

## FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE JUGO DE FIQUE CON *Candida lusitaniae*

Angela M. Gutierrez Contreras\*, Mabel M. Torres Taborda\*<sup>†</sup>, Margarita E. Ramirez Carmona\*, Yesid Velez Salazar\*, Monica Cardona Aristizabal\*, Oscar H. Vasco Echeverri\*

\*Universidad Pontificia Bolivariana, Cir. 1 #70-01, of. 11-259, Medellín, Colombia.

Recibido 10 Agosto 2011; aceptado 20 Octubre 2011  
Disponible en línea: 16 Diciembre de 2011

Resumen: Se evaluó la capacidad para la producción de etanol de *Candida lusitaniae* en un subproducto agroindustrial como el jugo de fique. Se realizaron fermentaciones en cuatro medios de cultivo con jugo de fique como base, para comparar el comportamiento de dicha levadura con el de *Saccharomyces cerevisiae*. La mayor cantidad de etanol para *Candida lusitaniae* se obtuvo en el jugo de fique filtrado con sales y fue de 33.73 g/L. Para el crecimiento microbiano, el periodo de inactividad metabólica fue 76% mayor para *S.cerevisiae*, mientras que la tasa de producción de CO<sub>2</sub> y la máxima producción del mismo fueron mayores para *C.lusitaniae* en un 66% y 68% respectivamente. Copyright © 2011 UPB

*Palabras clave:* Fique, Levadura, Fermentación, Etanol

Abstract: In this paper the ability of *Candida lusitaniae* for ethanol production from an agroindustrial sub-product as the Fique's juice was evaluated. Fermentations were carried out in four culture media with Fique's juice as a basis, in order to compare the behavior of the yeast already mentioned and *Saccharomyces cerevisiae*. The major production of ethanol for *Candida lusitaniae* was found in the Fique's juice filtered with salts, reaching a production of 33.73 g / L. For microbial growth, the period of metabolic inactivity was found 76% higher for *S. cerevisiae*, while the rate of CO<sub>2</sub> production and its maximum production in *C.lusitaniae* fermentations were higher by 66% and 68%, respectively. Copyright © 2011 UPB

*Keywords:* Fique, Yeast, Fermentation, Ethanol

### 1. INTRODUCCIÓN

El fique es una planta que se cultiva en regiones donde prevalecen las condiciones de trópico durante la mayor parte del año y su uso va desde la actividad artesanal, hasta los empaques, telas y sogas, entre otros. En los departamentos de Antioquia, Caldas, Risaralda y Nariño, el área dedicada al cultivo de fique en el año 2006 fue de 16.000 Has, de los cuales, un 96% de la

producción representa residuos y subproductos luego del desfibrado ([Ministerio de Ambiente, Vivienda y desarrollo territorial y Ministerio de agricultura y desarrollo rural, 2006](#); [Acevedo, F. y Serna, E, 2004](#)). El jugo de fique constituye aproximadamente el 70% de estos residuos y está constituido principalmente por agua, celulosa, materia orgánica y minerales; este residuo generalmente es vertido en fuentes hídricas lo que

---

<sup>†</sup> Autor al que se le dirige la correspondencia:  
Tel. (+574) 4488388 ext 14057  
E-mail: mabel.torres@upb.edu.co (Mabel M. Torres).

ocasiona incrementos en los valores de DBO<sub>5</sub> y DQO y causa toxicidad en peces por la presencia de compuestos esteroidales como las saponinas ([Giraldo Ramirez, 2010](#); [Taborda Torres, 2010](#)).

El jugo de fique es un subproducto del que se ha aislado una levadura identificada como *Candida lusitaniae*, con potencial para ser utilizada en fermentaciones alcohólicas, presentándose como una alternativa en la búsqueda para mejorar la producción de etanol ([Giraldo Ramirez, 2010](#)).

