol en hidrolizado de madera de eucalipto en función del porcentaje de ácido sulfúrico de hidrólisis**



Fuente: elaboración propia basado en tablas XVII y XXI

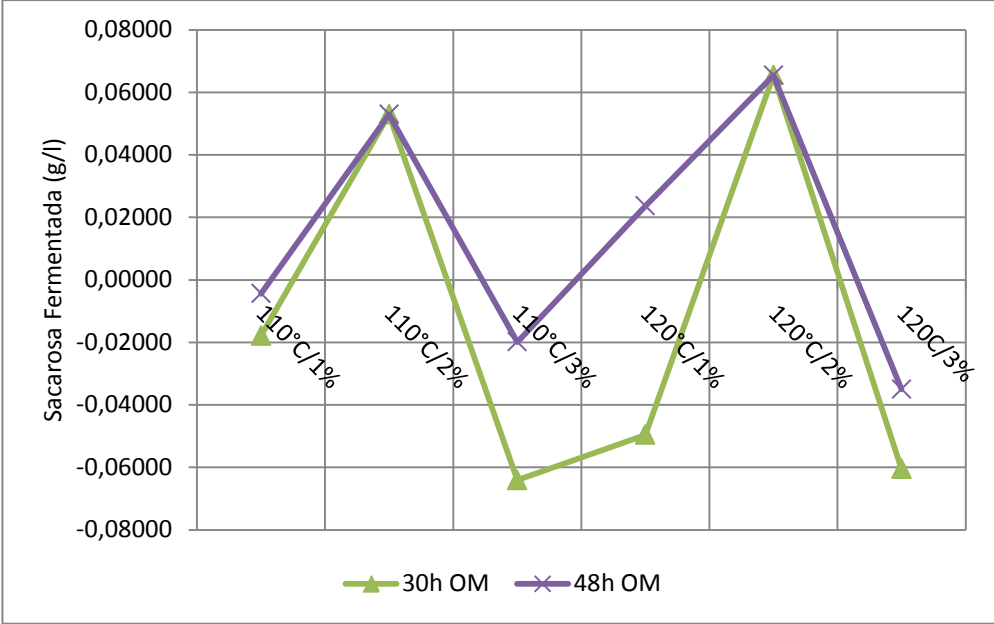


Figura 14. **Xilosa fermentada según el tipo de tratamiento para el olote de maíz y madera de eucalipto, para 30 y 48 horas de fermentación**



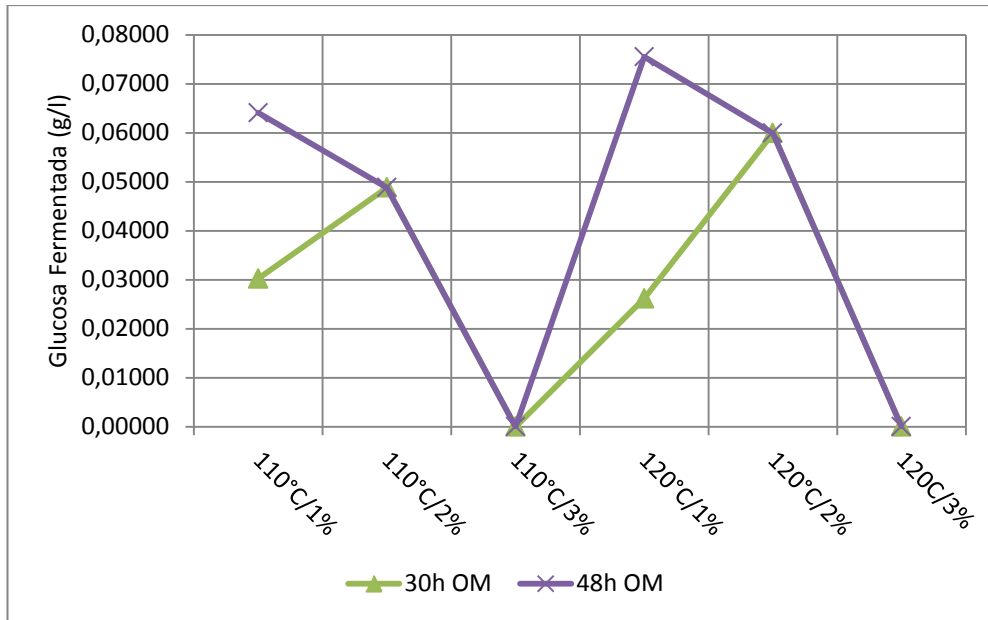
Fuente: elaboración propia basado en tablas XII, XVI, XX y XXIV

Figura 15. **Sacarosa fermentada para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación**



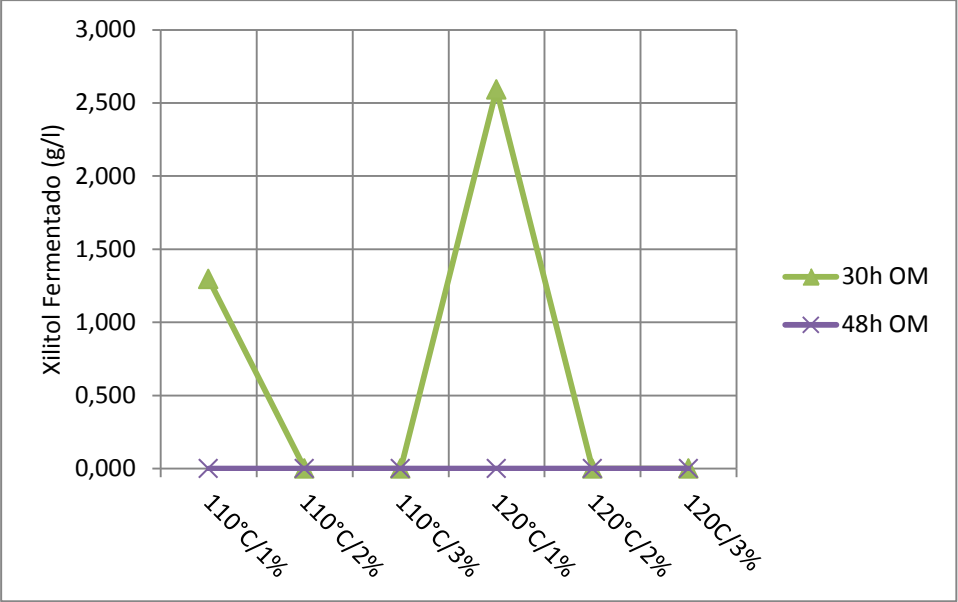
Fuente: elaboración propia basado en tablas XXV y XXVI

Figura 16. **Glucosa fermentada para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación**



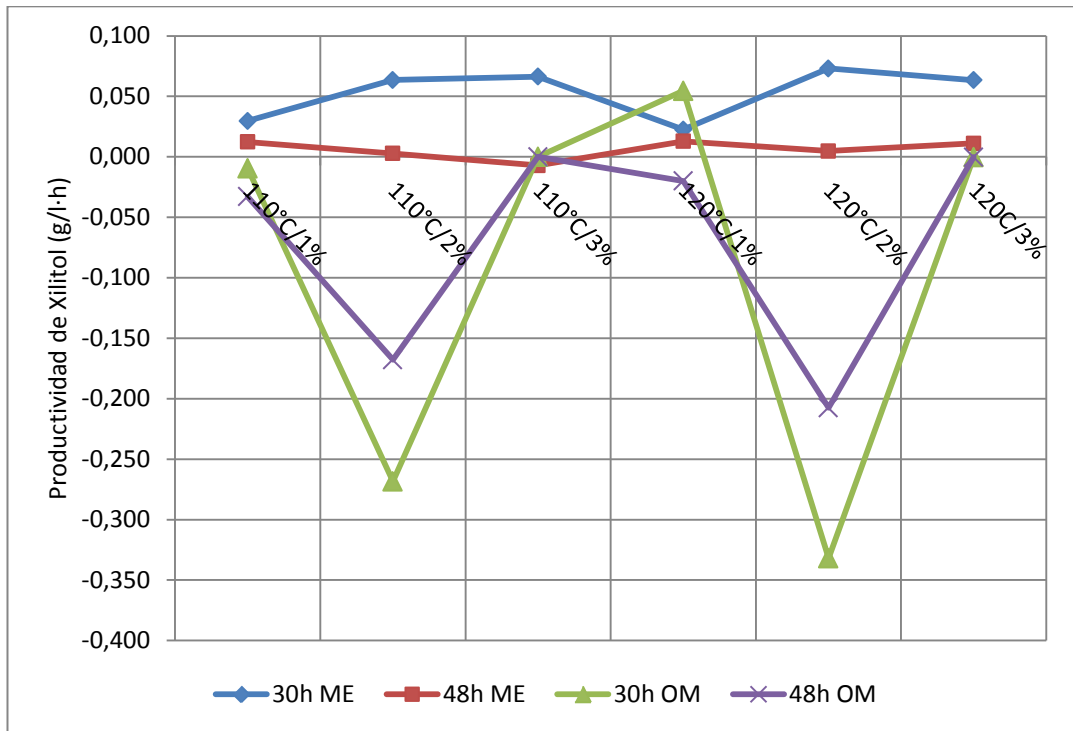
Fuente: elaboración propia basado en tablas XXV y XXVI

**Figura 17. Xilitol fermentado para el olote de maíz según el tipo de tratamiento, para 30 y 48 horas de fermentación**



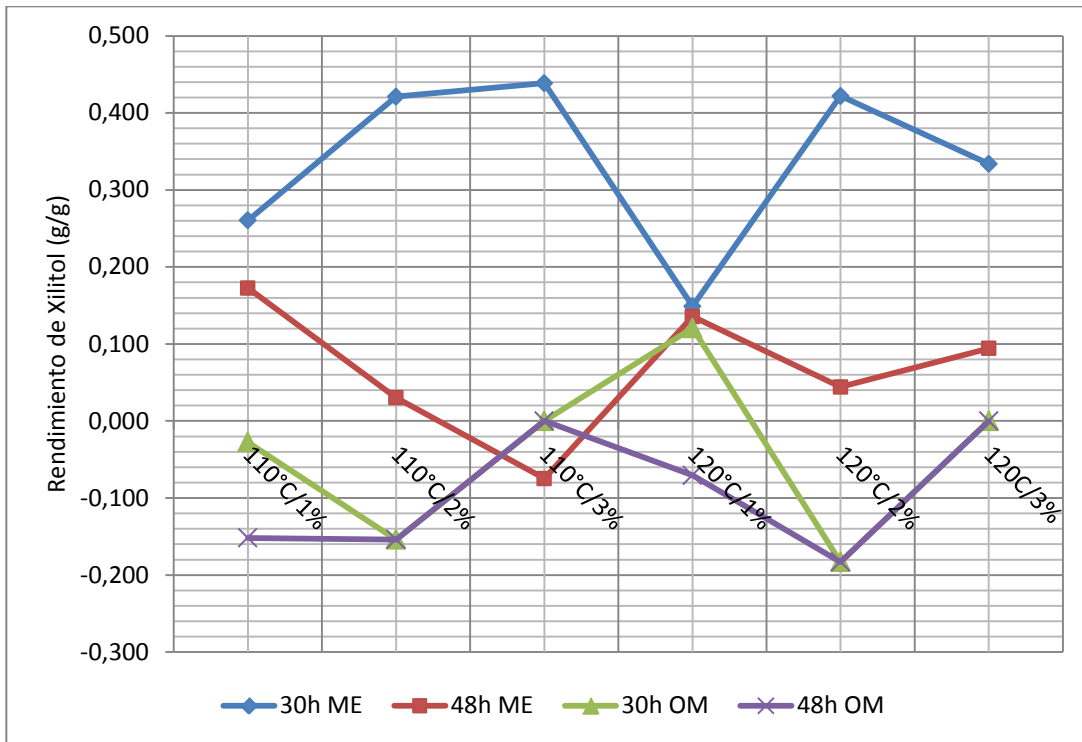
Fuente: elaboración propia basado en tablas XXV y XXVI

Figura 18. **Productividad de xilitol por la levadura según el tipo de tratamiento en la madera de eucalipto y olote de maíz, para 30 y 48 horas de fermentación**



Fuente: elaboración propia basado en tablas XI, XV, XIX y XXIII

Figura 19. Rendimiento de xilitol por la levadura según el tipo de tratamiento en la madera de eucalipto y olote de maíz, para 30 y 48 horas de fermentación



Fuente: elaboración propia basado en tablas XII, XVI, XX y XXIV

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para la madera de eucalipto, a temperatura de hidrólisis de 120°C se obtiene mayor cantidad de xilosa hidrolizada que a 110°C. A 120°C y 3% m/m de ácido se obtiene la mayor cantidad de xilosa hidrolizada, 3,65g/l. Conforme aumenta el porcentaje de ácido aumenta la cantidad de xilosa hidrolizada, pero para 110°C se percibe una tendencia a disminuir si aumenta el porcentaje de ácido.

La mínima cantidad de xilosa hidrolizada se da al 1% de ácido, para cualquiera de las dos temperaturas de hidrólisis. A 110°C no hay mayor diferencia de xilosa hidrolizada al utilizar 2 y 3% de ácido, 2,48g/l y 2,49g/l respectivamente.

Para el olote de maíz, a temperatura de hidrólisis de 120°C se obtiene mayor cantidad de xilosa hidrolizada que a 110°C, aunque la diferencia no es mucha. A 120°C y 3% m/m de ácido se obtiene la mayor cantidad de xilosa hidrolizada, 55,15g/l. Conforme aumenta el porcentaje de ácido aumenta la cantidad de xilosa hidrolizada, pero se percibe una tendencia a disminuir si aumenta el porcentaje de ácido para cualquiera de las dos temperaturas.

La mínima cantidad de xilosa hidrolizada se da al 1% de ácido, para cualquiera de las dos temperaturas de hidrólisis. Esta cantidad de xilosa es muy cercana para 110°C y 120°C, 6,92g/l y 10,06g/l respectivamente. Para 110°C, no hay mayor diferencia de xilosa hidrolizada al utilizar 2 y 3% de ácido, 48,81g/l y 49,46g/l respectivamente.

Entre 1% y 2% de ácido se da un gran salto en la cantidad de xilosa hidrolizada, para las dos temperaturas, pues a 2% de ácido se da gran cantidad de xilosa hidrolizada en comparación con 1%.

En el olote de maíz se alcanza gran cantidad de xilosa hidrolizada, en comparación con la madera de eucalipto, debido a que la madera de eucalipto tiene bastante cantidad de lignina y celulosa, estas protegen a la hemicelulosa del ataque del ácido; en contraste con el olote de maíz que tiene poca cantidad de lignina, el ácido permite hidrolizar la xilosa de la hemicelulosa y aún otras azúcares provenientes de la celulosa.

Para la madera de eucalipto, en hidrólisis a 110°C y 120°C, a mayor porcentaje de ácido mayor cantidad de xilitol después de la hidrólisis. A 120°C se da tiene mayor cantidad de xilitol después de hidrólisis que a 110°C. Para 110°C y 120°C se tiene mayor cantidad de xilitol a 3% de ácido, 0,340g/l y 0,495g/l respectivamente.

Para el olote de maíz, en hidrólisis a 110°C y 120°C, a mayor porcentaje de ácido mayor cantidad de xilitol después de la hidrólisis. A 120°C se da tiene mayor cantidad de xilitol después de hidrólisis que a 110°C. Para 110°C y 120°C se tiene mayor cantidad de xilitol a 2% de ácido, 8,05g/l y 9,96g/l respectivamente. A 3% de ácido no se tiene xilitol después de la hidrólisis, esto para las dos temperaturas de hidrólisis.

El xilitol después de la hidrólisis se origina de la temperatura y presión que se alcanza en el reactor, 110°C /18psi y 120°C/20psi, la cantidad de ácido sulfúrico presente, y alguna impureza metálica en el reactor, ya sea níquel o hierro entre otras posibles; estas condiciones se asemejan a la técnica química para la obtención de xilitol, así se logra saturar la xilosa con el hidrógeno que le hace falta, con lo cual se obtienen bajas concentraciones de xilitol.



En la hidrólisis del olote de maíz se obtienen cantidades mucho mayores de xilitol que en la madera de eucalipto. Debido a la xilosa hidrolizada por causa de la protección de lignina que la madera posee.

Para el olote de maíz a 3% de ácido en las dos temperaturas no se obtiene xilitol, puede ser por la conversión a furfural de la xilosa hidrolizada. El mayor consumo de xilosa es para el olote de maíz, 13,04g/l, si se sigue un tratamiento de hidrólisis a 120°C con 3% m/m de ácido sulfúrico.

El olote de maíz tiene consumos de xilosa negativos, pues se genera xilosa en lugar de consumirse. Debido a la presencia de xilitol y otras azúcares en sus hidrolizados, y suministro de oxígeno muy pobremente controlado, pero restringido, no fue lograda acumulación de NADH, consiguientemente la xilosa reductasa no se acumuló, causando acumulación de xilosa y consumo de xilitol.

Cierta parte del xilitol fue convertido a xilosa, otra parte pudo haber sido convertida a etanol. Además, la presencia de otros azúcares parece demostrar que la levadura consume preferentemente esas otras azúcares antes que la xilosa. La sacarosa y glucosa son consumidas por la levadura, ya sea para su metabolismo o por sus enzimas extracelulares, ambas azúcares son fácilmente llevadas a etanol. Debido al caso de la producción de xilosa y consumo de xilitol se puede decir que aún estas azúcares son llevadas a xilosa, aunque en poca cantidad.

El consumo de xilitol produce productividades y rendimientos negativos, tal suceso hace de la levadura *S. cerevisiae* natural no apta para ser utilizada en la producción comercial de xilitol, con la *S. cerevisiae* natural se obtuvieron bajos o negativos rendimientos de xilitol, al final del proceso es seguro que habrá pérdidas monetarias en vez de ganancias. A escala

industrial no se debe utilizar *S. cerevisiae* natural para producción de xilitol a partir de hidrolizados de biomasa hemicelulósica.

Para la fermentación de la mayoría de hidrolizados de olote de maíz, el consumo de xilitol es cero porque no hay xilitol al final de la hidrólisis y al final de la fermentación, sino solo consumo de xilosa y otras azúcares lo cual demuestra que en esos casos; la xilosa, glucosa y sacarosa fueron llevadas a etanol por las enzimas extracelulares pero menos a xilitol que era el producto deseado, también sirvieron de alimento para la levadura.

La mayor productividad de xilitol es para el olote de madera de eucalipto en 30 horas de fermentación. El mayor rendimiento es para la madera de eucalipto en 30 horas de fermentación.

Al hidrolizar el olote de maíz se tiene gran ventaja pues es muy fácil hidrolizar la xilosa en este, el olote de maíz es gran fuente de xilosa, y es necesario que sea aprovechado en la producción biotecnológica industrial de xilitol, la concentración de la xilosa fue 6 veces más que en la madera de eucalipto, como mínimo. Industrialmente es muy deseable pero se tiene que utilizar el microorganismo adecuado, el cual logre los mayores rendimientos de xilosa a xilitol, en este caso la *S. cerevisiae* natural no es la adecuada.

Es complicado definir la manera en la que la levadura consume juntamente la xilosa, xilitol, glucosa y sacarosa pues la vía metabólica de asimilación de xilosa, y las vías metabólicas para la asimilación de azúcares a etanol Embden-Meyerhoff-Parnas y pentosa fosfato, están conectadas entre si. Aún parte de la xilosa, glucosa y sacarosa llega a ser metabolizada a acetaldehído, glicerol y CO<sub>2</sub>, pues son parte del metabolismo que conforma la vía metabólica a etanol; pero si se utiliza el microorganismo adecuado, estas otras azúcares serían convertidas a xilitol pues el camino metabólico lo permite.

## CONCLUSIONES

1. Es posible obtener xilitol a partir de hidrolizados de biomasa residual rica en hemicelulosa por medio de fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* natural.
2. Los valores negativos de rendimiento y productividad de xilitol indican que este es fermentados por la *S. cerevisiae* natural, en lugar de ser producido.
3. La madera de eucalipto fue la mejor biomasa para obtener xilitol por fermentación de sus hidrolizados con *S. cerevisiae* natural, pues se obtienen los mejores rendimientos y productividades.
4. Para la madera de eucalipto el mejor tratamiento fue a 110°C, con 3% de ácido y 30 horas de fermentación, se obtuvo la mayor productividad y rendimiento de xilitol, 0,06639g<sub>xilitol</sub>/l·h y 0,43865g<sub>xilitol</sub>/g<sub>xilosa</sub>, respectivamente.
5. Para el olote de maíz el mejor tratamiento fue a 120°C, con 1% de ácido y 30 horas de fermentación, se obtuvo la mayor productividad y rendimiento de xilitol, 0,05499g<sub>xilitol</sub>/l·h y 0,12071g<sub>xilitol</sub>/g<sub>xilosa</sub>, respectivamente.
6. La presencia de otras azúcares afecta la productividad y rendimiento de xilitol producido por la levadura *S. cerevisiae* natural.