En la actualidad, el etanol se obtiene por fermentación de diferentes sustratos con varias cepas de levaduras y en algunos casos bacterias ([Glazer y Nikaido, 2007](#)). Las levaduras más comunes son del género *Saccharomyces* y presentan rendimientos entre 0.46 y 0.89 g de etanol/ g de sustrato ([Peña y Arango, 2009](#); [Echegaray et al., 2000](#)). Debido a la demanda creciente de etanol es necesario encontrar microorganismos alternativos para su producción, que presenten una mayor eficiencia bajo las mismas condiciones en las que se trabaja actualmente o bajo condiciones que representen un ahorro en los costos de producción.

El etanol que reemplaza el 8% de las gasolinas en Colombia, es obtenido de la caña de azúcar y la yuca, siendo la caña la más común, con una producción en el año 2010 de cerca a 274.000 L de alcohol carburante, correspondiente al 98 % de la producción total, con un 2% restante correspondiente al alcohol para uso industrial ([ASOCAÑA, 2010](#)). En esta industria se utilizan cepas del género *Saccharomyces* para la fermentación de los azúcares.

En este proyecto se evaluó la capacidad de *Candida lusitaniae* para la producción de etanol en el jugo de fique, comparada con la producción de etanol utilizando *Saccharomyces cerevisiae* en el mismo medio. Lo anterior busca evaluar una materia prima alternativa para producir etanol sin la utilización de sustratos que compiten con el sector alimenticio.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Microorganismos

Los microorganismos empleados, *Candida lusitaniae* y *Saccharomyces cerevisiae*, fueron suministrados por el Laboratorio de

Microbiología del Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología (CIBIOT) perteneciente a la Universidad Pontificia Bolivariana. Ambas cepas fueron subcultivadas cada 8 días en cajas de Petri con agar Sabouroud y conservadas a temperatura ambiente.

### 2.2. Sustrato

Como sustrato de fermentación se empleó jugo de fique procedente de la vereda “Pantanillo” ubicada en el municipio de Barbosa a 2100 msnm. El jugo fue extraído de plantas de fique uña de águila (*Furcraea microphylla*).

### 2.3. Medio de cultivo

Se evaluó la producción de etanol en cuatro medios de cultivo con jugo de fique (M1, M2, M3 y M4). Dos de estos (M2 y M4) fueron suplementados con las sales propuestas por Rivera et al (2006) ([Tabla 1](#)). M1 y M2 fueron filtrados antes de esterilizar y M3 y M4 fueron filtrados después de la esterilización.

**Tabla 1.** Sales complementarias del jugo de fique

Compuesto	g/L
$K_2HPO_4$	5
$NH_4Cl$	1.5
$MgSO_4 \cdot H_2O$	0.65
KCl	1.15

### 2.4. Fermentaciones alcohólicas

Se realizaron fermentaciones con cada uno de los medios de cultivo anteriores en erlenmeyers de 250 mL, cada uno con 150 mL de medio, a 25 °C y 150 rpm en un agitador orbital. Las fermentaciones se realizaron por triplicado y simultáneamente para los dos microorganismos, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida lusitaniae*. Como inóculo se empleó un cultivo de los microorganismos en caldo nutritivo incubado durante 12 horas a una temperatura de 30°C. Para los inóculos la concentración de biomasa fue ajustada igualando las densidades ópticas mediante un Espectrofotómetro UV-VIS a 640 nm (Shimadzu).

Las fermentaciones se evaluaron durante 5 días, tomando una muestra diaria, para establecer la producción de etanol y el consumo de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa).

### 2.5. Medición de azúcares y etanol

La determinación del contenido de azúcares y etanol se realizó por HPLC (Shimadzu) con una columna Waters IC-Pack ion exclusión y un detector de índice de refracción Shimadzu, modelo RID-10A. Se empleó como fase móvil ácido sulfúrico 0.005N con un flujo de bombeo de 0.6 ml/min.

### 2.6. Evaluación del crecimiento por respirometría

Se evaluó el crecimiento de *S.cerevisiae* y *C.lusitaniae* en el medio M2 mediante respirometría en un Oxytop durante 4 días, determinando la producción de CO<sub>2</sub>.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Fermentación alcohólica

Se realizaron fermentaciones alcohólicas con *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida lusitaniae* empleando jugo de fique como medio de cultivo base. Para estos ensayos se cuantificó el consumo de los azúcares glucosa, fructosa y sacarosa durante las fermentaciones. Se encontraron consumos de glucosa para ambos microorganismos superiores al 80 % entre el primero y segundo día de fermentación. La sacarosa presentó porcentajes de consumo entre el 80% y el 95% para *S.cerevisiae*, mientras que para *C.lusitaniae* los porcentajes de consumo fueron variables presentándose valores cercanos al 5% para el medio M2 y alrededor de 50% para los medios M3 y M4. El consumo de fructosa para *S.cerevisiae* se mantuvo entre el 60 y 70% y para *C.lusitaniae* el consumo de este azúcar presentó variaciones entre el 40 y el 70%. En las [Figuras 1](#) se presentan los comportamientos típicos de los azúcares durante la fermentación tanto para *C.lusitaniae* en el medio M2 como *S.cerevisiae* en el medio M1.

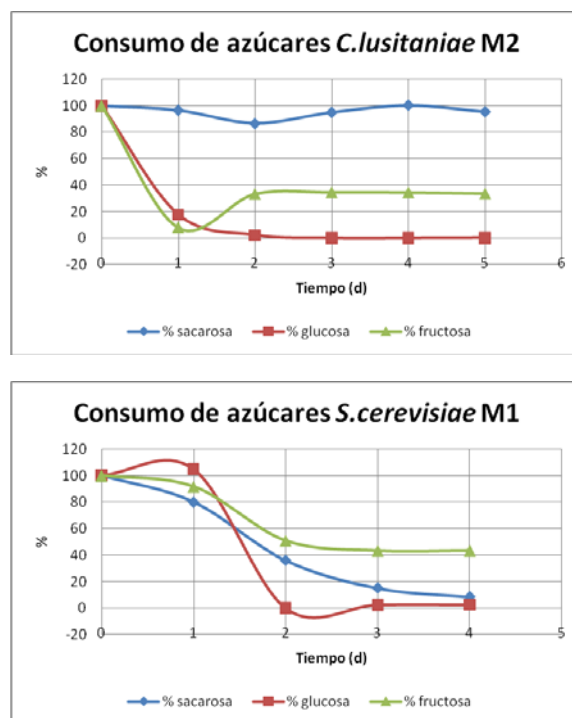


Fig. 1. Porcentajes de consumo de azúcares. Arriba: Fermentación con *C.lusitaniae* en Medio M2. Abajo: Fermentación con *S.cerevisiae* en Medio M1. Los valores se muestran normalizados para efectos de comparación y corresponden a la media de tres réplicas. Se omiten las barras de error.

La concentración de etanol obtenida en las fermentaciones realizadas en jugo de fique se muestra en la [Figura 2](#).

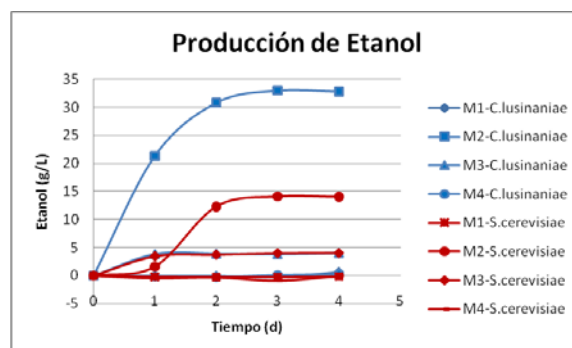


Fig. 2. Producción de etanol en jugo de fique con *C.lusitaniae* y *S.cerevisiae*.

Se realizó un diseño de experimentos factorial 2<sup>3</sup> para evaluar el efecto del tipo de levadura, el momento de la filtración del jugo de fique y la suplementación con sales. El análisis de la varianza para el etanol se presenta en la [Tabla 2](#).

Tabla 2. Análisis de la varianza para la producción de etanol.