7. La mayor concentración de xilosa hidrolizada se obtiene al hidrolizar el olote de maíz a 120°C con 2% y 3% de ácido. Debido a que es más fácil hidrolizar la xilosa de este que la de la madera de eucalipto.
8. A mayor tiempo de fermentación el rendimiento de xilitol es menor, por lo que es recomendable fermentar los hidrolizados durante 30 horas.
9. La producción de xilitol a partir de hidrolizados de madera de eucalipto y olote de maíz, por fermentación con *S. cerevisiae* natural no es apta para realizarse a escala industrial por sus bajos rendimientos de xilitol.

## RECOMENDACIONES

1. Cultivar la *S. cerevisiae* natural con concentraciones pequeñas de fructosa, glucosa, sacarosa y xilitol para adaptarla a este tipo de medio, y determinar si mejora el rendimiento de xilitol al fermentar los hidrolizados.
2. Agitar suavemente el hidrolizado mientras es desintoxicado con carbón activado, y durante su fermentación, para mejorar la transferencia de masa de los componentes tóxicos al carbón activado, y de xilosa, enzimas y nutrientes a la levadura en la fermentación.
3. Cuantificar el etanol y furfural antes de la fermentación, y el etanol, acetaldehído, dióxido de carbono y furfural después de la fermentación; para observar cuanta cantidad de los carbohidratos en el hidrolizado son llevados a estos compuestos.
4. Utilizar *Saccharomyces cerevisiae* con modificaciones genéticas, la cual produzca xilosa reductasa en mayores cantidades y prefiera la xilosa como fuente de carbono.
5. Utilizar un fermentador profesional y establecer un valor de flujo de oxígeno durante la fermentación, el oxígeno tiene que ser restringido a poca cantidad.

6. Concentrar los azúcares en los hidrolizados, por medio de evaporación al vacío para no dañar los azúcares, para proveer a la levadura mayor contacto con los azúcares.
7. Aprovechar la considerable cantidad de xilosa que se hidroliza en el olote de maíz, para su bioconversión a xilitol por fermentación con un microorganismo, que sea consumidor natural de la xilosa, y aún mejorar genéticamente a este.

## BIBLIOGRAFÍA

1. ALVARADO FRANCO, Marien Elaine. *Estudio de prefactibilidad para el establecimiento de una planta de producción de bioetanol, a partir de los tallos de sorgo dulce en el municipio de Camotán, departamento de Chiquimula*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2008. 126 p.
2. BARRAZA LÓPEZ, Nelson Darío. *Análisis comparativo de la elaboración de biodiésel, a partir de aceite crudo de palma africana por medio de dos procesos, a nivel laboratorio y planta piloto*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2007. 72 p.
3. BIRGER GRANSTRÖ, Tom; IZUMORI Ken; LEISOLA, Matti. A rare sugar xylitol. Part I: the biochemistry and biosynthesis of xylitol. *Applied Microbiology & Biotechnology*. February 15, 2007, vol. 74, Issue 2, 277-281 p.
4. CATE PRESCOTT, Samuel. *Industrial Microbiology*. 3a ed. New York: McGraw-Hill, 1959. 923 p.
5. CHANG, Raymond. *Química*. 7a ed. México: McGraw-Hill, 2003. 1063 p.
6. CORTEZ, D.V.; ROBERTO, I.C. Effect of phosphate buffer concentration on the batch xylitol production by *Candida*

guilliermondii. *Letters in Applied Microbiology*. April 1, 2006, vol. 42, Issue 4, p. 321-325

7. GARCÍA PRADO, María. *Biorrefinerías: situación actual y perspectivas del futuro*. [España]: Genoma España/CIEMAT. Diciembre 2008. 149 p.
8. FLICKINGER, Michael C.; DREW, Stephen W. *Encyclopedia of bioprocess technology - fermentation, biocatalysis, and bioseparation*. John Wiley & Sons. 1999, vol. 1-5, 2896 p. ISBN: 978-0-417-13822-8.
9. HIMMEL, Michael E. *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. Washington DC: American Chemical Society. ACS Symposium Series, 1994, 499 p. ISBN: 0841229562.
10. KIM, J.H., et al. Optimization of fed-batch fermentation for xylitol production by *Candida tropicalis*. *Journal of Applied Microbiology*. July 1, 2002, vol. 29, Issue 1, p. 16-19
11. KLASS, Donald L. *Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals*. Elsevier. 1998, 747 p. ISBN: 978-0-12-410950-6.
12. KUMAR, Raj; SINGH, Sompal; SINGH Om V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. May 2008, vol. 3, issue 5, 377-391 p.
13. LAINE, Christiane. *Structures of hemicellulose and pectins in wood and pulp*. Helsinki University of Technology Oy Keskuslaboratorio, Department of Chemical Technology KCL,



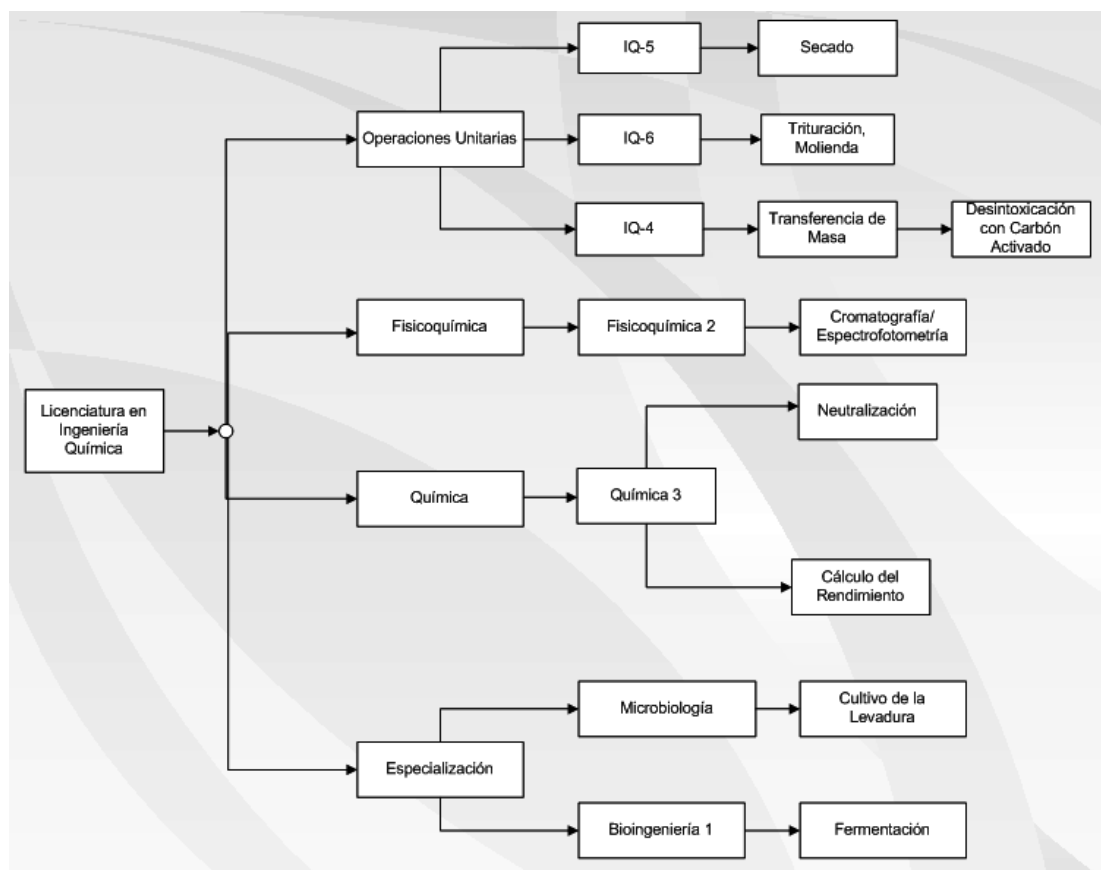
Espoo, Finland Laboratory of Organic Chemistry, 63 p. ISSN 1457-6252.

14. MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; PARKER, Jack. *Biología de los microorganismos*. Madrid: Pearson Prentice Hall. 10a ed., 1096 p. ISBN: 842053679-2.
15. MARTÍNEZ LOBOS, Oscar Alberto. *Obtención de metanol y etanol (mezcla) a partir del bagazo de café por destilación*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2007, 1996. 60 p.
16. PEZOA CONTE, Ricardo Miguel. *Estudio de Pretratamiento con Ácido Diluido y Líquidos Iónicos en Residuos Agrícolas para la Producción de Bioetanol de Segunda Generación*. Tesis Ingeniería Química, Chile: Universidad de Chile, marzo 2010. 122 p.
17. PRESCOTT, Lansing M. *Microbiology*. 5a ed. McGraw-Hill, 2002. 1130 p.
18. ROBINSON, Richard K. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, 2000, vol. 1-3, 2405 p. ISBN: 978-0-12-227070-3.
19. RODRÍGUEZ DURÁN, Nadia Adelina, et al. *Aprovechamiento del Bagazo de Caña en la Producción Biotecnológica de Xilitol por Candida Parapsilosis*. TUREvista Digi.U@T. [en línea]. Disponible en Web: <<http://www.turevista.uat.edu.mx/Volumen%202%20Numero%2002/Bagazo%20de%20ca%F1a.pdf>> Septiembre 2007, vol. 2, núm. 2. 15 p.

20. SAHA, Badal C. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. May 2003, vol. 30, p. 279-291.
21. SAMAYOA MENÉNDEZ, Erick Norman. *Análisis cuantitativo comparativo del huevo como fuente de proteínas esenciales en la alimentación del ser humano*. Trabajo de graduación Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2005. 60 p.
22. SMITH, Jim; HONG-SHUM, Lily. *Food Additives Data Book*. Estados Unidos: Blackwell Publishing, 2003, 1016 p. ISBN: 978-0-632-06395-6.
23. VANEGAS CÓRDOBA, Isleny Andrea; YEPEZ PÉREZ, María del Socorro; RUIZ VILLADIEGO, Orlando Simón. *Producción de Xilitol a partir de Levaduras Nativas Colombianas*. Revista Colombiana de Biotecnología. [en línea]. Disponible en Web: <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/523>> ISSN electrónico 1909-8758. Diciembre 2004, vol. VI, núm. 2, p. 31-36.

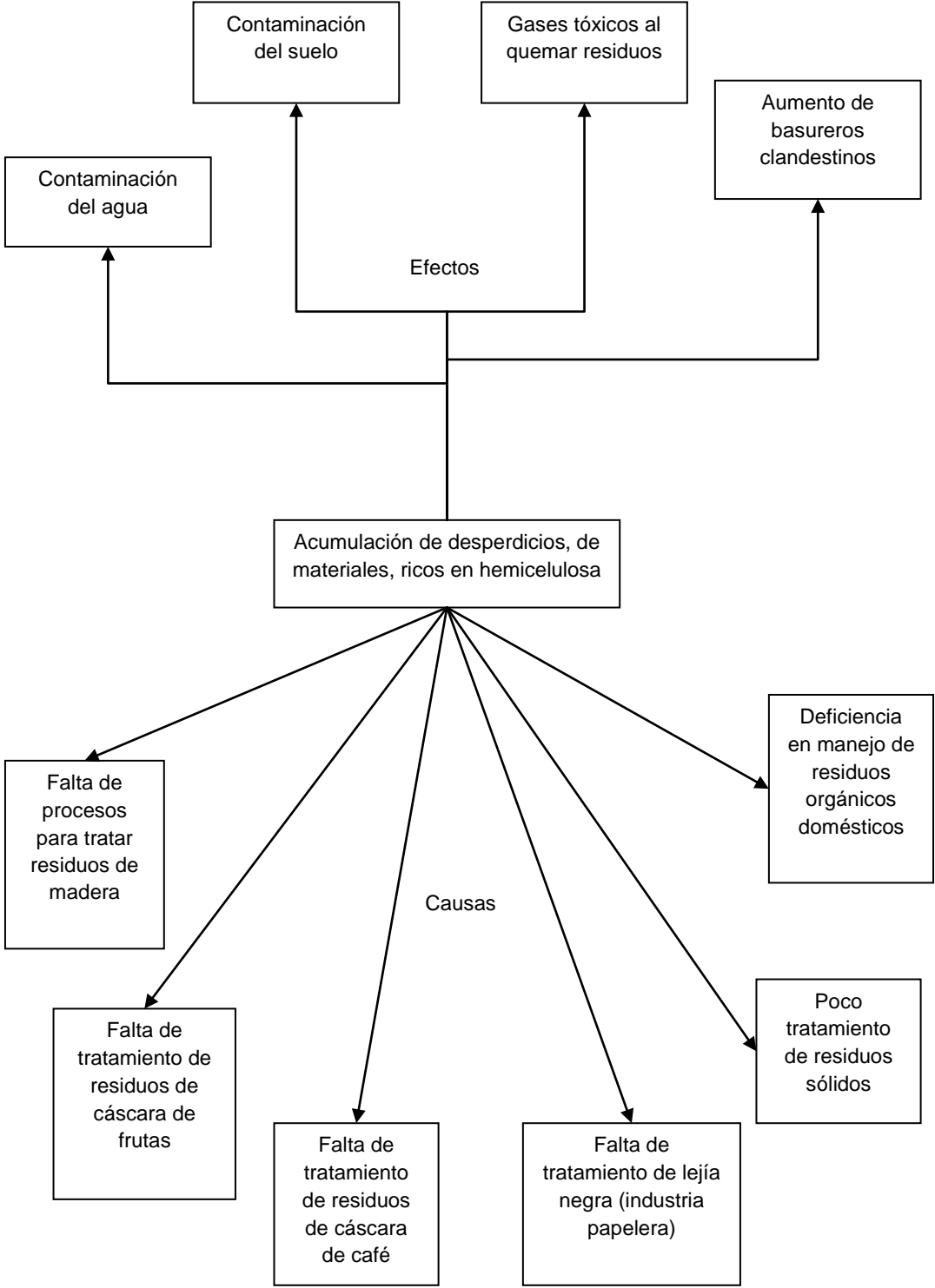
## APÉNDICES

Apéndice 1. Tabla de requisitos académicos



Fuente: elaboración propia

Apéndice 2. Árbol de problemas



Fuente: elaboración propia

## ANEXOS

### Anexo 1. Muestra de cálculo

Concentración inicial total de xilosa presente en el hidrolizado a fermentar

[Ecuación 1]

$$X_{saFe_0} = \frac{0,2l * X_{saHi_0} + 0,025l * X_{saLev_f} + 0,008l * 15g/l}{0,2l}$$

Donde

$X_{saFe_0}$  = concentración total inicial de xilosa a fermentar [g/l]

$X_{saHi_0}$  = concentración inicial de xilosa por hidrólisis [g/l]

$X_{saLev_f}$  = concentración final de xilosa en cultivo de levadura [g/l]

Ejemplo: cálculo de la concentración total inicial de xilosa a fermentar, en el hidrolizado desintoxicado, para hidrólisis a 110°C con 3% m/m de ácido sulfúrico. Se utilizan datos de tabla IX y datos originales.

$$X_{saFe_0} = \frac{0,2l * 1,3662g/l + 0,025l * 11,5509 + 0,008l * 15g/l}{0,2l}$$

$$X_{saFe_0} = 3,41006 \text{ g/l}$$

De la misma forma se calculó para cada porcentaje de ácido sulfúrico, según la temperatura de hidrólisis y tiempo de fermentación; los valores se hallan en tablas IX, XIII, XVII y XXI.

Concentración corregida de xilitol al final de la fermentación

[Ecuación 2]

$$X_{oIC_f} = \frac{0,2I * X_{oIHPLC_f} - 0,2I * X_{oIH_i_0}}{0,2I}$$

Donde

$X_{oIC_f}$  = concentración corregida de xilitol al fin de la fermentación [g/l]

$X_{oIHPLC_f}$  = concentración de xilitol al final de la fermentación [g/l]

$X_{oIH_i_0}$  = concentración inicial de xilitol por hidrólisis [g/l]

Ejemplo: cálculo de la concentración corregida de xilitol al final de la fermentación para hidrólisis a 110°C con 3% m/m de ácido sulfúrico, fermentado durante 30 horas. Se utilizan datos de tablas IX y X.

$$X_{oIC_f} = \frac{0,2I * 0,988784 \text{g/l} - 0,2I * 0,100520 \text{g/l}}{0,2I}$$

$$X_{oIC_f} = 0,888264 \text{ g/l}$$

De la misma forma se calculó para cada porcentaje de ácido sulfúrico, según la temperatura de hidrólisis y tiempo de fermentación; los valores se hallan en tablas XV, XIV, XVIII y XXII.

Productividad de xilitol

[Ecuación 3]

$$P_{Xol} = \frac{XolC_f}{TFer}$$

Donde

$P_{Xol}$  = productividad de xilitol por la levadura [g/l·h]

$XolC_f$  = concentración corregida de xilitol al fin de la fermentación [g/l]

$TFer$  = tiempo de fermentación [h]

Ejemplo: cálculo de la productividad de xilitol al final de la fermentación para hidrólisis a 110°C con 3% m/m de ácido sulfúrico, fermentado durante 30 horas. Se utilizan datos de tabla X.

$$P_{Xol} = \frac{0,888264 \text{ g/l}}{30\text{h}}$$

$$P_{Xol} = 0,0296088 \text{ g/l·h}$$

De la misma forma se calculó para cada porcentaje de ácido sulfúrico, según la temperatura de hidrólisis y tiempo de fermentación; los valores se hallan en tablas XI, XV, XIX y XXIII.

Rendimiento de xilitol

[Ecuación 4]

$$R_{Xol/Xsa} = \frac{0,2l * XolC_f}{0,2l * XsaFe_0}$$

Donde

$R_{Xol/Xsa}$  = rendimiento de xilitol por la levadura [ $g_{xilitol}/g_{xilosa}$ ]

$XolC_f$  = concentración corregida de xilitol al fin de la fermentación [g/l]

$XsaFe_0$  = concentración total inicial de xilosa a fermentar [g/l]

Ejemplo: cálculo del rendimiento de xilitol al final de la fermentación para hidrólisis a 110°C con 3% m/m de ácido sulfúrico, fermentado durante 30 horas. Se utilizan datos de tablas XVII y X.

$$R_{Xol/Xsa} = \frac{0,2l * 0,888264 \text{ g}_{xilitol}/l}{0,2l * 3,41006 \text{ g}_{xilosa}/l}$$

$$R_{Xol/Xsa} = 0,26048 \text{ g}_{xilitol}/g_{xilosa}$$

De la misma forma se calculó para cada porcentaje de ácido sulfúrico, según la temperatura de hidrólisis y tiempo de fermentación; los valores se hallan en tablas XII, XVI, XX y XXIV.



## Concentración de xilosa fermentada

[Ecuación 5]

$$X_{saC} = \frac{0,2l \cdot X_{saFe_0} - 0,2l \cdot X_{sa_f}}{0,2l}$$

Donde

$X_{saC}$  = concentración de xilosa fermentada [g/l]

$X_{saFe_0}$  = concentración total inicial de xilosa a fermentar [g/l]

$X_{saFe_0}$  = concentración de xilosa al fin de la fermentación [g/l]

Ejemplo: cálculo de la concentración de xilosa fermentada por la levadura, para hidrólisis a 110°C con 3% m/m de ácido sulfúrico, fermentado durante 30 horas. Se utilizan datos de tablas XVII y X.

$$X_{saC} = \frac{0,2l \cdot 3,41006 \text{ g/l} - 0,2l \cdot 1,86220 \text{ g/l}}{0,2l}$$

$$X_{saC} = 1,54786 \text{ g/l}$$

De la misma forma se calculó para cada porcentaje de ácido sulfúrico, según la temperatura de hidrólisis y tiempo de fermentación; los valores se hallan en tablas XII, XVI, XX y XXIV.

## Incertidumbre absoluta

Para el cálculo de la incertidumbre de todas las mediciones indirectas, se puede definir una función matemática cuyas variables sean todas las variables experimentales de la fórmula o cálculo, las cuales son derivadas parcialmente según la regla de la cadena para múltiples variables.<sup>16</sup>

$$A=f(x,y,z,\dots)$$

Si se deriva A respecto a sus tres variables, la incertidumbre de A será igual a su derivada total según la regla de la cadena. La incertidumbre de la medida R esta dada por

[Ecuación 6]

$$\Delta A=f(\Delta x,\Delta y,\Delta z,\dots,x,y,z,\dots)=\left|\left(\frac{\partial A}{\partial x}\right)\Delta x\right|+\left|\left(\frac{\partial A}{\partial y}\right)\Delta y\right|+\left|\left(\frac{\partial A}{\partial z}\right)\Delta z\right|$$

Esta definición puede extrapolarse tal que se pueda tener a R en función de n variables distintas siempre que se pueda mantener constantes a todas las demás mientras se deriva parcialmente una de las medidas. Por ejemplo la incertidumbre del rendimiento de xilitol se obtiene por medio de éste método

$$R_{X_{ol}/X_{sa}}=\frac{0,2l\cdot X_{ol}C_f}{0,2l\cdot X_{sa}Fe_0}$$
$$\Delta R_{X_{ol}/X_{sa}}=\left|\left(\frac{\partial R_{X_{ol}/X_{sa}}}{\partial X_{ol}C_f}\right)\Delta X_{ol}C_f\right|+\left|\left(\frac{\partial R_{X_{ol}/X_{sa}}}{\partial X_{sa}Fe_0}\right)\Delta X_{sa}Fe_0\right|$$

---

<sup>16</sup> STEWART, James. Cálculo: trascendentes tempranas. 4ta Edición Ilustrada. Cengage Learning Editores, México 2002, p. 898,899.

$$\Delta R_{X_{ol}/X_{sa}} = \left| \left( \frac{1}{0,2I * X_{sa} Fe_0} \right) * \Delta X_{ol} C_f \right| + \left| \left( \frac{-0,2I * X_{ol} C_f}{(0,2I * X_{sa} Fe_0)^2} \right) * \Delta X_{sa} Fe_0 \right|$$

Se utilizó el mismo método para calcular las incertidumbres de las demás ecuaciones; los valores se hallan en tablas IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV.

Azúcar fermentada

[Ecuación 7]

$$AZ_C = AZ_0 - AZ_f$$

Donde

$AZ_C$  = azúcar fermentada (xilitol, glucosa, sacarosa,..) [g/l]

$AZ_0$  = concentración de azúcar inicial (xilitol, glucosa, sacarosa,..) [g/l]

$AZ_f$  = concentración de azúcar final (xilitol, glucosa, sacarosa,..) [g/l]

Ejemplo: cálculo de la sacarosa fermentada para hidrólisis a 110°C con 1% m/m de ácido sulfúrico, fermentado durante 30 horas. Hidrolizado de Olate de Maíz. Se utilizan datos originales.

$$\text{Sacarosa fermentada} = 0,03864 \text{g/l} - 0,05653 \text{g/l} = -0,01789 \text{g/l}$$

De la misma manera se calculó la azúcar fermentada para las demás muestras de olate de maíz; los valores se hallan en tablas XXV y XXVI.



Anexo 2. Datos calculados

Tabla IX. **Concentraciones iniciales de xilosa y xilitol resultantes de la hidrólisis de la madera de eucalipto, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	XsaHi <sub>0</sub> (g/l)	XsaFe <sub>0</sub> (g/l)	Δ XsaFe <sub>0</sub> (±g/l)	XoIHi <sub>0</sub> (g/l)
Madera de Eucalipto	110 ± 1	A1	1	1,36622	3,41009	0,00700063	0,100520
		A2	2	2,48000	4,52387	0,00700063	0,256441
		A2	3	2,49639	4,54026	0,00700063	0,339731
	120 ± 1	A4	1	2,49600	4,53987	0,00700063	0,377890
		A5	2	3,15200	5,19587	0,00700063	0,431110
		A6	3	3,65894	5,70281	0,00700063	0,495512

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 1 y 6

Tabla X. **Concentración de xilitol al final de la fermentación y su corrección en hidrolizados de madera de eucalipto, en 30 horas de fermentación**

Biomasa	No.	Xsa <sub>f</sub> (g/l)	XoIHPLC <sub>f</sub> (g/l)	XoIC <sub>f</sub> (g/l)	Δ XoIC <sub>f</sub> (±g/l)	Tiempo de Fermentación (h)
Madera de Eucalipto	A1	1,86220	0,988784	0,888264	0,000001	30 ± 1,4E-4
	A2	2,87005	2,161620	1,905179	0,000001	
	A2	2,89535	2,331300	1,991569	0,000001	
	30 ± 1,4E-4	A4	1,94052	1,053460	0,675570	0,000001
		A5	2,67323	2,623320	2,192210	0,000001
		A6	2,98253	2,399040	1,903528	0,000001

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 2 y 6

Tabla XI. **Productividad de xilitol de la levadura en hidrolizados de madera de eucalipto, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	Tiempo de Fermentación (h)	$P_{xol}$ (g/l·h)	$\Delta P_{xo}$ ( $\pm$ g/l·h)
Madera de Eucalipto	110 $\pm$ 1	A1	30 $\pm$ 1,4E-4	0,02961	3,0E-08
		A2		0,06351	3,0E-08
		A2		0,06639	3,0E-08
	120 $\pm$ 1	A4	30 $\pm$ 1,4E-4	0,02252	3,0E-08
		A5		0,07307	3,0E-08
		A6		0,06345	3,0E-08

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 3 y 6

Tabla XII. **Rendimiento y xilosa fermentada por la levadura en 30 horas de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto**

Biomasa	No.	$R_{xol/xsa}$ (g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$\Delta R_{xol/xsa}$ ( $\pm$ g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$X_{saF}$ (g/l)	$\Delta X_{saF}$ ( $\pm$ g/l)
Madera de Eucalipto	A1	0,26048	0,00054	1,548	0,0070
	A2	0,42114	0,00065	1,654	0,0070
	A2	0,43865	0,00068	1,645	0,0070
	A4	0,14881	0,00023	2,599	0,0070
	A5	0,42191	0,00057	2,523	0,0070
	A6	0,33379	0,00041	2,720	0,0070

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 4, 5 y 6

Tabla XIII. **Concentraciones iniciales de xilosa y xilitol resultantes de la hidrólisis de la madera de eucalipto, para 48 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	XsaHi <sub>0</sub> (g/l)	XsaFe <sub>0</sub> (g/l)	Δ XsaFe <sub>0</sub> (±g/l)	XoIHi <sub>0</sub> (g/l)
Madera de Eucalipto	110 ± 1	A7	1	1,36622	3,41009	0,00700063	0,100520
		A8	2	2,48000	4,52387	0,00700063	0,256441
		A9	3	2,49639	4,54026	0,00700063	0,339731
	120 ± 1	A10	1	2,49600	4,53987	0,00700063	0,377890
		A11	2	3,15200	5,19587	0,00700063	0,431110
		A12	3	3,65894	5,70281	0,00700063	0,495512

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 1 y 6

Tabla XIV. **Concentración de xilitol al final de la fermentación y su corrección en hidrolizados de madera de eucalipto, en 48 horas de fermentación**

Biomasa	No.	Xsa <sub>f</sub> (g/l)	XoIHPLC <sub>f</sub> (g/l)	XoIC <sub>f</sub> (g/l)	Δ XoIC <sub>f</sub> (±g/l)	Tiempo de Fermentación (h)
Madera de Eucalipto	A7	2,01657	0,689284	0,588764	0,000001	48 ± 1,4E-4
	A8	2,78862	0,392695	0,136254	0,000001	
	A9	4,26220	0,000000	-0,339731	0,000001	
	48 ± 1,4E-4	A10	2,45540	0,993585	0,615695	0,000001
		A11	2,28157	0,660663	0,229553	0,000001
		A12	2,78128	1,032590	0,537078	0,000001

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 2 y 6

Tabla XV. **Productividad de xilitol de la levadura en hidrolizados de madera de eucalipto, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	Tiempo de Fermentación (h)	$P_{xol}$ (g/l·h)	$\Delta P_{xo}$ ( $\pm$ g/l·h)
Madera de Eucalipto	$110 \pm 1$	A7	$48 \pm 1,4E-4$	0,01227	3,0E-08
		A8		0,00284	3,0E-08
		A9		-0,00708	3,0E-08
	$120 \pm 1$	A10	$48 \pm 1,4E-4$	0,01283	3,0E-08
		A11		0,00478	3,0E-08
		A12		0,01119	3,0E-08

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 3 y 6

Tabla XVI. **Rendimiento y xilosa fermentada por la levadura en 48 horas de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto**

Biomasa	No.	$R_{xol/xsa}$ (g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$\Delta R_{xol/xsa}$ ( $\pm$ g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$X_{saF}$ (g/l)	$\Delta X_{saF}$ ( $\pm$ g/l)
Madera de Eucalipto	A7	0,17265	0,00035	1,394	0,0070
	A8	0,03012	0,00005	1,735	0,0070
	A9	-0,07483	0,00012	0,278	0,0070
	A10	0,13562	0,00021	2,084	0,0070
	A11	0,04418	0,00006	2,914	0,0070
	A12	0,09418	0,00012	2,922	0,0070

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 4, 5 y 6



Tabla XVII. **Concentraciones iniciales de xilosa y xilitol resultantes de la hidrólisis del olote de maíz, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	XsaHi <sub>0</sub> (g/l)	XsaFe <sub>0</sub> (g/l)	Δ XsaFe <sub>0</sub> (±g/l)	XolHi <sub>0</sub> (g/l)
Olote de Maíz	110 ± 1	B1	1	6,92657	10,40305	0,00700063	1,580470
		B2	2	48,81590	52,29238	0,00700063	8,052470
		B3	3	49,46344	52,93992	0,00700063	0,000000
	120 ± 1	B4	1	10,06593	13,54241	0,00700063	0,956320
		B5	2	50,95147	54,42795	0,00700063	9,958970
		B6	3	55,15521	58,63169	0,00700063	0,011870

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 1 y 6

Tabla XVIII. **Concentración de xilitol al final de la fermentación y su corrección en hidrolizados de olote de maíz, en 30 horas de fermentación**

Biomasa	No.	Xsa <sub>f</sub> (g/l)	XolHPLC <sub>f</sub> (g/l)	XolC <sub>f</sub> (g/l)	Δ XolC <sub>f</sub> (±g/l)	Tiempo de Fermentación (h)
Olote de Maíz	B1	16,07715	1,294717	-0,285753	0,000001	30 ± 1,4E-4
	B2	55,63204	0,000000	-8,052470	0,000001	
	B3	43,09729	0,000000	0,000000	0,000001	
	B4	18,76380	2,591000	1,634680	0,000001	30 ± 1,4E-4
	B5	56,15604	0,000000	-9,958970	0,000001	
	B6	45,59427	0,000000	-0,011870	0,000001	

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 2 y 6

Tabla XIX. **Productividad de xilitol de la levadura en hidrolizados de olote de maíz, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	Tiempo de Fermentación (h)	$P_{xol}$ (g/l·h)	$\Delta P_{xo}$ ( $\pm$ g/l·h)
Olote de Maíz	110 $\pm$ 1	B1	30 $\pm$ 1,4E-4	-0,00953	3,0E-08
		B2		-0,26842	3,0E-08
		B3		0,00000	3,0E-08
	120 $\pm$ 1	B4	30 $\pm$ 1,4E-4	0,05449	3,0E-08
		B5		-0,33197	3,0E-08
		B6		-0,00040	3,0E-08

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 3 y 6

Tabla XX. **Rendimiento y xilosa fermentada por la levadura en 30 horas de fermentación de hidrolizados de olote de maíz**

Biomasa	No.	$R_{xol/xsa}$ (g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$\Delta R_{xol/xsa}$ ( $\pm$ g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$X_{saF}$ (g/l)	$\Delta X_{saF}$ ( $\pm$ g/l)
Olote de Maíz	B1	-0,02747	0,00002	-5,674	0,0070
	B2	-0,15399	0,00002	-3,340	0,0070
	B3	0,00000	0,00000	9,843	0,0070
	B4	0,12071	0,00006	-5,221	0,0070
	B5	-0,18298	0,00002	-1,728	0,0070
	B6	-0,00020	0,00000	13,037	0,0070

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 4, 5 y 6

Tabla XXI. **Concentraciones iniciales de xilosa y xilitol resultantes de la hidrólisis del olote de maíz, para 30 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	XsaHi <sub>0</sub> (g/l)	XsaFe <sub>0</sub> (g/l)	Δ XsaFe <sub>0</sub> (±g/l)	XoIHi <sub>0</sub> (g/l)
Olote de Maíz	110 ± 1	B7	1	6,92657	10,40305	0,00700063	1,580470
		B8	2	48,81590	52,29238	0,00700063	8,052470
		B9	3	49,46344	52,93992	0,00700063	0,000000
	120 ± 1	B10	1	10,06593	13,54241	0,00700063	0,956320
		B11	2	50,95147	54,42795	0,00700063	9,958970
		B12	3	55,15521	58,63169	0,00700063	0,011870

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 1 y 6

Tabla XXII. **Concentración de xilitol al final de la fermentación y su corrección en hidrolizados de olote de maíz, en 48 horas de fermentación**

Biomasa	No.	Xsa <sub>f</sub> (g/l)	XoIHPLC <sub>f</sub> (g/l)	XoIC <sub>f</sub> (g/l)	Δ XoIC <sub>f</sub> (±g/l)	Tiempo de Fermentación (h)
Olote de Maíz	B7	21,09707	0,000000	-1,580470	0,000001	48 ± 1,4E-4
	B8	54,90804	0,000000	-8,052470	0,000001	
	B9	44,78843	0,000000	0,000000	0,000001	
	48 ± 1,4E-4	B10	16,32791	0,000000	-0,956320	0,000001
		B11	61,95154	0,000000	-9,958970	0,000001
		B12	50,33332	0,000000	-0,011870	0,000001

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 2 y 6

Tabla XXIII. **Productividad de xilitol de la levadura en hidrolizados de olote de maíz, para 48 horas de fermentación**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	Tiempo de Fermentación (h)	$P_{xol}$ (g/l·h)	$\Delta P_{xo}$ ( $\pm$ g/l·h)
Olote de Maíz	$110 \pm 1$	B7	$48 \pm 1,4E-4$	-0,03293	3,0E-08
		B8		-0,16776	3,0E-08
		B9		0,00000	3,0E-08
	$120 \pm 1$	B10	$48 \pm 1,4E-4$	-0,01992	3,0E-08
		B11		-0,20748	3,0E-08
		B12		-0,00025	3,0E-08

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 3 y 6

Tabla XXIV. **Rendimiento y xilosa fermentada por la levadura en 48 horas de fermentación de hidrolizados de olote de maíz**

Biomasa	No.	$R_{xol/xsa}$ (g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$\Delta R_{xol/xsa}$ ( $\pm$ g <sub>xilitol</sub> /g <sub>xilosa</sub> )	$X_{saF}$ (g/l)	$\Delta X_{saF}$ ( $\pm$ g/l)
Olote de Maíz	B7	-0,15192	0,00002	-10,694	0,0070
	B8	-0,15399	0,00002	-2,616	0,0070
	B9	0,00000	0,00000	8,151	0,0070
	B10	-0,07062	0,00006	-2,786	0,0070
	B11	-0,18298	0,00002	-7,524	0,0070
	B12	-0,00020	0,00000	8,298	0,0070

Fuente: elaboración propia basado en ecuaciones 4, 5 y 6

Tabla XXV. **Glucosa, sacarosa y xilitol fermentados por la levadura en 30 horas de fermentación de hidrolizados de olote de maíz**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Glucosa Fermentada (g/l)	Sacarosa Fermentada (g/l)	Xilitol Fermentada (g/l)
Olote de Maíz	110 ± 1	B1	1	0,03023	-0,01789	1,294717
		B2	2	0,04880	0,05296	0,000000
		B3	3	0,00000	-0,06409	0,000000
	120 ± 1	B4	1	0,02616	-0,04960	2,591000
		B5	2	0,05991	0,06544	0,000000
		B6	3	0,00000	-0,06049	0,000000

Fuente: elaboración propia basado en ecuación 8

Tabla XXVI. **Glucosa, sacarosa y xilitol fermentados por la levadura en 48 horas de fermentación de hidrolizados de olote de maíz**

Biomasa	Temperatura Hidrólisis (°C)	No.	% m/m H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Glucosa Fermentada (g/l)	Sacarosa Fermentada (g/l)	Xilitol Fermentada (g/l)
Olote de Maíz	110 ± 1	B7	1	0,06407	-0,00443	0,000000
		B8	2	0,04880	0,05296	0,000000
		B9	3	0,00000	-0,01988	0,000000
	120 ± 1	B10	1	0,07552	0,02365	0,000000
		B11	2	0,05991	0,06544	0,000000
		B12	3	0,00000	-0,03498	0,000000

Fuente: elaboración propia basado en ecuación 8

### Anexo 3. Datos Originales

A continuación se presentan los cromatogramas en orden

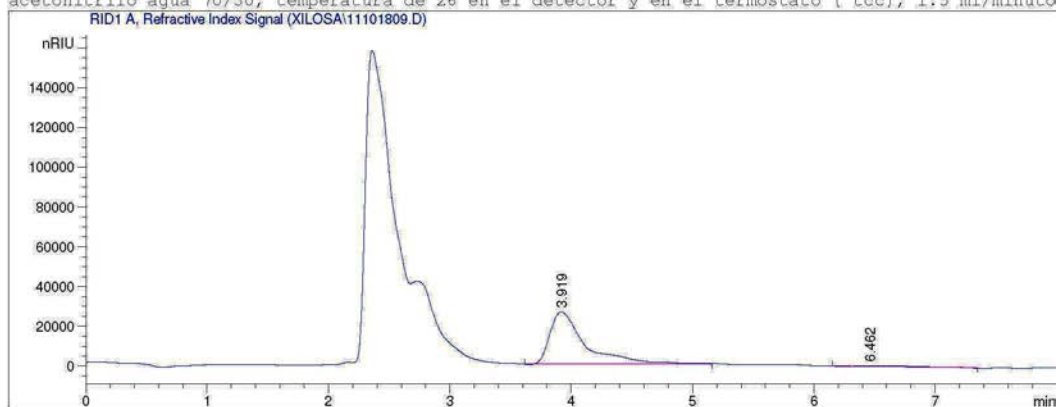
Tiempo de retención para xilosa 5 g/l

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11101809.D

Sample Name: Xilosa 5

```
-----  
Injection Date : 10/18/2011 12:27:58 PM      Seq. Line : 3  
Sample Name   : Xilosa 5                    Location  : Vial 3  
Acq. Operator : AdeM                       Inj      : 1  
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl  
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M  
Last changed  : 10/18/2011 12:13:15 PM by AdeM  
                (modified after loading)  
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M  
Last changed   : 10/24/2011 12:59:46 PM by AdeM  
                (modified after loading)
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



#### Area Percent Report

```
-----  
Sorted By      : Signal  
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:59:46 PM  
Multiplier     : 1.0000  
Dilution       : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [nRIU*s]	Area %	Name
1	3.919	PB	0.3045	5.39466e5	95.9581	Xilosa
2	4.571		0.0000	0.00000	0.0000	Xilitol
3	6.462	PP	0.5632	2.27230e4	4.0419	?