Fuente	SC	GL	CM	F	P
A:Tipo de levadura	239,469	1	239,469	12,41	0,0031
B:Adición de sales	381,75	1	381,75	19,79	0,0005
C:Filtración	389,553	1	389,553	20,19	0,0004
AB	207,515	1	207,515	10,76	0,0051
AC	223,64	1	223,64	11,59	0,0039
BC	840,278	1	840,278	43,55	0
Total error	289,388	15	19,2925		

Se encontró que las variables evaluadas tienen efecto significativo sobre la producción de etanol en el jugo de fique. Para establecer el tipo de efecto de cada variable se calcularon los efectos estimados, tal como se muestra en la [Tabla 3](#).

Tabla 3. Efectos estimados para la producción de etanol.

Efectos estimados	
Promedio	= 6,08402 +/- 0,89658
A:Tipo de levadura	= -6,31756 +/- 1,79316
B:Adición de sales	= 7,97653 +/- 1,79316
C:Filtración	= 8,05764 +/- 1,79316
AB	= -5,88098 +/- 1,79316
AC	= -6,10519 +/- 1,79316
BC	= 11,8341 +/- 1,79316

Se encontró que la utilización de *C.lusitaniae*, la filtración del jugo de fique antes de la esterilización y la adición de sales tienen un efecto positivo en la producción de etanol.

El medio en el que se obtuvo una mayor concentración de etanol fue M2. En este ensayo, se obtuvo una concentración de 32.05 +/-1.07 y 14 +/-0.87 g/L de etanol, para las fermentaciones realizadas con *C.lusitaniae* y *S.cerevisiae*, respectivamente.

Para el medio M1 se observó una baja producción de etanol por parte de ambas levaduras. *C.lusitaniae* produjo 0.62 +/-0.64 g/L y *S.cerevisiae* 0.18 +/-0.20 g/L de etanol. El consumo de azúcares presentado durante las fermentaciones (71.53% y 73.67% para *C.lusitaniae* y *S.cerevisiae*), no se refleja en la producción de etanol, lo anterior puede deberse a que durante el proceso de fermentación para la producción de etanol, existen reacciones secundarias que dan origen a productos no

deseados como el ácido acético, sulfhídrico o acetato de etilo ([Mas, et al., 2002](#)).

En cuanto al medio M3, para el caso de *C.lusitaniae* luego de 24 horas se obtiene el 96.24% de la producción total de etanol. En la fermentación con *S.cerevisiae* luego de 24 horas se obtiene el 89.88% del etanol total. Las concentraciones finales de etanol son de 4.03 +/-0.34 g/L y 3.94 +/-0.69g/L para *C.lusitaniae* y *S.cerevisiae*, respectivamente.

La producción de etanol en el medio M4, fue la menor obteniéndose 0.29 +/-0.09 g/L de etanol con *C.lusitaniae*, en este medio de cultivo *S.cerevisiae* no produjo etanol.

### 3.2. Crecimiento microbiano

Se realizó un seguimiento indirecto del crecimiento microbiano utilizando la producción de CO<sub>2</sub> como indicativo del aumento en la actividad metabólica de la biomasa. La [Figura 3](#) muestra los resultados para la producción de CO<sub>2</sub> durante las fermentaciones con *C.lusitaniae* y *S.cerevisiae*.

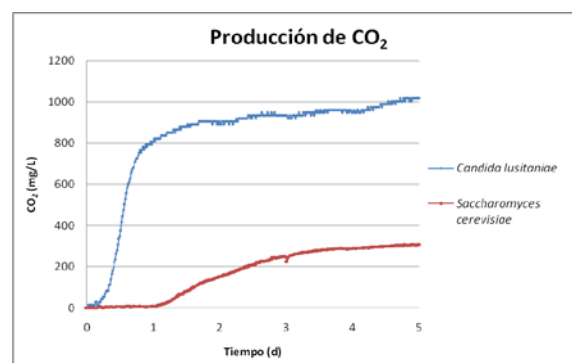


Fig. 3. Actividad microbiana en fermentaciones realizadas en medio M2.