Totals : 5.62189e5

Results obtained with enhanced integrator!  
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

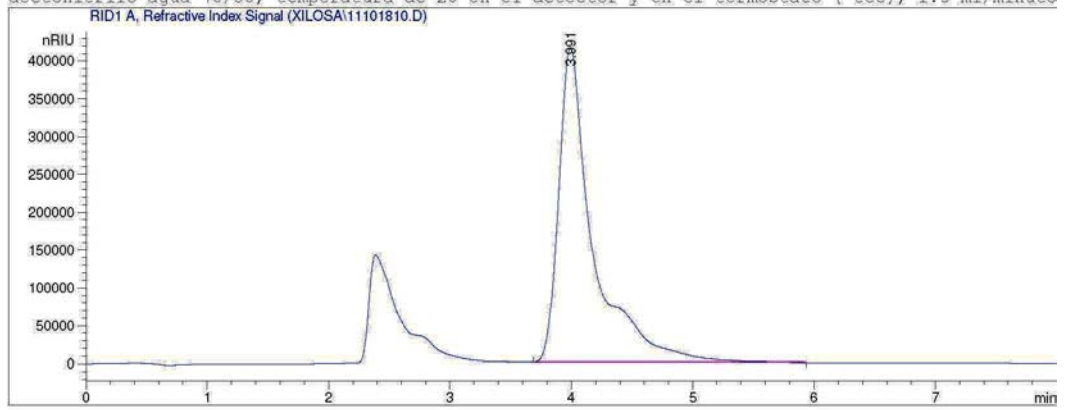
# Tiempo de retención para xilosa 75 g/l

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11101810.D

Sample Name: Xilosa 75

```
-----  
Injection Date : 10/18/2011 12:38:52 PM      Seq. Line : 4  
Sample Name    : Xilosa 75                    Location  : Vial 4  
Acq. Operator  : AdeM                        Inj      : 1  
Acq. Instrument: Instrument 2                 Inj Volume: 20 µl  
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M  
Last changed   : 10/18/2011 12:13:15 PM by AdeM  
                (modified after loading)  
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M  
Last changed   : 10/24/2011 12:59:46 PM by AdeM  
                (modified after loading)
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## Area Percent Report

```
-----  
Sorted By      : Signal  
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:59:46 PM  
Multiplier     : 1.0000  
Dilution       : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [nRIU*s]	Area %	Name
1	3.991	BB	0.2813	8.16673e6	100.0000	Xilosa
2	4.571		0.0000	0.00000	0.0000	Xilitol

Totals : 8.16673e6

Results obtained with enhanced integrator!  
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Tiempo de retención para xilitol 50 g/l

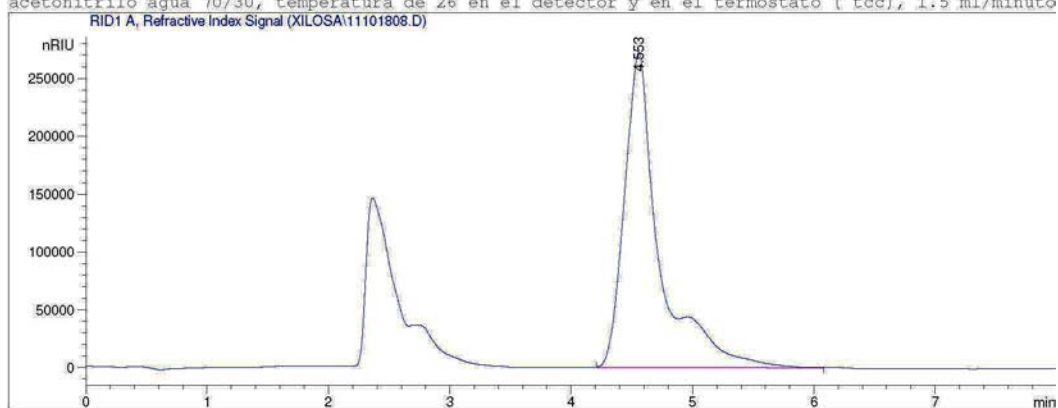
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11101808.D

Sample Name: Xilitol 50

```

=====
Injection Date : 10/18/2011 12:17:01 PM      Seq. Line : 2
Sample Name   : Xilitol 50                  Location  : Vial 2
Acq. Operator : AdeM                       Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/18/2011 12:13:15 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:59:46 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:59:46 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [nRIU*s]	Area %	Name
1	3.993		0.0000	0.00000	0.0000	Xilosa
2	4.553	BB	0.2910	5.48150e6	100.0000	Xilitol

Totals : 5.48150e6

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



# Tiempo de retención para xilitol 0.1 g/l

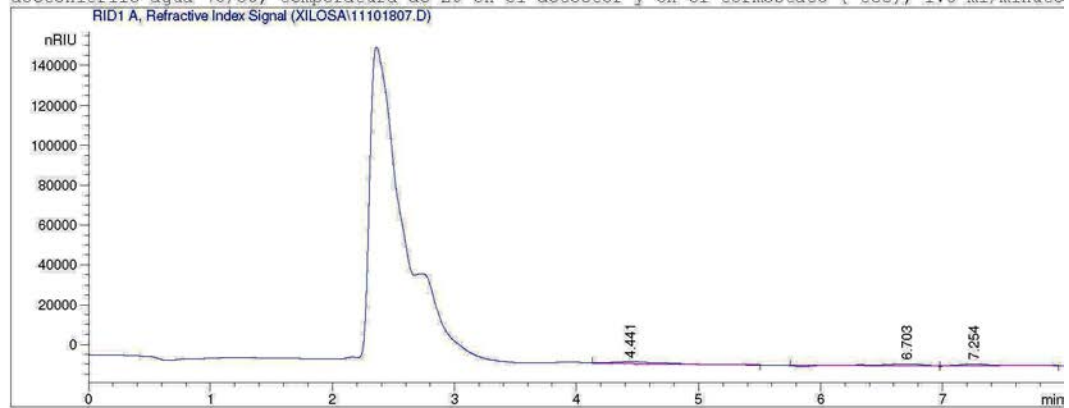
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11101807.D

Sample Name: Xilitol 0.1

```

=====
Injection Date : 10/18/2011 12:06:05 PM      Seq. Line : 1
Sample Name    : Xilitol 0.1                  Location  : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM                         Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2                 Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/18/2011 12:13:15 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:59:46 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:59:46 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [nRIU*s]	Area %	Name
1	3.993		0.0000	0.00000	0.0000	Xilosa
2	4.441	VB	0.4926	4.54780e4	45.6703	Xilitol
3	6.703	FP	0.4359	3.22867e4	32.4232	?
4	7.254	VBA	0.3487	2.18144e4	21.9066	?

Totals : 9.95790e4

Results obtained with enhanced integrator!

2 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found  
 Warning : Negative results set to zero (cal. curve intercept), (Xilitol)

\*\*\* End of Report \*\*\*

## Curva de calibración para xilosa y xilitol, para madera de eucalipto

Method C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M

```

=====
                        Calibration Table
=====
CURVA DE CALIBRACIÓN DE AZUCARES

Calib. Data Modified   :    Monday, October 24, 2011 12:51:23 PM

Calculate              :    External Standard
Based on               :    Peak Area

Rel. Reference Window :    5.000 %
Abs. Reference Window :    4.500 min
Rel. Non-ref. Window  :    5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :    0.000 min
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :    not reported
Partial Calibration   :    Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:    No, only for identified peaks

Curve Type            :    Linear
Origin                :    Included
Weight                :    Equal

Recalibration Settings:
Average Response      :    Average all calibrations
Average Retention Time:    Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
Printout of recalibrations within a sequence:
  Calibration Table after Recalibration
  Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
  Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig  [g/L]
-----
 3.993  1  1  5.00000  3.82760e5  1.30630e-5  Xilosa
          2  30.00000  2.54213e6  1.18011e-5
          3  50.00000  3.96383e6  1.26141e-5
          4  75.00000  6.40147e6  1.17161e-5
 4.571  1  1  1.00000  1.32115e5  7.56914e-6  Xilitol
          2  10.00000  1.54440e6  6.47501e-6
          3  30.00000  3.25153e6  9.22642e-6
          4  50.00000  6.14733e6  8.13361e-6

More compound-specific settings:

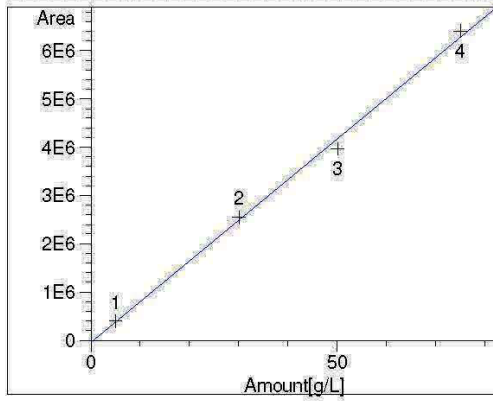
Compound: Xilosa
Time Window      : From 3.700 min To 4.300 min

Compound: Xilitol
Time Window      : From 4.300 min To 5.100 min
=====
                        Peak Sum Table
=====

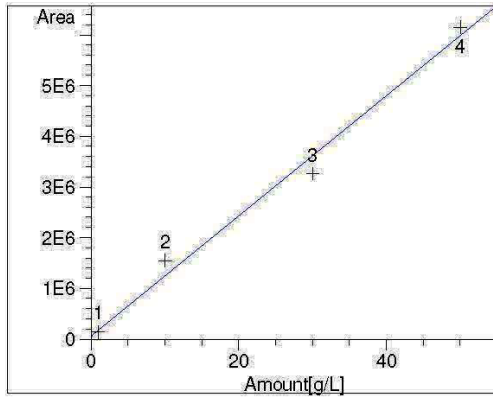
***No Entries in table***
=====

```

=====  
Calibration Curves  
=====



Xilosa at exp. RT: 3.993  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99887  
Residual Std. Dev.: 145104.72033  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 84273.08923  
b: -38700.51797  
x: Amount [g/L]  
y: Area



Xilitol at exp. RT: 4.571  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99515  
Residual Std. Dev.: 290854.14819  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 118666.93452  
b: 55337.28232  
x: Amount [g/L]  
y: Area

Concentración de xilosa y xilitol en el cultivo de levadura, justamente antes de ser agregada para fermentar hidrolizados de madera de eucalipto

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102417.D

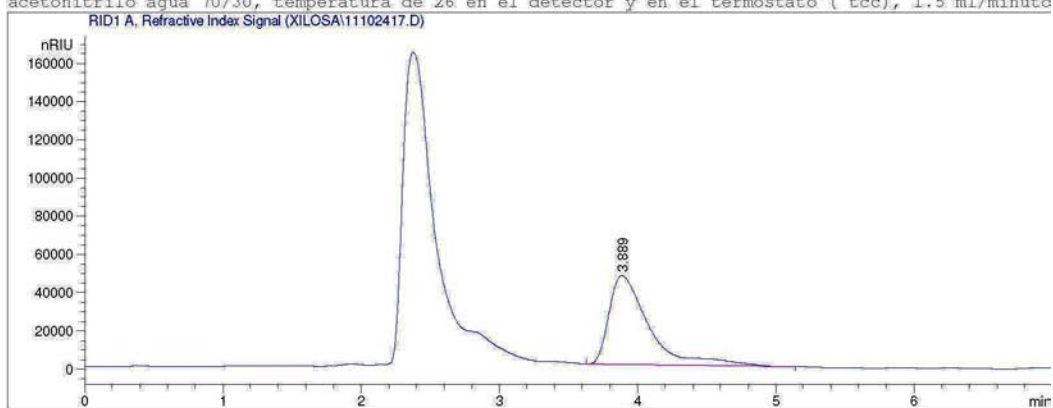
Sample Name: L

Levadura

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 2:22:04 PM      Seq. Line : 18
Sample Name    : L                          Location  : Vial 18
Acq. Operator : AdeM                       Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.889	BB	9.34732e5	1.23575e-5	11.55093		Xilosa
4.571		-	-	-		Xilitol

Totals : 11.55093

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A1 madera de eucalipto

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

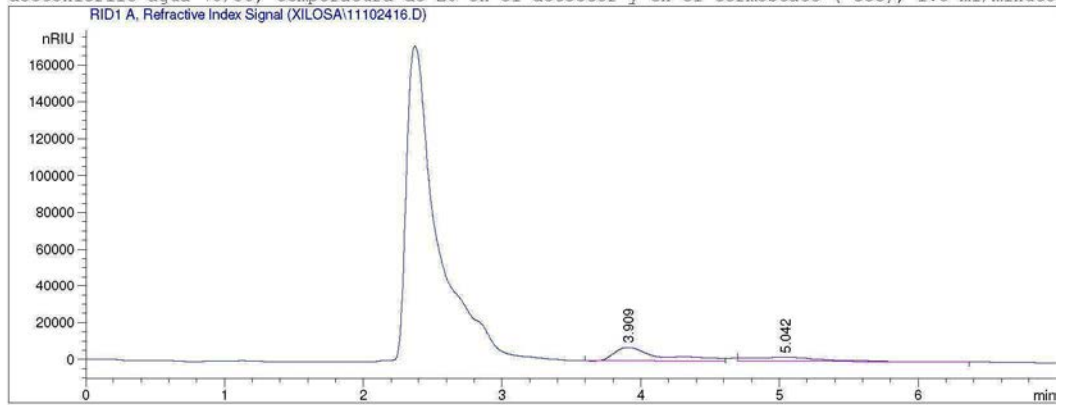
Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 2:12:13 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H                          Location  : Vial 17
Acq. Operator : AdeM                        Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PB	1.71723e5	1.45404e-5	2.49693		Xilosa
5.042	BB	9.56521e4	3.55173e-6	3.39731e-1		Xilitol

Totals : 2.83666

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A2 madera de eucalipto

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

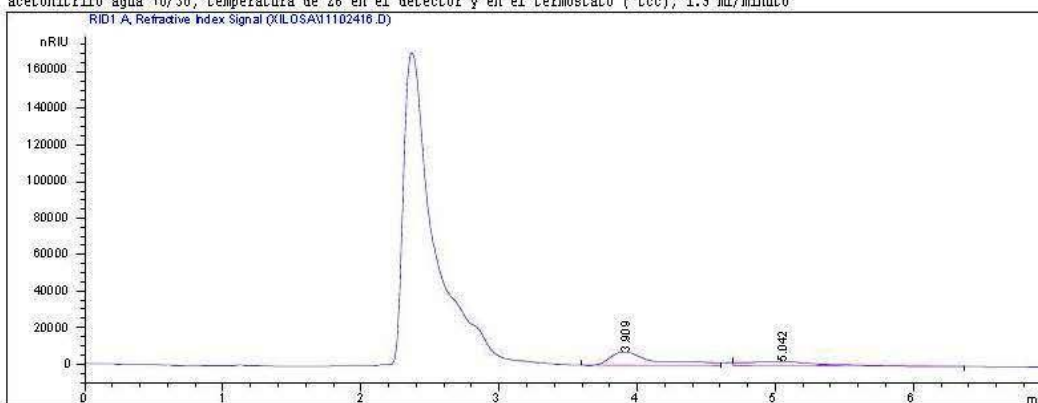
Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 2:42:13 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H2                          Location  : Vial 17
Acq. Operator  : AdeM                        Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2                Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                  (modified after loading)
    
```

Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PE	0.76433e5	1.78745e-5	1.36620		Xilosa
5.042	BB	6.72657e4	1.49437e-6	1.00520e-1		Xilitol

Totals : 1.47142

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A3 madera de eucalipto

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

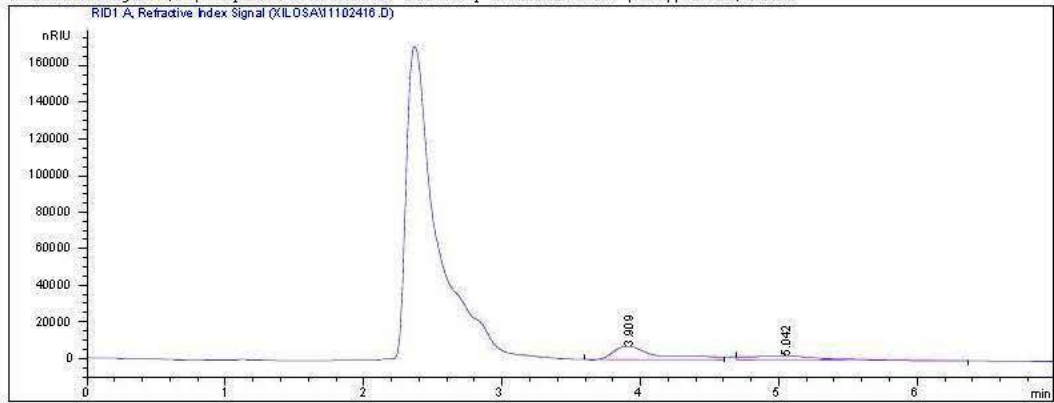
Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 2:42:13 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H3                          Location  : Vial 17
Acq. Operator  : AdeM                        Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2                Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azuceres, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PB	1.70297e5	1.45627e-5	2.48000		Xilosa
5.042	BB	8.57683e4	2.98992e-6	2.56441e-1		Xilitol

Totals : 2.73644

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A4 madera de eucalipto

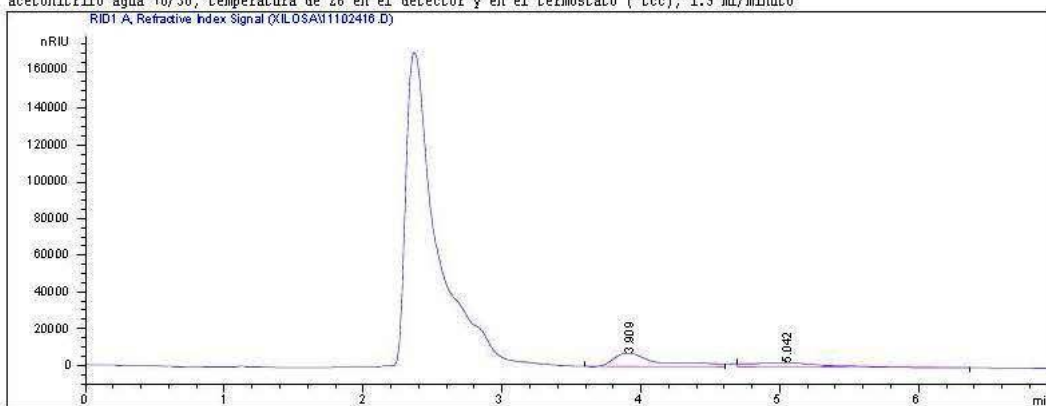
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 3:10:02 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H4                        Location  : Vial 17
Acq. Operator  : AdeM                      Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PB	1.71645e5	1.454164e-5	2.49600		Xilosa
5.042	BB	10.0180e4	3.77211e-6	3.77890e-1		Xilitol

Totals : 2.87389

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*



# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A5 madera de eucalipto

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

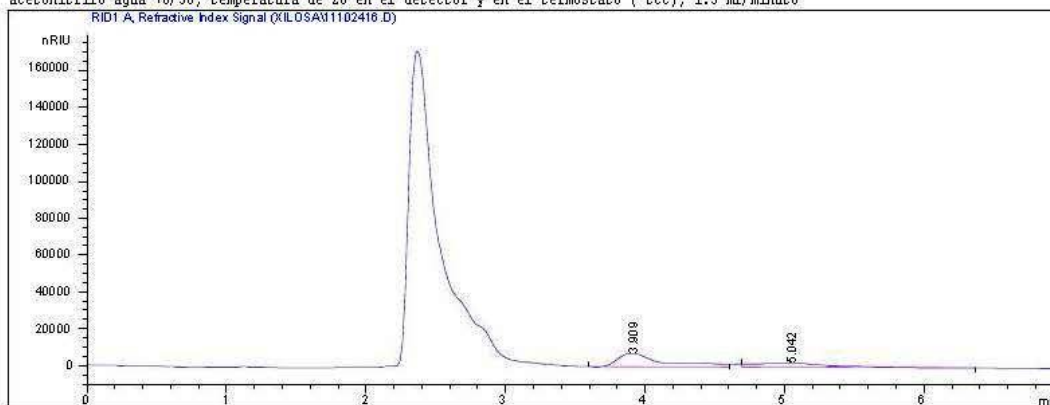
Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 3:18:33 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H5                        Location  : Vial 17
Acq. Operator  : AdeM                      Inj       : 1
Acq. Instrument: Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
  
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PB	2.26928e5	1.38898e-5	3.1520		Xilosa
5.042	BB	10.6496e4	4.04813e-6	4.31110e-1		Xilitol

Totals : 3.58311

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra A6 madera de eucalipto

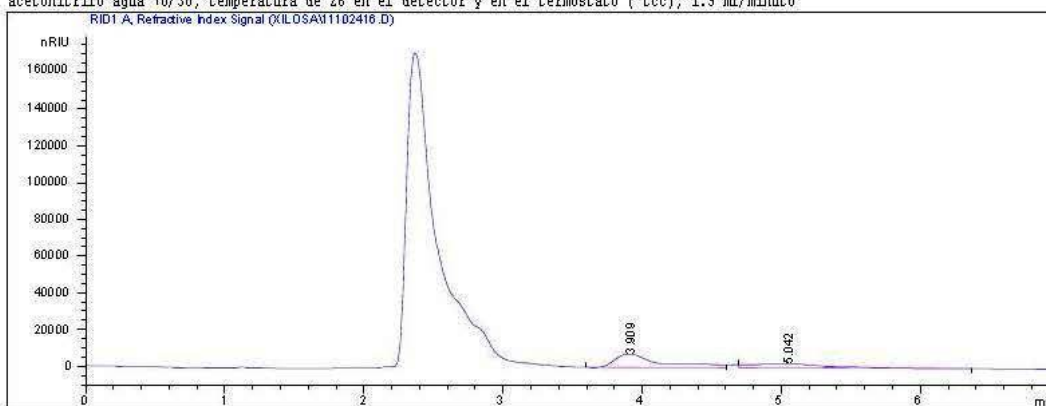
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102416.D

Sample Name: H

Hidrolizado

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 3:27:10 PM      Seq. Line : 17
Sample Name    : H6                          Location  : Vial 17
Acq. Operator  : AdeM                        Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2                Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



## External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PB	2.69650e5	1.35692e-5	3.65894		Xilosa
5.042	BB	11.4138e4	4.34134e-6	4.95512e-1		Xilitol

Totals : 4.15445

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/1%. Muestra A1

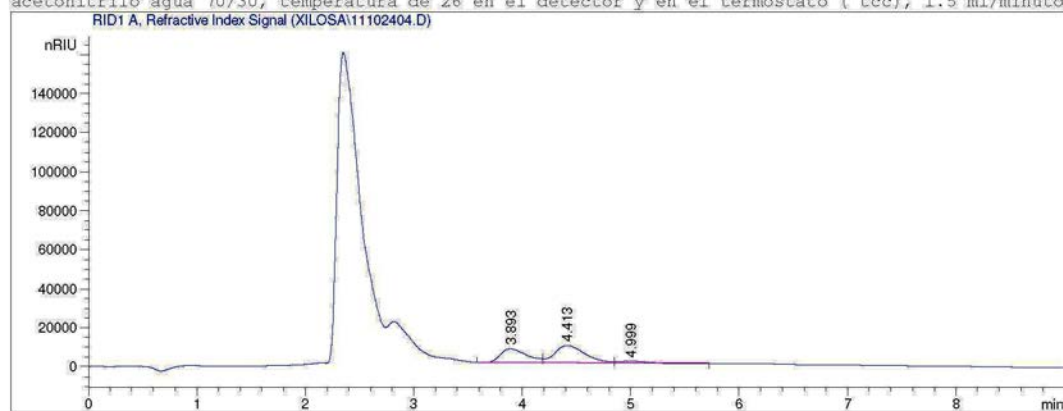
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102404.D

Sample Name: Mu 1

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 12:07:32 PM      Seq. Line : 5
Sample Name    : Mu 1                        Location  : Vial 5
Acq. Operator  : AdeM                       Inj       : 1
Acq. Instrument: Instrument 2                Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 11:07:27 AM by AdeM
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:54:06 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:51:23 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.893	PV	1.18233e5	1.57503e-5	1.86220		Xilosa
4.413	VV	1.72673e5	5.72633e-6	9.88784e-1		Xilitol

Totals : 2.85099

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/2%. Muestra A2

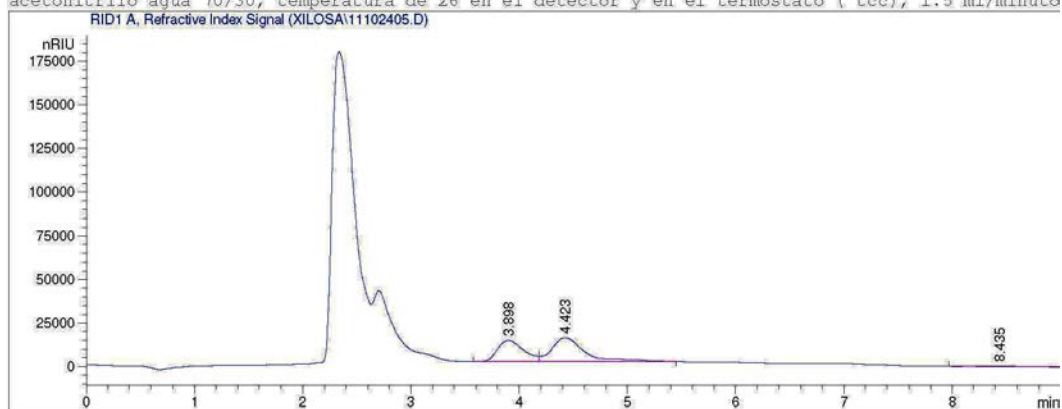
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102405.D

Sample Name: Mu 2

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 12:19:24 PM      Seq. Line : 6
Sample Name    : Mu 2                        Location  : Vial 6
Acq. Operator  : AdeM                       Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 11:07:27 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:54:06 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinación de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase móvil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:51:23 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.898	BV	2.03168e5	1.41265e-5	2.87005		Xilosa
4.423	VB	3.11850e5	6.93160e-6	2.16162		Xilitol

Totals : 5.03167

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/3%. Muestra A3

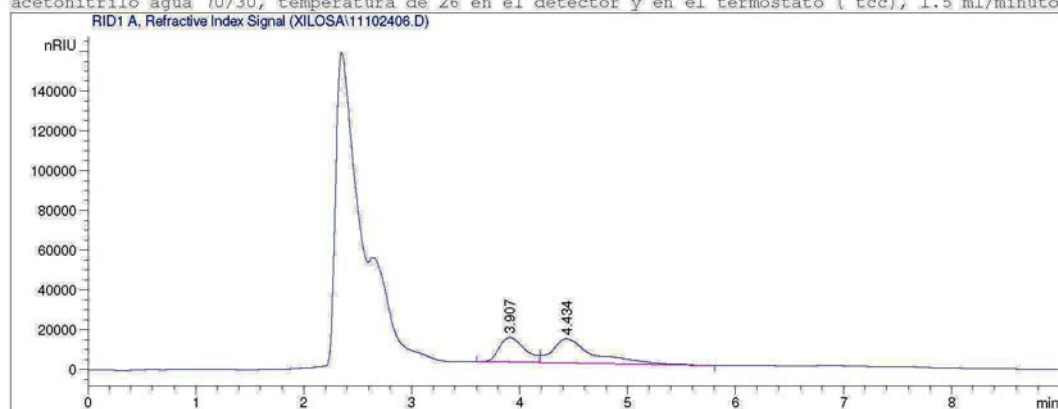
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102406.D

Sample Name: Mu 3

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 12:31:15 PM      Seq. Line : 7
Sample Name   : Mu 3                          Location  : Vial 7
Acq. Operator : AdeM                          Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2                 Inj Volume: 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 11:07:27 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:54:06 PM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase movil acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:51:23 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.907	BV	2.05300e5	1.41030e-5	2.89535		Xilosa
4.434	VP	3.31985e5	7.02229e-6	2.33130		Xilitol

Totals : 5.22665

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

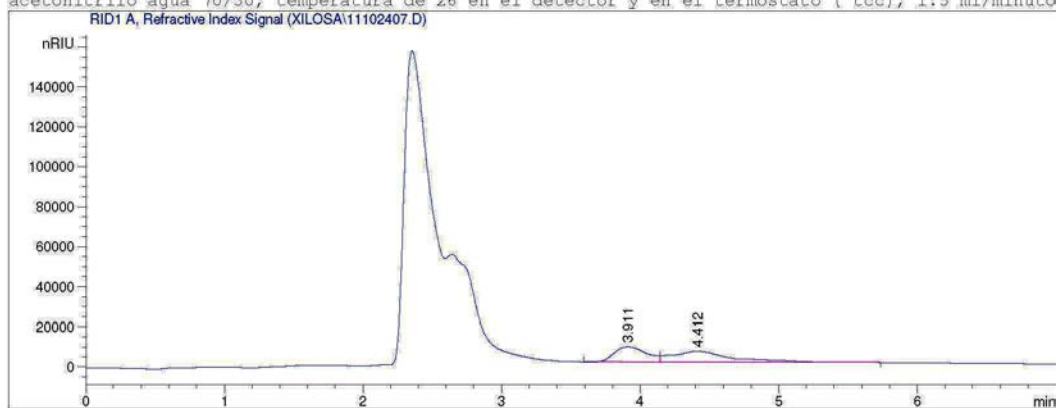
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/1%. Muestra A4

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102407.D

Sample Name: Mu 4

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 12:43:09 PM      Seq. Line : 8
Sample Name   : Mu 4                        Location  : Vial 8
Acq. Operator : AdeM                       Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:54:06 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 12:51:23 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISIDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.911	EV	1.24833e5	1.55449e-5	1.94052		Xilosa
4.412	VB	1.80348e5	5.84126e-6	1.05346		Xilitol

Totals : 2.99398

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/2%. Muestra A5

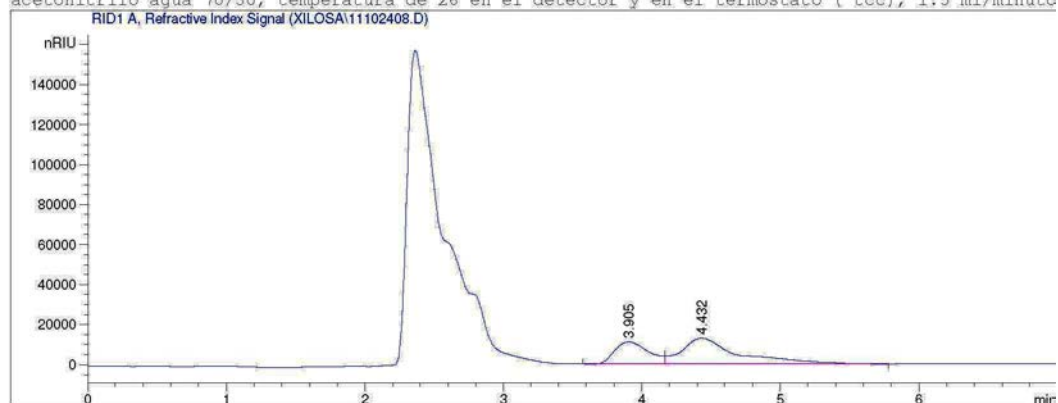
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102408.D

Sample Name: Mu 5

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 12:53:05 PM      Seq. Line : 9
Sample Name   : Mu 5                        Location  : Vial 9
Acq. Operator : AdeM                        Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minute

```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.905	BV	1.86581e5	1.43275e-5	2.67323		Xilosa
4.432	VP	3.66639e5	7.15506e-6	2.62332		Xilitol

Totals : 5.29656

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

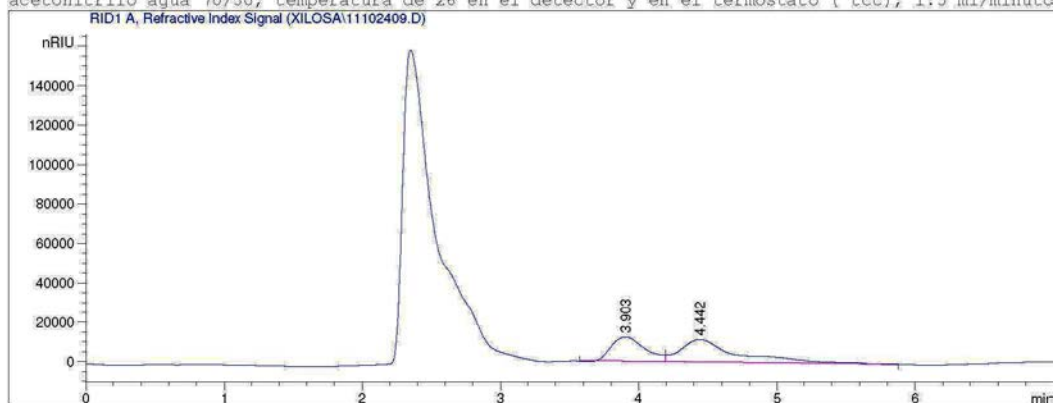
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/3%. Muestra A6

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102409.D

Sample Name: Mu 6

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:03:02 PM      Seq. Line : 10
Sample Name   : Mu 6                        Location  : Vial 10
Acq. Operator : AdeM                       Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.903	BV	2.12646e5	1.40258e-5	2.98253		Xilosa
4.442	VP	3.40024e5	7.05550e-6	2.39904		Xilitol

Totals : 5.38157

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*



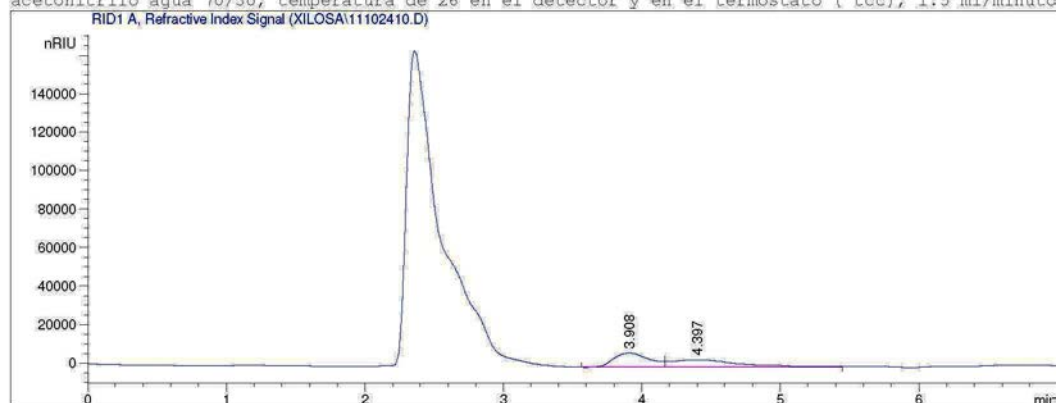
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/1%. Muestra A7

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102410.D

Sample Name: Mu 7

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:12:59 PM      Seq. Line : 11
Sample Name   : Mu 7                        Location  : Vial 11
Acq. Operator : AdeM                       Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.908	BV	1.31242e5	1.53653e-5	2.01657		Xilosa
4.397	VB	1.37133e5	5.02641e-6	6.89284e-1		Xilitol

Totals : 2.70586

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

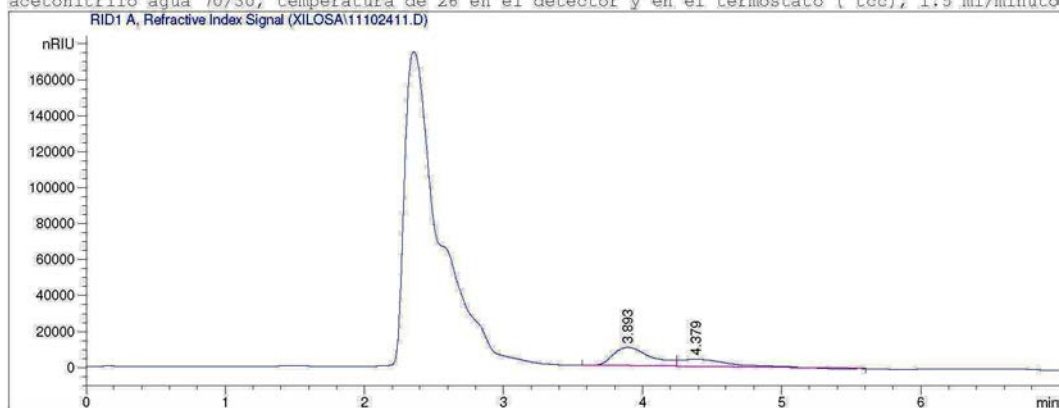
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/2%. Muestra A8

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102411.D

Sample Name: Mu 8

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:22:52 PM      Seq. Line : 12
Sample Name    : Mu 8                      Location  : Vial 12
Acq. Operator  : AdeM                      Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed   : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.893	BV	1.96305e5	1.42055e-5	2.78862		Xilosa
4.379	VP	1.01937e5	3.85232e-6	3.92695e-1		Xilitol

Totals : 3.18131

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 110°C/3%. Muestra A9

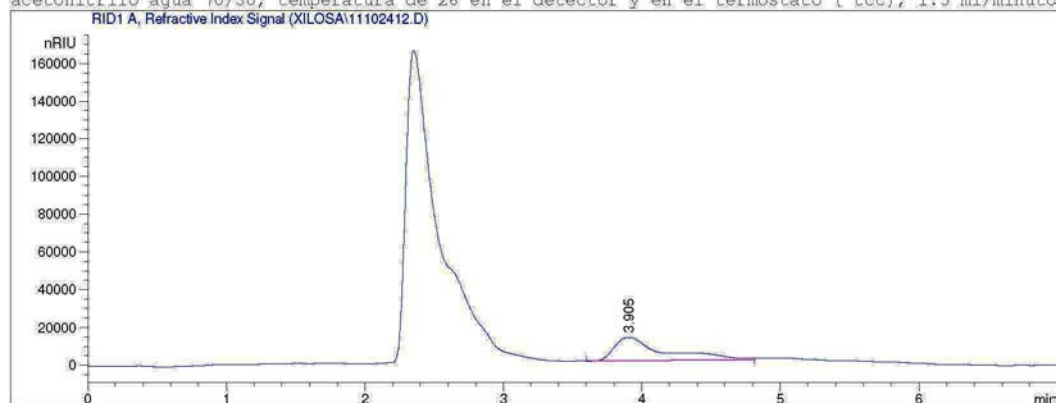
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102412.D

Sample Name: Mu 9

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:32:43 PM      Seq. Line : 13
Sample Name   : Mu 9                        Location  : Vial 13
Acq. Operator: AdeM                        Inj      : 1
Acq. Instrument: Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
=====

```



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.905	PB	3.20488e5	1.32991e-5	4.26220		Xilosa
4.571		-	-	-		Xilitol

Totals : 4.26220

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

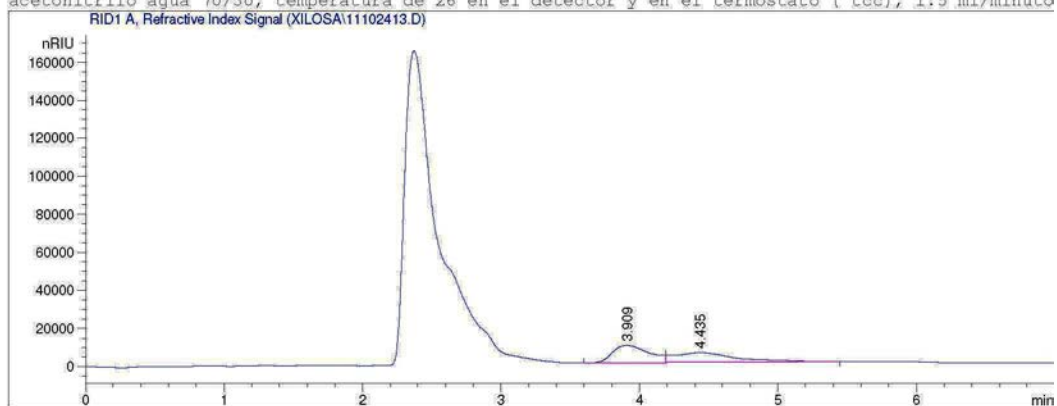
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/1%. Muestra A10

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102413.D

Sample Name: Mu 10

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:42:36 PM      Seq. Line : 14
Sample Name   : Mu 10                      Location  : Vial 14
Acq. Operator : AdeM                      Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2             Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	PV	1.68224e5	1.45960e-5	2.45540		Xilosa
4.435	VB	1.73243e5	5.73521e-6	9.93585e-1		Xilitol

Totals : 3.44899

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

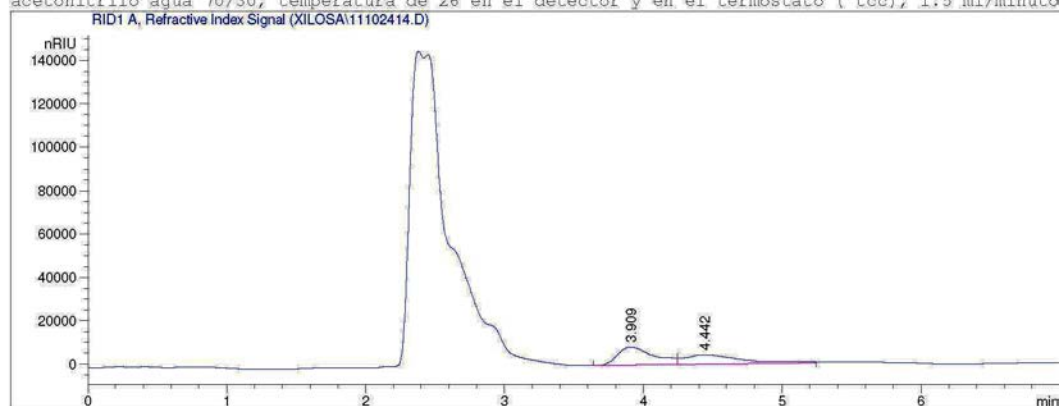
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/2%. Muestra A11

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102414.D

Sample Name: Mu 11

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 1:52:28 PM      Seq. Line : 15
Sample Name   : Mu 11                      Location  : Vial 15
Acq. Operator : AdeM                      Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
              (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
              (modified after loading)
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase móvil
acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.909	EV	1.53575e5	1.48564e-5	2.28157		Xilosa
4.442	VB	1.33736e5	4.94005e-6	6.60663e-1		Xilitol

Totals : 2.94223

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

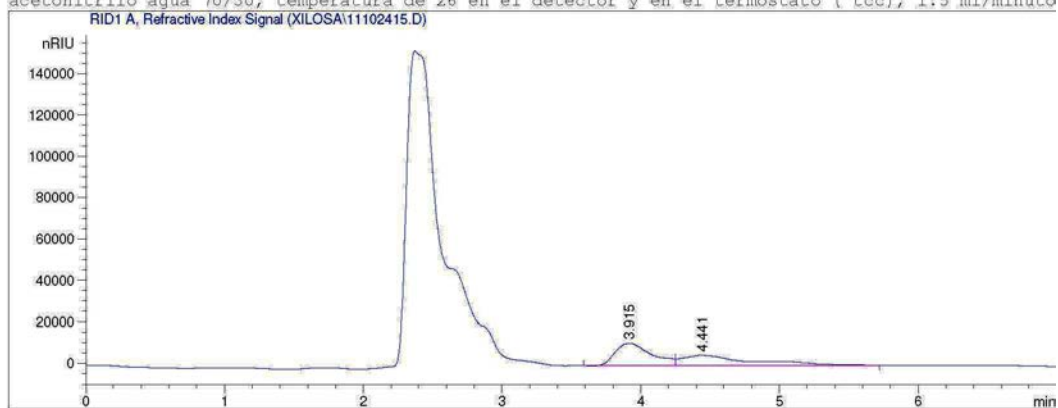
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de madera de eucalipto, tratamiento 120°C/3%. Muestra A12

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11102415.D

Sample Name: Mu 12