Se encontró que *S.cerevisiae* presenta una fase inicial durante aproximadamente un día donde la actividad metabólica es reducida, esta fase tiene una duración de aproximadamente 6 horas para *C.lusitaniae*. Se empleó el modelo sigmoideal propuesto por Gompertz y parametrizado por [Zwietering et al \(1990\)](#) para el seguimiento de la cinética de producción de CO<sub>2</sub>.

$$y = A \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{\mu_m \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

Donde y corresponde a la concentración de CO<sub>2</sub> (mg/L), A es la máxima producción de CO<sub>2</sub>,  $\mu_m$  es la máxima tasa específica de producción de CO<sub>2</sub> (1/h),  $\lambda$  corresponde al período de tiempo en horas en el que se presenta la actividad metabólica más baja y e corresponde al número de Euler. En la [Tabla 4](#) se presentan los valores para cada microorganismo y el ajuste del modelo.

Tabla 4. Parámetros para el modelo de Gompertz

Constante	<i>C.lusitaniae</i>	<i>S.cerevisiae</i>
A (mg/L)	941.9756	300.4845
$\mu_m$ (1/h)	0.17406	0.0587826
$\lambda$ (h)	5.8583	24.8219
R <sup>2</sup> ajustado	0.9821	0.9972
Grados de libertad para el error	358	213

El periodo de inactividad metabólica fue mayor en un 76% para *S.cerevisiae* en tanto que la tasa específica de producción de CO<sub>2</sub> fue mayor un 66% para *C.lusitaniae* al igual que la máxima producción dióxido de carbono en un 68%.

### 3.3. Discusión

Luego de analizar los resultados respecto al comportamiento de ambas levaduras durante las fermentaciones, se observaron diferencias en la asimilación de los azúcares cuantificados para ambos microorganismos.

En ambos microorganismos se encontró un consumo preferente de glucosa sobre los demás azúcares cuantificados, esto se evidencia en los porcentajes de consumo superiores al 80% para todos los casos. Esto concuerda con el hecho que este sustrato es el metabolito iniciador de la glicólisis, ruta que sirve de insumo para la generación de etanol en condiciones de preferencia anaerobias.

El consumo de fructosa tiene un comportamiento diferenciador en ambas levaduras. *S.cerevisiae* presentó una menor tasa de consumo de fructosa en comparación con *C.lusitaniae*, estos resultados concuerdan con los estudios realizados por [Verstrepen et al \(2004\)](#) quienes afirman que la presencia de glucosa y sacarosa en los medios de cultivo de las levaduras causan una represión en la gluconeogénesis, el ciclo del glioxilato, la respiración y el consumo de otros carbohidratos. La glucosa disminuye el ingreso de la fructosa a

la célula ya que ambos azúcares son importados por los mismos transportadores, y éstos presentan mayor afinidad por la glucosa que por la fructosa. Adicionalmente, se ha reportado que la glucosa también puede regular la expresión de otros sistemas de transporte específicos para la fructosa ([Berthels et al,2004](#)).

*C.lusitanea* presentó una mayor afinidad por la fructosa que por la sacarosa, esto podría explicarse a partir de los mecanismos que esta levadura emplea para el transporte de hexosas y disacáridos. [Freer y Greene \(1990\)](#) estudiaron el transporte y la asimilación de celobiosa por *Candida wickerhamii* y *Clavispora lusitaniae* (homólogo de *Candida lusitaneae*). En dicho estudio se encontró que aunque ambas levaduras metabolizaron la celobiosa eficientemente, emplean diferentes mecanismos para hacerlo. *C. wickerhamii* produce la enzima  $\beta$ -glucosidasa exteriormente, con lo que hidroliza la celobiosa en glucosa, para posteriormente transportar la glucosa al interior de la célula y luego metabolizarla. *C. lusitaniae* transporta la celobiosa a través de la membrana citoplasmática, donde la enzima citoplasmática  $\beta$ -glucosidasa hidroliza el disacárido en dos moléculas de glucosa que posteriormente son metabolizadas. Esta necesidad del transporte de los disacáridos al interior de la célula puede verse afectada por la presencia de glucosa en el medio, ya que este azúcar puede ejercer un control sobre los transportadores de membrana, tal como se explicó anteriormente.