```

=====
Injection Date : 10/24/2011 2:02:20 PM      Seq. Line : 16
Sample Name   : Mu 12                      Location  : Vial 16
Acq. Operator : AdeM                      Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2             Inj Volume : 20 µl
Acq. Method   : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 12:47:39 PM by AdeM
              : (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\XILOSA.M
Last changed  : 10/24/2011 1:03:53 PM by AdeM
              : (modified after loading)
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 24, 2011 1:03:53 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.915	BV	1.95686e5	1.42129e-5	2.78128		Xilosa
4.441	VP	1.77872e5	5.80526e-6	1.03259		Xilitol

Totals : 3.81387

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

## Curva de calibración para fructosa, sacarosa y glucosa

Method C:\HPCHEM\2\METHODS\AZI11027.M

```

=====
                        Calibration Table
=====
CURVA DE CALIBRACIÓN DE AZUCARES

Calib. Data Modified   :   Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM

Calculate              :   External Standard
Based on               :   Peak Area

Rel. Reference Window :   5.000 %
Abs. Reference Window :   4.500 min
Rel. Non-ref. Window  :   5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :   0.000 min
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :   not reported
Partial Calibration   :   Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:   No, only for identified peaks

Curve Type            :   Linear
Origin                :   Forced
Weight                :   Equal

Recalibration Settings:
Average Response      :   Average all calibrations
Floating Average New  :   Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig  [%]
-----
  4.481  1  9.95282e-1  5.36902e5  1.85375e-6  Fructosa
           2  1.99056  1.16403e6  1.71007e-6
           3  2.48820  1.47809e6  1.68339e-6
  4.837  1  1.00677  1.63343e6  6.16355e-7  Glucosa
           2  2.01354  3.21229e6  6.26824e-7
           3  2.51692  4.16086e6  6.04905e-7
  6.707  1  3.98594  4.44376e6  8.96975e-7  Sacarosa
           2  7.97188  9.01337e6  8.84450e-7
           3  9.96485  1.06130e7  9.38932e-7

More compound-specific settings:

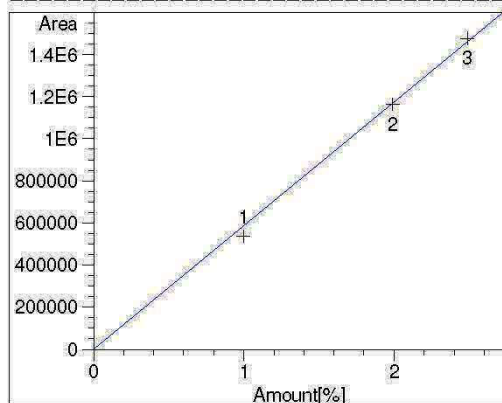
Compound: Fructosa
  Time Window      :   From 4.254 min To 4.591 min

Compound: Glucosa
  Time Window      :   From 4.621 min To 5.681 min

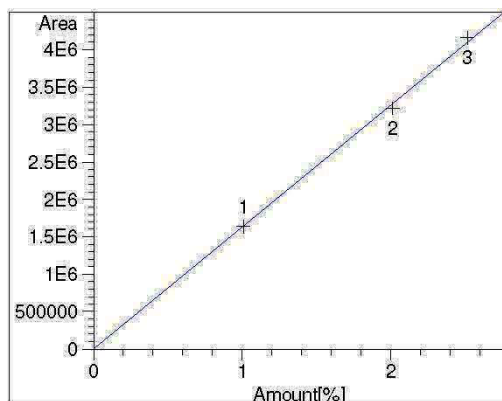
Compound: Sacarosa
  Time Window      :   From 5.700 min To 7.600 min
=====
                        Peak Sum Table
=====
***No Entries in table***
=====

```

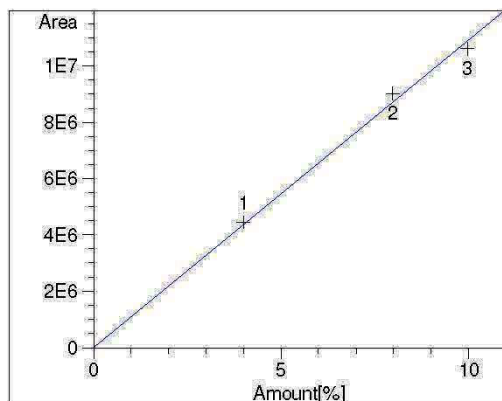
=====  
Calibration Curves  
=====



Fructosa at exp. RT: 4.481  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99967  
Residual Std. Dev.: 35725.37112  
Formula:  $y = mx$   
m: 585891.20694  
x: Amount[%]  
y: Area



Glucosa at exp. RT: 4.837  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99986  
Residual Std. Dev.: 64509.23917  
Formula:  $y = mx$   
m: 1.62987e6  
x: Amount[%]  
y: Area



Sacarosa at exp. RT: 6.707  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99959  
Residual Std. Dev.: 296036.73429  
Formula:  $y = mx$   
m: 1.09279e6  
x: Amount[%]  
y: Area



## Curva de calibración para xilosa y xilitol, para olote de maíz

Method C:\HPCHEM\2\METHODS\AZI11031.M

```

=====
                        Calibration Table
=====
CURVA DE CALIBRACIÓN DE AZUCARES

Calib. Data Modified   :      Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM

Calculate              :      External Standard
Based on               :      Peak Area

Rel. Reference Window :      5.000 %
Abs. Reference Window :      4.500 min
Rel. Non-ref. Window  :      5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :      0.000 min
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :      not reported
Partial Calibration   :      Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:      No, only for identified peaks

Curve Type            :      Linear
Origin                :      Forced
Weight                :      Equal

Recalibration Settings:
Average Response      :      Average all calibrations
Average Retention Time:      Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig  [g/L]
-----
  3.920  1  1  10.00000  3.87943e5  2.57769e-5      Xilosa
           2  30.00000  2.40391e6  1.24797e-5
           3  50.00000  3.73663e6  1.33810e-5
           4  75.00000  6.11276e6  1.22694e-5
  4.507  1  1  5.00000  2.06382e5  2.42270e-5      Xilitol
           2  10.00000  1.67610e6  5.96622e-6
           3  30.00000  3.84237e6  7.80768e-6
           4  50.00000  7.16217e6  6.98112e-6

More compound-specific settings:

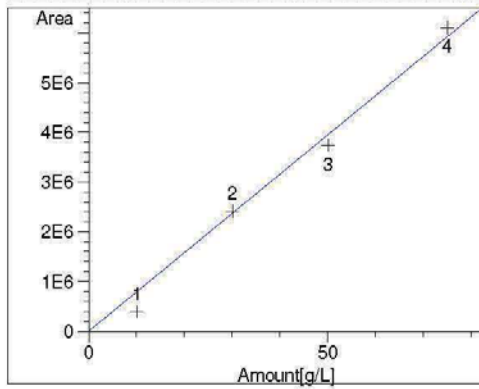
Compound: Xilosa
  Time Window      :      From 3.568 min To 4.268 min

Compound: Xilitol
  Time Window      :      From 4.340 min To 6.140 min
=====
                        Peak Sum Table
=====

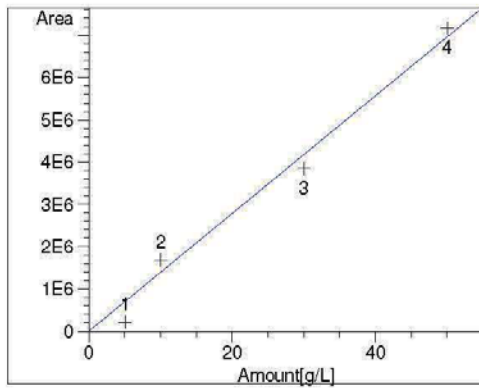
***No Entries in table***
=====

```

=====  
Calibration Curves  
=====



Xilosa at exp. RT: 3.920  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99787  
Residual Std. Dev.: 284932.84986  
Formula:  $y = mx$   
m: 79045.00219  
x: Amount [g/L]  
y: Area



Xilitol at exp. RT: 4.507  
RID1 A, Refractive Index Signal  
Correlation: 0.99657  
Residual Std. Dev.: 396885.71871  
Formula:  $y = mx$   
m: 139339.81773  
x: Amount [g/L]  
y: Area

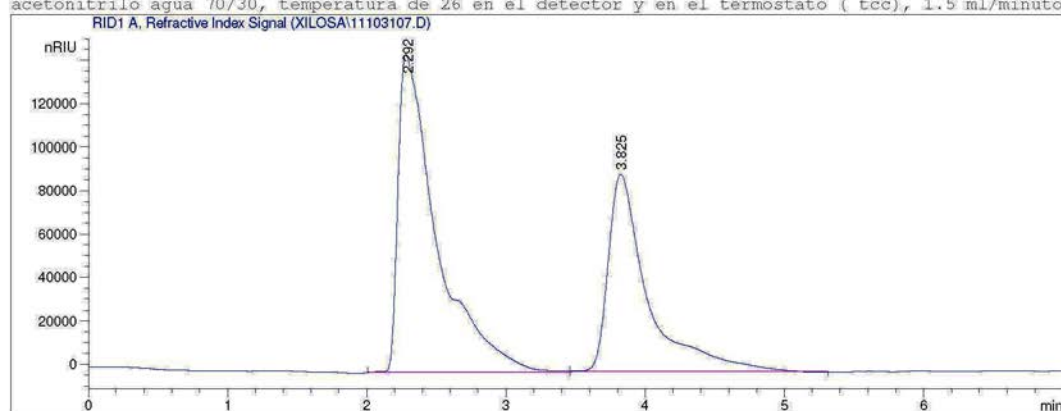
Concentración de xilosa y xilitol en el cultivo de levadura, justamente antes de ser agregada para fermentar hidrolizados de olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103107.D

Sample Name: Levadura

```

=====
Injection Date   : 10/31/2011 11:33:29 AM
Sample Name     : Levadura                      Location : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
  
```



External Standard Report

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.825	VP	1.81897e6	1.26510e-5	23.01181		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 23.01181

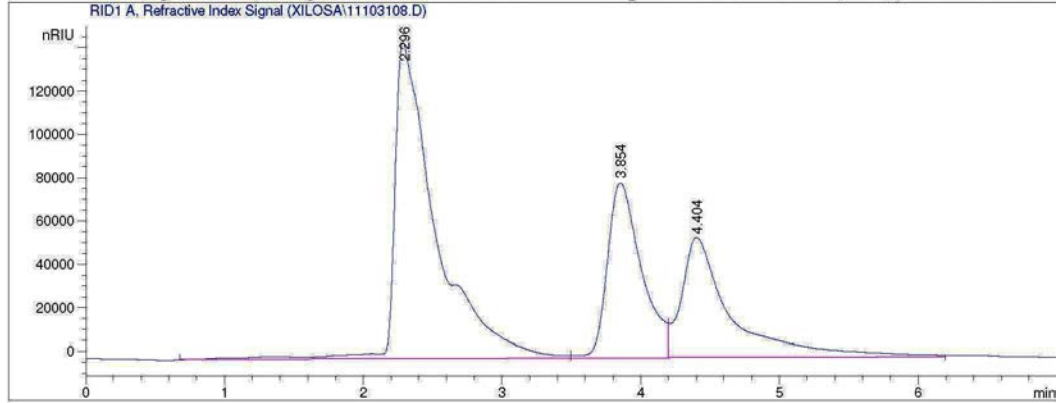
Results obtained with enhanced integrator!  
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:41:13 AM
Sample Name : Muestra X Location : Vial 1
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

=====
Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.854	VV	1.37177e6	1.26510e-5	17.35435		Xilosa
4.404	VB	1.37289e6	7.17670e-6	9.85281		Xilitol

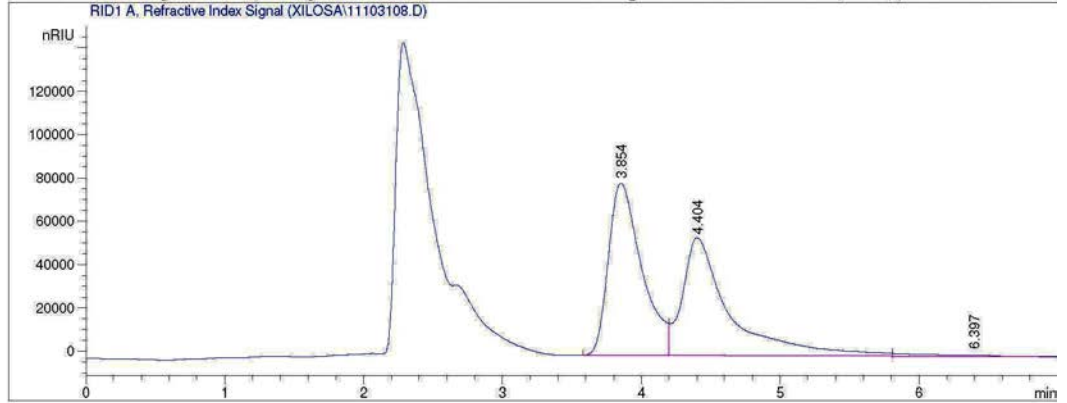
Totals : 27.20716

Results obtained with enhanced Integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:41:13 AM
Sample Name : Muestra X
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm., 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.404	VV	1.29194e6	1.70680e-6	2.20508		Fructosa
4.837		-	-	-		Glucosa
6.397	VBA+	4.27781e4	9.15085e-7	3.91456e-2		Sacarosa

Totals : 2.24423

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

# Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B1 olote de maíz

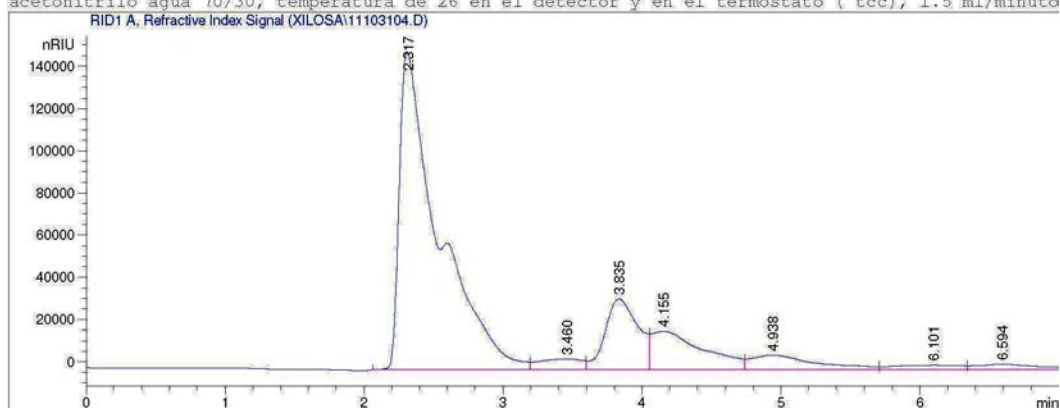
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103104.D

Sample Name: Muestra A

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:09:52 AM
Sample Name : Muestra A Location : Vial 1
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 11:11:19 AM by AdeM
                (modified after loading)
    
```

Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto



## External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.835	VV	5.47511e5	1.26510e-5	6.92657		Xilosa
4.938	VV	2.20222e5	7.17670e-6	1.58047		Xilitol

Totals : 8.50703

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

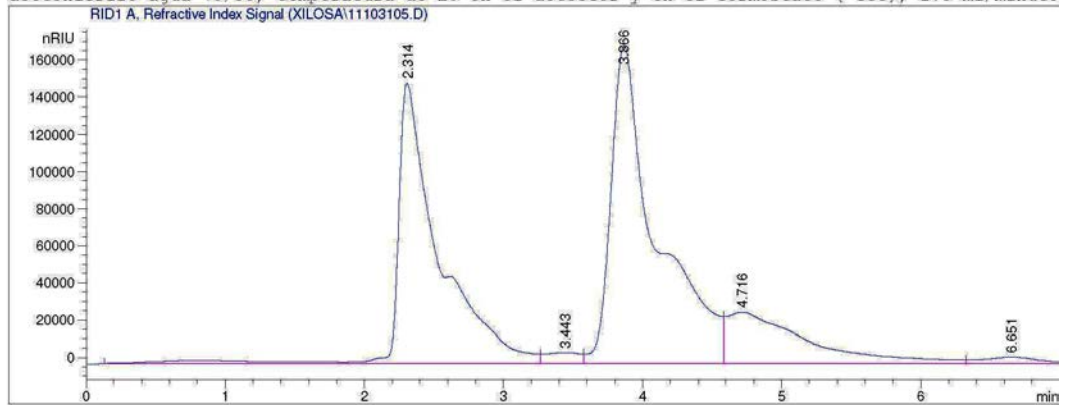
## Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B2 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103105.D

Sample Name: Muestra B

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:18:11 AM
Sample Name    : Muestra B                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument: Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Sample Amount  : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.866	VV	3.85865e6	1.26510e-5	48.81590		Xilosa
4.716	VB	1.12203e6	7.17670e-6	8.05247		Xilitol

Totals : 56.86838

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

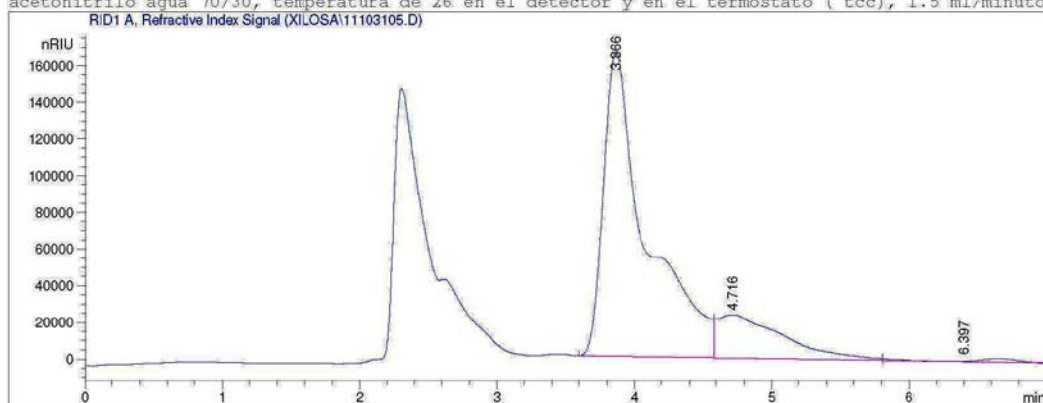
## Concentración otras azúcares, en el hidrolizado muestra B2 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103105.D

Sample Name: Muestra B

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:18:11 AM
Sample Name    : Muestra B                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed   : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.716	VV	7.95351e5	6.13546e-7	4.87985e-1	-	Glucosa
6.397	VEA+	5.78729e4	9.15085e-7	5.29586e-2	-	Sacarosa

Totals : 5.40944e-1

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



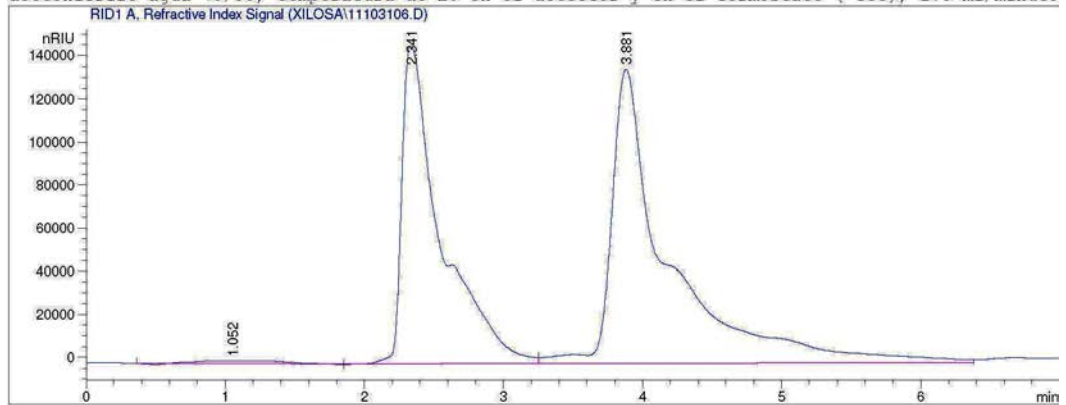
## Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B3 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103106.D

Sample Name: Muestra C

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:25:55 AM
Sample Name : Muestra C
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.881	VV	3.90984e6	1.26510e-5	49.46344		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 49.46344

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

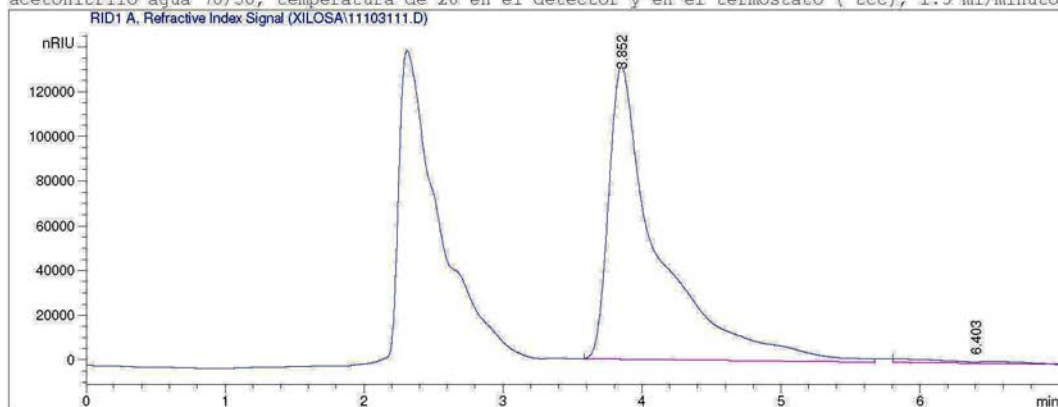
## Concentración otras azúcares, en el hidrolizado muestra B3 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103111.D

Sample Name: Muestra 3

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:04:37 PM
Sample Name : Muestra 3
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481						Fructosa
4.837						Glucosa
6.403	VBA+	7.00478e4	9.15085e-7	6.40997e-2		Sacarosa

Totals : 6.40997e-2

Results obtained with enhanced integrator!  
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

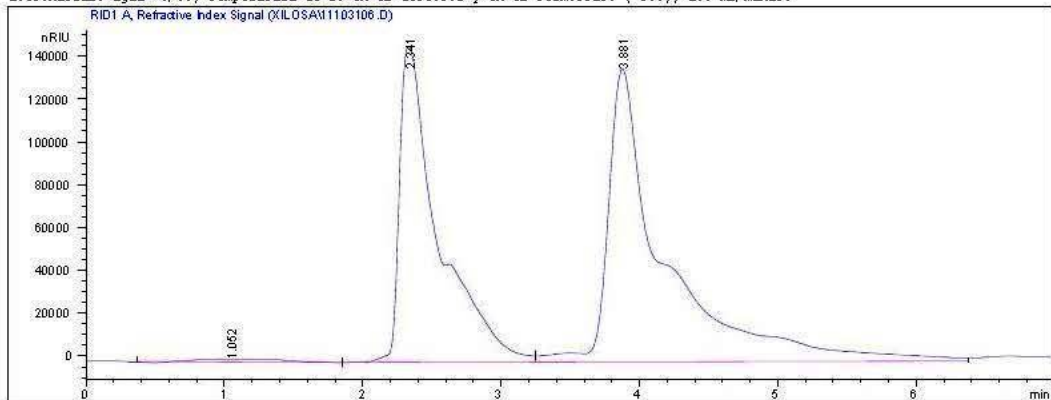
## Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B4 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103106.D

Sample Name: Muestra C

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:45:55 AM
Sample Name    : Muestra D                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount  : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type [nRIU*s]	Area [g/L]	Amt/Area	Amount	Grp	Name
3.881	VV	0.795661e6	1.26510e-5	10.06593		Xilosa
4.507		1.342120e5	7.17670e-6	9.6320e-1		Xilitol

Totals : 11.02913

\*\*\* End of Report \*\*\*

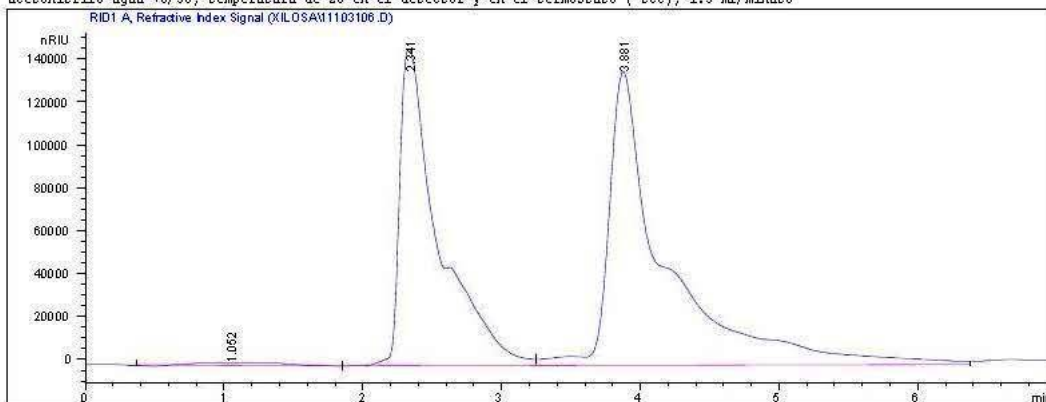
## Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B5 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103106.D

Sample Name: Muestra C

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:59:00 AM
Sample Name    : Muestra E                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas MH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type [nRIU*s]	Area [g/L]	Amt/Area	Amount	Grp	Name
3.881	VV	4.027460e6	1.26510e-5	50.95147		Xilosa
4.507		13.8768e5	7.17670e-6	9.958970		Xilitol

Totals : 60.91044

\*\*\* End of Report \*\*\*

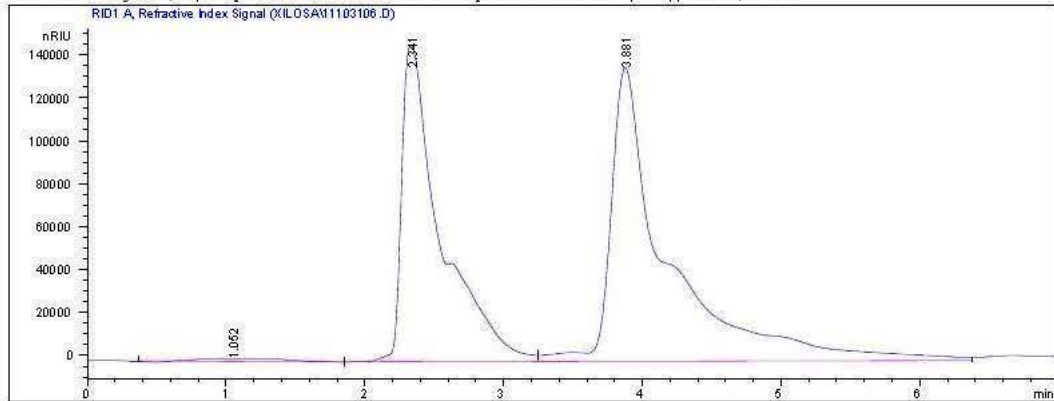
## Concentración xilosa y xilitol, en el hidrolizado muestra B6 olote de maíz

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103106.D

Sample Name: Muestra C

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:59:00 AM
Sample Name    : Muestra F                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



### External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area [g/L]	Amount	Grp	Name
3.881	VV	4.35974e6	1.26510e-5	55.15521		Xilosa
4.507		1.65396e3	7.17672e-6	0.11870e-1		Xilitol

Totals : 55.16709

\*\*\* End of Report \*\*\*

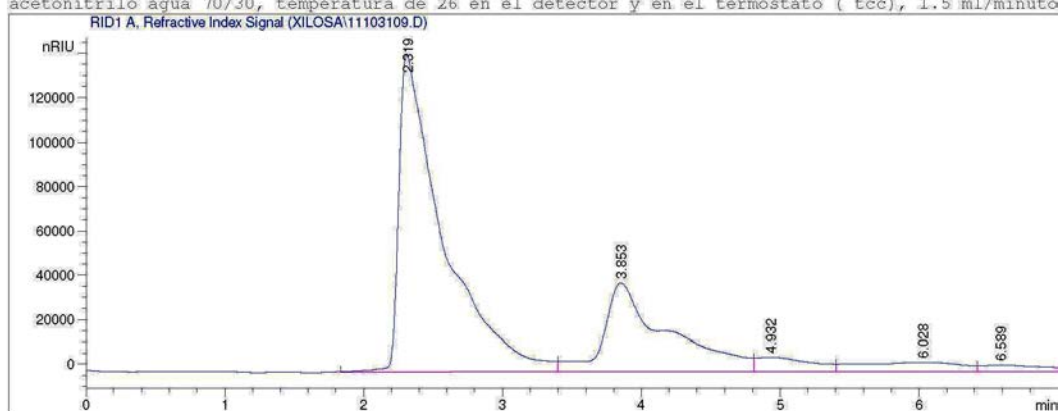
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/1%. Muestra B1

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103109.D

Sample Name: Muestra 1

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:48:45 AM
Sample Name    : Muestra 1                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.853	VV	1.27082e6	1.26510e-5	16.07715		Xilosa
4.932	VV	1.80329e5	7.17670e-6	1.29417		Xilitol

Totals : 17.37132

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

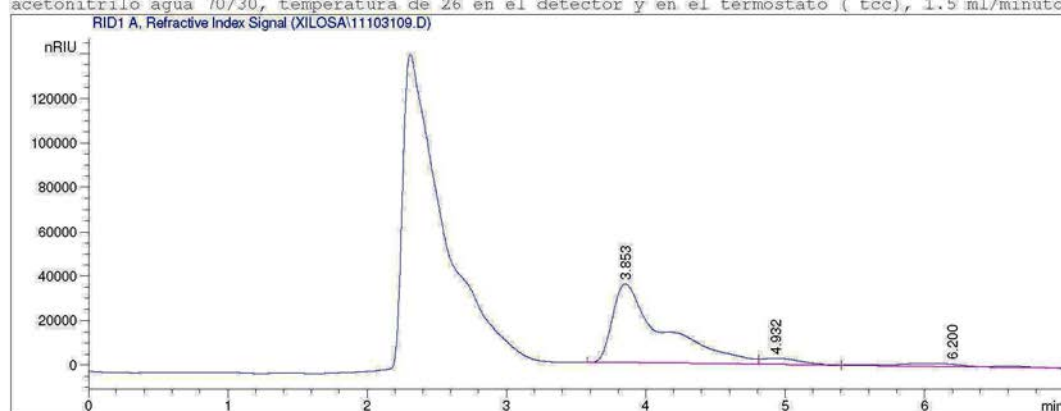
Concentración otras azúcares, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/1%. Muestra B1

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103109.D

Sample Name: Muestra 1

```

=====
Injection Date   : 10/31/2011 11:48:45 AM
Sample Name     : Muestra 1                      Location : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed    : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed    : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
Sample Amount    : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481		-	-	-		Fructosa
4.932	VV	5.51695e4	6.13546e-7	3.38491e-2		Glucosa
6.200	VBA+	6.17777e4	9.15085e-7	5.65318e-2		Sacarosa

Totals : 9.03809e-2

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

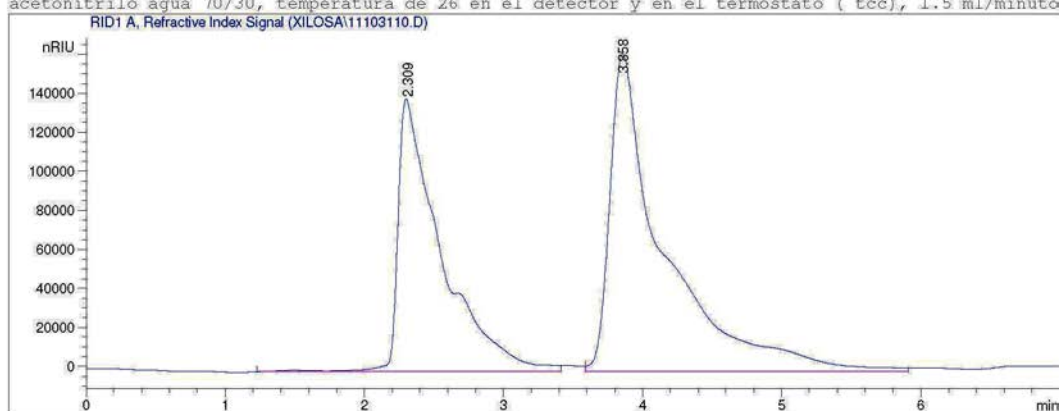
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/2%. Muestra B2

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103110.D

Sample Name: Muestra 2

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 11:56:13 AM
Sample Name    : Muestra 2                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetronitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.858	BB	4.39743e6	1.26510e-5	55.63204		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 55.63204

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/3%. Muestra B3

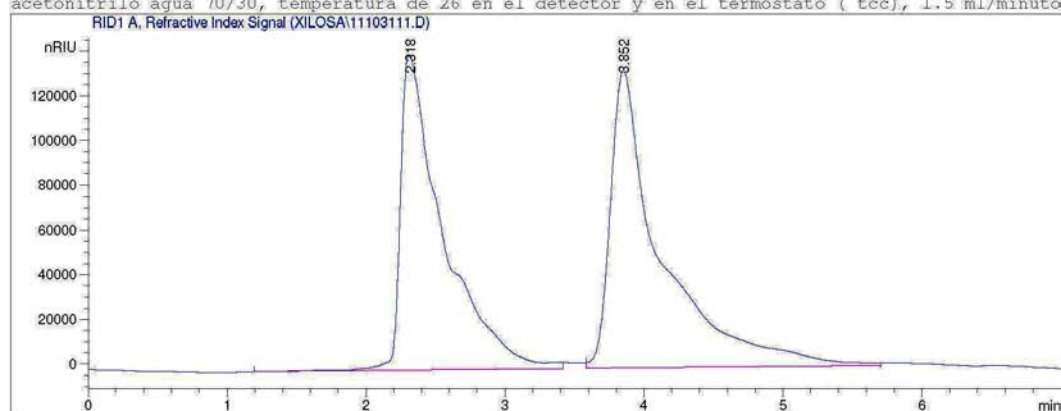
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103111.D

Sample Name: Muestra 3

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:04:37 PM
Sample Name : Muestra 3
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
=====

```



External Standard Report

```

=====
Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.852	BB	3.40663e6	1.26510e-5	43.09729		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 43.09729

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/1%. Muestra B4

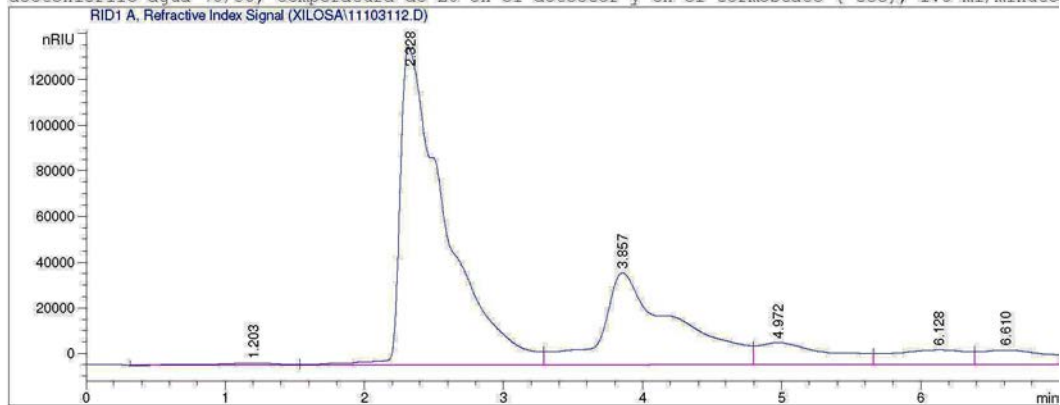
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103112.D