Otros estudios como el presentado por [Weusthuis et al \(1994\)](#), soportan la teoría de este mecanismo para la asimilación de algunos disacaridos. En un estudio reportado por [Kaliterna et al \(1995\)](#), se encontró que la levadura *Debaryomyces yamadae* transporta la sacarosa al interior de la célula, donde se cataliza la hidrólisis del disacárido con  $\beta$ -glucosidasa para posteriormente metabolizarla. El transporte del disacárido indica la presencia de un sistema symporter sacarosa-protón debido a que la sacarosa no puede atravesar la membrana citoplasmática por difusión pasiva. Dicho sistema es similar al que se encuentra presente en *C.lusitaniae* para realizar el transporte de la celobiosa al interior de la célula ([Freer y Greene, 1990](#)). De acuerdo a los resultados obtenidos para este trabajo podría sugerirse la presencia de un symporter para la sacarosa en *C.lusitaniae*, dado el comportamiento de su consumo en todos los ensayos con jugo de fique, adicionalmente en

jugo de caña donde no se observa un incremento en las concentraciones de glucosa y fructosa a causa de la hidrólisis de la sacarosa como si se observa para *S.cerevisiae* (Datos no mostrados).

Debido a esta hidrólisis intracelular de la sacarosa la *C.lusitaniae* podría presentar un efecto Kluver para la sacarosa ([Kaliterna et al 1995](#)). Este efecto consiste en la utilización por parte de las levaduras de un azúcar para la respiración celular sin que esto implique una fermentación del mismo, aun en condiciones de anaerobiosis ([Hiroshi, 2003](#); [Kaliterna et al, 1995](#)). La *S.cerevisiae* también presenta dicho efecto para la trehalosa: este disacárido es asimilado y respirado; sin embargo, a diferencia de la glucosa o maltosa, no puede ser fermentado ([Malluta et al., 2000](#)).

En algunos ensayos con *S.cerevisiae*, la concentración de glucosa y fructosa aumenta durante el primero y/o segundo día, lo cual corresponde con la hidrólisis extracelular de la sacarosa que se presenta durante los dos primeros días de fermentación. No obstante se debe aclarar que estudios como el presentado por [Weusthuis et al \(1994\)](#), señalan que en *S.cerevisiae*, la hidrólisis de la sacarosa puede ocurrir ya sea intracelular o extracelularmente. Sin embargo, en general la hidrólisis extracelular es el principal mecanismo por el cual dicha levadura utiliza la sacarosa y la presencia de un sistema simporter sacarosa-protón, puede ser una propiedad dependiente de la cepa.

El consumo de estos azúcares concuerda con lo reportado por [Hours et al \(2005\)](#) y también por [Lloret et al \(2001\)](#), donde reportan que *C.lusitaniae* tiene la capacidad de fermentar glucosa y fructosa. En estos ensayos también se reporta que esta levadura no fermenta la sacarosa.

En el ensayo con el medio M2 y *C.lusitaniae* se presentó un incremento en el contenido de fructosa después del primer día de fermentación. Esto puede deberse a una hidrólisis de polímeros de fructosa como la inulina que están presentes en el jugo de fique ([Tharanathan et al, 1987](#); [De Baets y Vandamme, 2004](#)). Esta hidrólisis es mediada por la enzima inulinasa que ha sido encontrada en diferentes especies de *Candida* ([Arora, 2004](#)).

La producción de etanol fue superior para el medio M2 con ambos microorganismos. En este medio de cultivo el jugo de fique fue filtrado

previo a la esterilización y suplementado con las sales propuestas por Rivera et al (2006). La filtración del jugo de fique se realizó para eliminar restos de fibras vegetales y compuestos orgánicos como las saponinas que pueden sedimentarse en el jugo de fique. Esta sedimentación incrementa con el proceso de esterilización pues el incremento de la temperatura favorece la ruptura de saponinas para formar saponinas que son insolubles en agua y azúcares.

El jugo de fique fue suplementado con algunas sales que pueden actuar como fuente de cofactores para diversas reacciones enzimáticas y como complemento a la fuente de nitrógeno presente en el jugo. Numerosos estudios han demostrado que la adición de compuestos como amonio ([Jones et al, 1994](#)), calcio y magnesio ([Dombek y Ingram, 1986](#)) tienen efectos protectantes ya sea en el crecimiento y en la fermentación o en la viabilidad celular, lo cual puede estimular la tasa de fermentación y la producción de etanol ([Laopaiboon et al, 2009](#)).

Para evaluar el crecimiento de las levaduras se empleó el medio de cultivo M2 que fue donde se encontró la mayor producción de etanol. El crecimiento fue evaluado a partir de la producción de CO<sub>2</sub> que corresponde a un metabolito directamente asociado al crecimiento celular. *S.cerevisiae* presentó una producción de CO<sub>2</sub> inferior en un 68% respecto a la producción de *C.lusitaniae* esto evidencia una mayor producción de biomasa por parte de este microorganismo debido a que es un microorganismo nativo aislado del jugo de fique, de igual forma la tasa de producción de CO<sub>2</sub> es superior para *C.lusitaniae* que para *S.cerevisiae*. Adicionalmente se encontró que este último microorganismo presenta una fase de inactividad metabólica superior en un 76% respecto a *C.lusitaniae* esta fase prolongada evidencia la dificultad del microorganismo para obtener la maquinaria enzimática necesaria para reproducirse en este medio de cultivo. Dando como resultado final la superioridad de *C.lusitaniae* para la producción de biomasa y de etanol en jugo de fique.

#### 4. CONCLUSIONES

El medio de cultivo más adecuado para la producción de etanol, fue el jugo de fique filtrado con sales, donde *C.lusitaniae* produjo 33.81 g/L

de etanol, un 43.25% más que lo producido por *S.cerevisiae* en el mismo medio. Estos resultados muestran una alternativa para la producción de etanol utilizando otros sustratos que no compiten con la industria de alimentos y utilizando otros microorganismos con mejores tasas de producción en dichos sustratos.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Pontificia Bolivariana y a la Compañía de Empaques S.A. por su colaboración para el desarrollo de este proyecto.