Sample Name: Muestra 4

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:12:38 PM
Sample Name : Muestra 4 Location : Vial 1
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto

```



External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.857	VV	1.48318e6	1.26510e-5	18.76380		Xilosa
4.972	VV	3.61030e5	7.17670e-6	2.59100		Xilitol

Totals : 21.35480

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

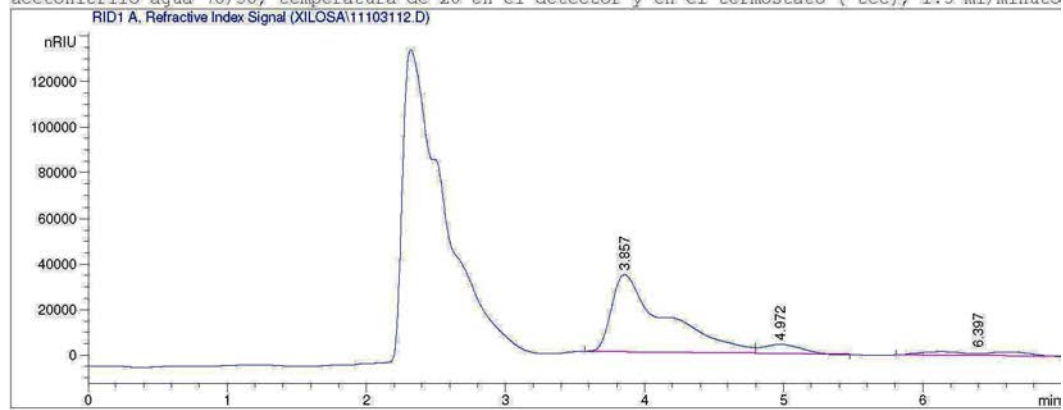
Concentración otras azúcares, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/1%. Muestra B4

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103112.D

Sample Name: Muestra 4

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:12:38 PM
Sample Name : Muestra 4 Location : Vial 1
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5um, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

=====
Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.972	VP	8.04610e4	6.13546e-7	4.93666e-2	-	Glucosa
6.397	VBA+	8.00522e4	9.15085e-7	7.32546e-2	-	Sacarosa

Totals : 1.22621e-1

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

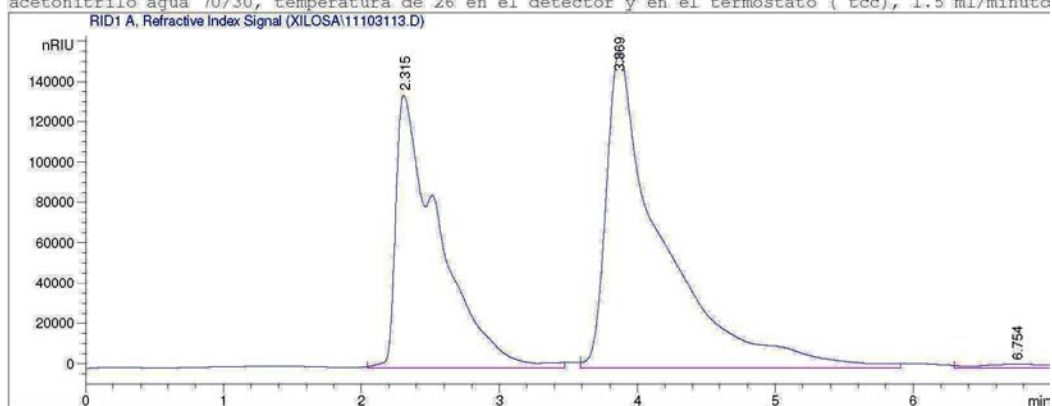
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/2%. Muestra B5

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103113.D

Sample Name: Muestra 5

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:21:26 PM
Sample Name    : Muestra 5                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount  : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.869	BB	4.43885e6	1.26510e-5	56.15604		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 56.15604

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

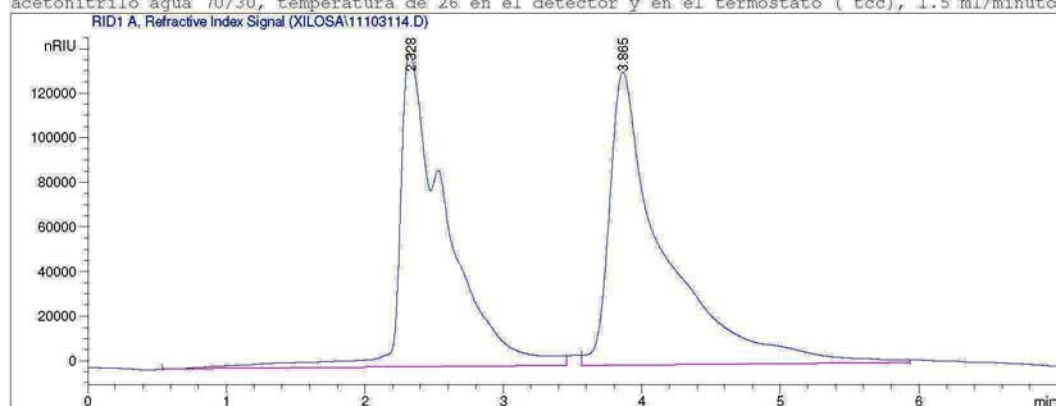
Concentración xilosa y xilitol, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/3%. Muestra B6

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103114.D

Sample Name: Muestra 6

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:29:25 PM
Sample Name : Muestra 6
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5µm, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.865	BB	3.60400e6	1.26510e-5	45.59427		Xilosa
4.507						Xilitol

Totals : 45.59427

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

Concentración otras azúcares, 30h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/3%. Muestra B6

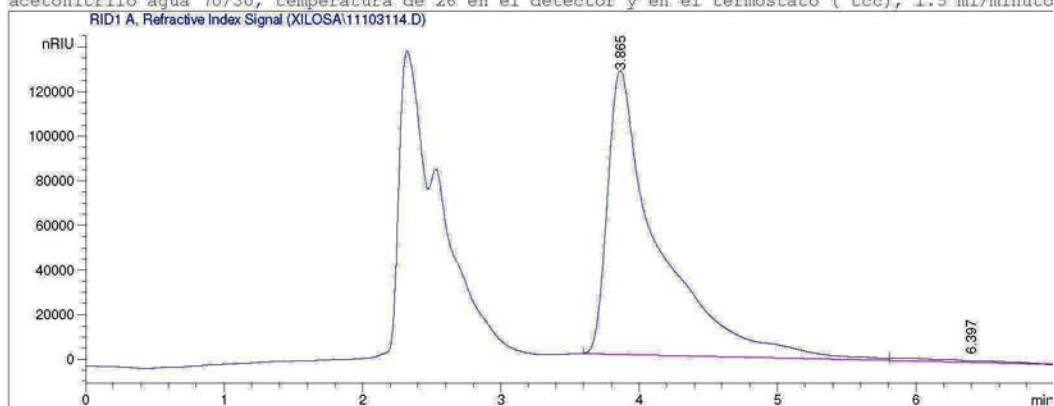
Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103114.D

Sample Name: Muestra 6

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:29:25 PM
Sample Name    : Muestra 6                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2111027.M
Last changed   : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto

```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.837	-	-	-	-	-	Glucosa
6.397	VEA+	6.61124e4	9.15085e-7	6.04985e-2	-	Sacarosa

Totals : 6.04985e-2

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

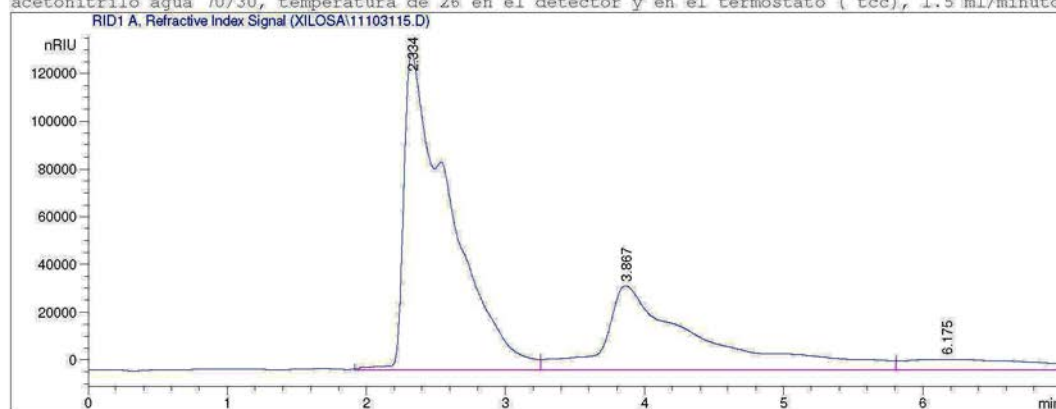
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/1%. Muestra B7

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103115.D

Sample Name: Muestra 7

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:37:40 PM
Sample Name : Muestra 7
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase móvil
acetónitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.867	VB	1.66762e6	1.26510e-5	21.09707		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 21.09707

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

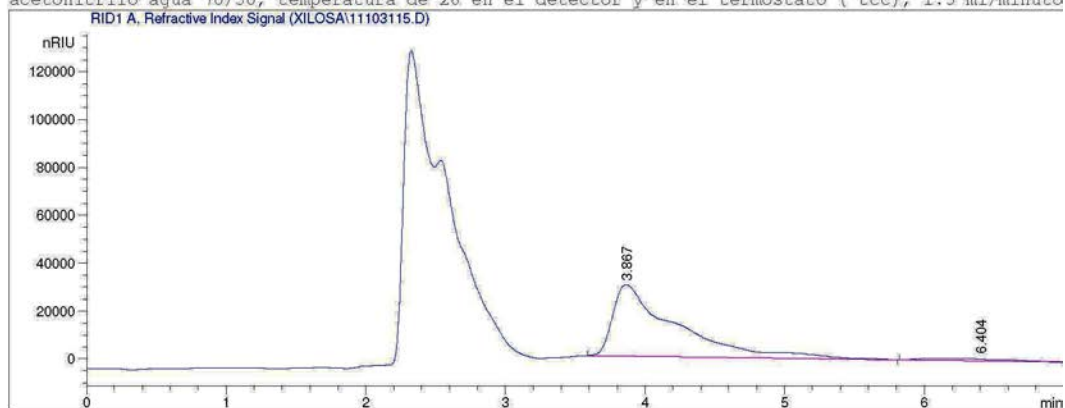
Concentración otras azúcares, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/1%. Muestra B7

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103115.D

Sample Name: Muestra 7

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:37:40 PM
Sample Name    : Muestra 7                      Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed   : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetónitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.837	-	-	-	-	-	Glucosa
6.404	VBA+	4.70698e4	9.15085e-7	4.30728e-2	-	Sacarosa

Totals : 4.30728e-2

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



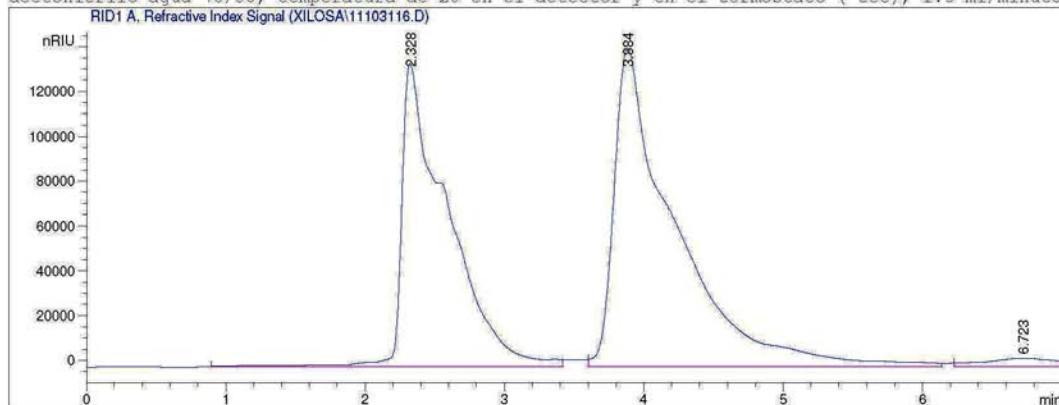
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/2%. Muestra B8

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103116.D

Sample Name: Muestra 8

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:45:36 PM
Sample Name : Muestra 8
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinacion de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoniirilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
  
```



External Standard Report

```

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.884	BB	4.34021e6	1.26510e-5	54.90804		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 54.90804

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

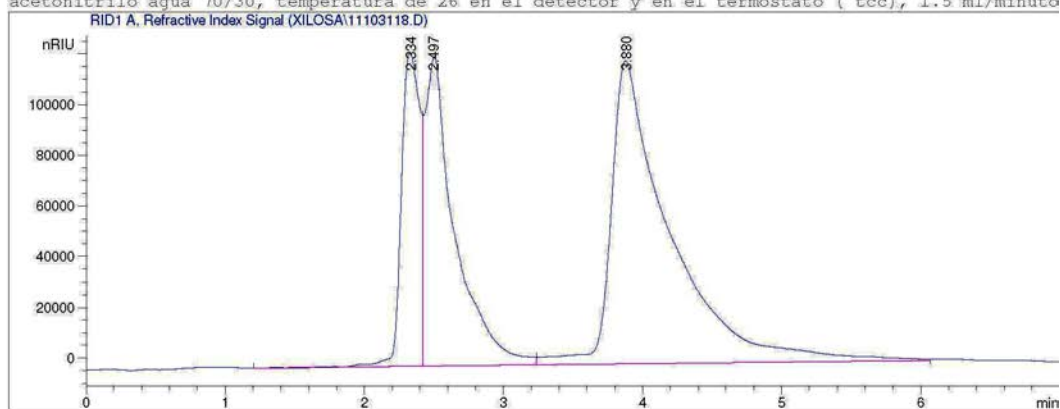
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/3%. Muestra B9

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103118.D

Sample Name: Muestra 9

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 1:02:10 PM
Sample Name    : Muestra 9                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azucares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase movil
acetoneitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.880	VB	3.54030e6	1.26510e-5	44.78843		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 44.78843

Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

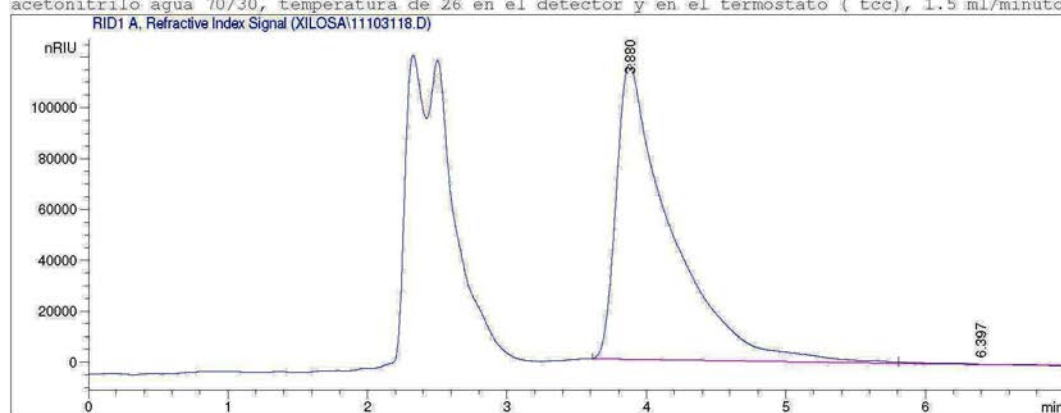
Concentración otras azúcares, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 110°C/3%. Muestra B9

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103118.D

Sample Name: Muestra 9

```

=====
Injection Date   : 10/31/2011 1:02:10 PM
Sample Name     : Muestra 9                      Location : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed    : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed    : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5um, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier      : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.837	-	-	-	-	-	Glucosa
6.397	VBA+	2.17282e4	9.15085e-7	1.98832e-2	-	Sacarosa

Totals : 1.98832e-2

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

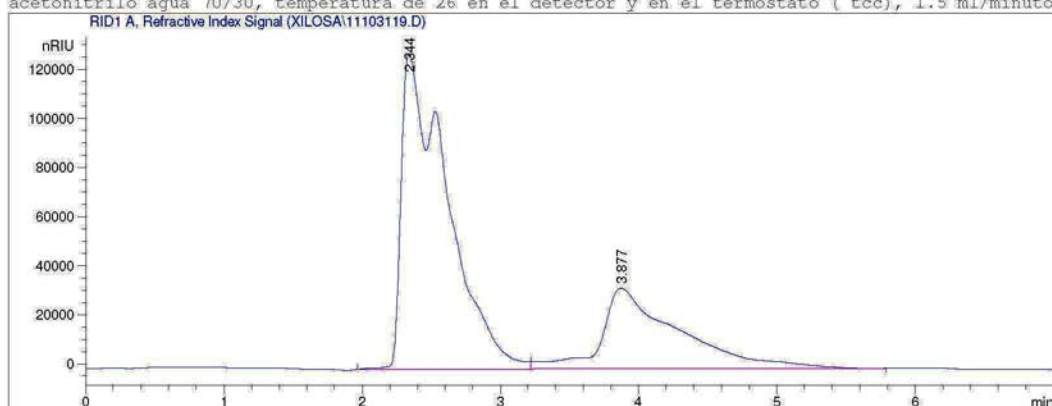
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/1%. Muestra B10

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103119.D

Sample Name: Muestra 10

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 1:10:38 PM
Sample Name    : Muestra 10                Location  : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument: Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\A2110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\A2111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetoniitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp Name
3.877	VB	1.29064e6	1.26510e-5	16.32791	Xilosa
4.507		-	-	-	Xilitol

Totals : 16.32791

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

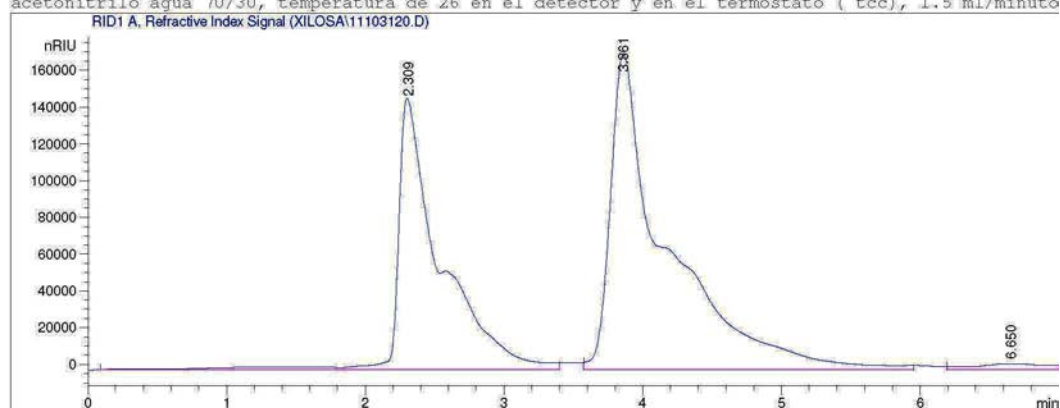
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/2%. Muestra B11

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103120.D

Sample Name: Muestra 11

```

=====
Injection Date   : 10/31/2011 1:18:33 PM
Sample Name     : Muestra 11                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5µm, fase móvil
acetónitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
  
```



External Standard Report

```

Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.861	BB	4.89696e6	1.26510e-5	61.95154		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 61.95154

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

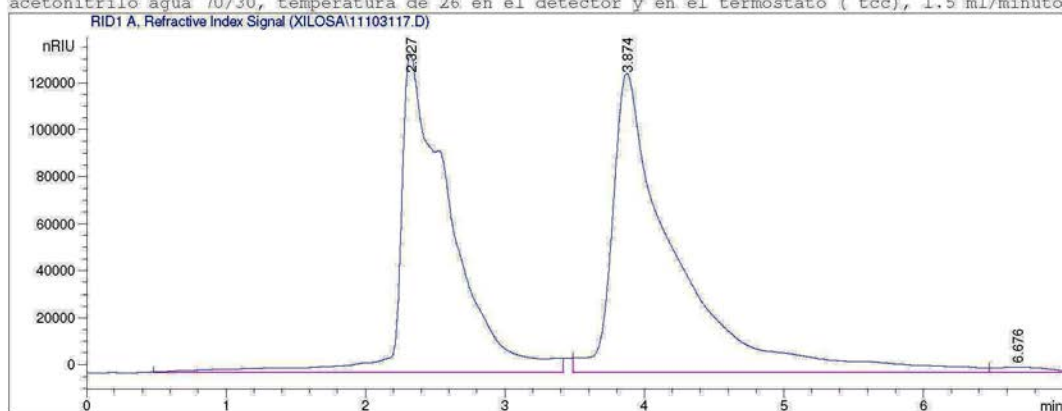
Concentración xilosa y xilitol, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/3%. Muestra B12

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103117.D

Sample Name: Muestra 12

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:53:40 PM
Sample Name    : Muestra 12                Location : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed   : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111031.M
Last changed   : 10/31/2011 11:21:23 AM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm , 5um, fase móvil
acetónitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Monday, October 31, 2011 11:11:15 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 20.00000 [g/L] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [g/L]	Grp	Name
3.874	BV	3.97860e6	1.26510e-5	50.33332		Xilosa
4.507		-	-	-		Xilitol

Totals : 50.33332

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*

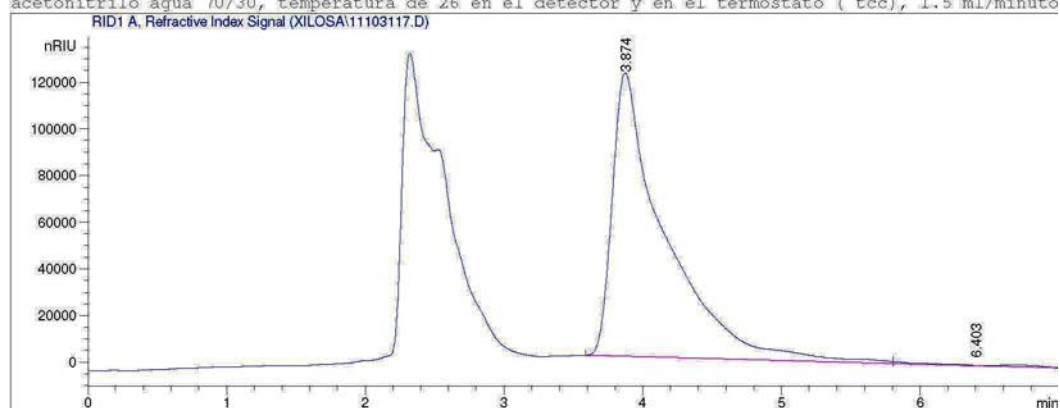
Concentración otras azúcares, 48h de fermentación de hidrolizados de olote de maíz, tratamiento 120°C/3%. Muestra B12

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\XILOSA\11103117.D

Sample Name: Muestra 12

```

=====
Injection Date : 10/31/2011 12:53:40 PM
Sample Name : Muestra 12 Location : Vial 1
Acq. Operator : AdeM
Acq. Instrument : Instrument 2
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ110628.M
Last changed : 10/31/2011 10:39:41 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZ111027.M
Last changed : 10/27/2011 1:56:59 PM by AdeM
Metodo para determinación de azúcares, columnas NH2 ZORBAX 4.6 x250 mm, 5um, fase móvil
acetonitrilo agua 70/30, temperatura de 26 en el detector y en el termostato ( tcc), 1.5 ml/minuto
    
```



External Standard Report

```

=====
Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, October 27, 2011 12:37:18 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 20.00000 [%] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
4.481	-	-	-	-	-	Fructosa
4.837	-	-	-	-	-	Glucosa
6.403	VBA+	3.82318e4	9.15085e-7	3.49854e-2	-	Sacarosa

Totals : 3.49854e-2

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*