#### REFERENCIAS

- Acevedo, F. y Serna, E.(2004) Optimización del proceso de extracción de material orgánico procedente del fique (*Furcraea sp.*) y observación del efecto biofungicida. *Trabajo de grado Ingeniero Químico*. Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana. Facultad de Ingeniería Química.
- Arora, D.K. (2004) Handbook of Fungal Biotechnology, Second Edition. Ed. MARCELD EKKERIN, New Delhi, India
- ASOCAÑA. (2010). *Los biocombustibles: Un derecho de los colombianos*. En línea, [<http://www.asocana.com.co/modules/documents>], consultado en: 2010-10-02
- Berthels, N.J. et al. (2004). Discrepancy in glucose and fructose utilization during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. *FEMS Yeast Res*, **4**: 683–689
- De Baets, S. y Vandamme, E.(2004) Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes. *Wiley-VCH*, Belgium:
- Dombek, K.M. y Ingram, L.O. (1986). Magnesium limitation and its role in apparent toxicity of ethanol during yeast fermentation. *Applied Environmental Microbiol*, **52**: 975–981.
- Echegaray, O., Carvalhio, J., Fernandes, A., Sato, S., Aquarone, E., y Vitolo, M. (2000). Fed-batch of *saccharomyces cerevisiae* in sugar-cane blackstrap molasses invertase activity of intact cells in ethanol fermentation. *Biomass-Bioenergy* , **19**: 39-50.
- Freer, S. N., y Greene, R. V. (1990). Transport of glucose and cellobiose by *Candida wickerhamii* and *Clavispora lusitanae*. *The Journal of Biological Chemistry* , **265**: 12864-12868.
- Giraldo Ramirez, M. I. (2010). Obtencion de bioetanol a partir de jugo de fique. *Trabajo de grado Ingeniero Químico* (Universidad Pontificia Bolivariana). Medellín..
- Glazer, A., y Nikaido, H. (2007).Etanol. En: *Microbial biotechnology: Fundamentals of applied microbiology* (Cambridge University Press), 458-484. New York.
- Hiroshi, F. (2003). The Kluver effect revisited. *FEMS yeast research* , **3**: 327-331.
- Hours, R., Ferreyra, M., Schwab, M., Gerard, L., Zapata, L., y Davies, C. (2005). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de jugos de naranja destinados a vinificación. *Ciencia, Docencia y tecnologia*, **31**: 219-239.
- Jones, A.M. et al. (1994). Ethanolic fermentation of blackstrap molasses and sugarcane juice using very high gravity technology. *Agricultural and food chemistry*, **42**: 1242–1246
- Kaliterna, J., Weusthuis, R. A., Castrillo, J. I., Van Dijken, J. P., y Pronk, J. T. (1995). Coordination of sucrose uptake and respiration in the yeast *Debaryomyces yamadae*. *Microbiology* , 1567-1574.
- Laopaiboon, L et.al. (2009). Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. *Bioresource Technology*, **100**: 4176-4182.
- Lloret Sos, C., Gutierrez Urbón, O., y Borrel Solé, N. (2001). Revisión temática: Micología. *SEIMC* En línea, [<http://www.seimc.org/control/index.asp>], consultado en 2011-01-03
- Malluta, E. F., Decker, P., y Stambuk, B. U. (2000). The Kluver effect for trehalose in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Basic Microbiol* , **40**: 199-205.
- Mas, A et al. (2002). *Tecnología del vino*. ALCION. En línea, Fermentos: Selección

- de levaduras, [http://www.alcion.es/DOWNLOAD/ArticulosPDF/tv/03/TVMA1DOC.pdf], consultado en 2010-09-20
- MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL y MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (2006). Colombia. *Guía ambiental del subsector fiquero* (2 ed). Bogotá: Dirección de desarrollo sostenible.
- Peña, C., y Arango, R. (2009). Evaluación de la producción de etanol utilizando cepas recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de melaza de caña de azúcar. *Dyna* **159**: 153-161.
- Tharanathan, R.N et al. (1987). Plant carbohydrates: An overview. *Proceedings Plant Sciences*, **97**: 104-107.
- Torres Taborda, M. M. (2010). Evaluación de la biotransformación de saponinas en el jugo de fique. *Trabajo de grado Magister en Biotecnología*. Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana
- Verstrepen, K.J. et al. (2004). Glucose and sucrose: hazardous fast-food for industrial yeast? *Trends in Biotechnology*, **22**: 531-537
- Weusthuis, R. A., Pronk, J. T., Van Den Broek, P., y Van Dijken, J. (1994). Chemostat cultivation as a tool for studies on sugar transport in yeast. *Microbiological Reviews*, **58**: 616-630.
- Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., y Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**: 1875-1881.

### **Mabel M. Torres Taborda**

Magister en Biotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana. Investigador del grupo CIBIOT de la Universidad Pontificia Bolivariana.

### **Margarita E. Ramirez C**

Doctora en Ciencias de la Universidad Federal de Rio de Janeiro. Coordinadora del Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología CIBIOT de la Universidad Pontificia Bolivariana.

### **Yesid Velez Salazar**

Magister en Biotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana. Investigador del grupo CIBIOT de la Universidad Pontificia Bolivariana.

### **Monica L. Cardona Aristizabal**

Magister en Ingeniería Ambiental de la Universidad Pontificia Bolivariana. Investigador del grupo CIBIOT de la Universidad Pontificia Bolivariana. Coordinadora del Laboratorio de Microbiología del CIBIOT.

### **Oscar H. Vasco Echeverri**

Magister en Biotecnología de la Universidad Pontificia Bolivariana. Investigador del grupo CIBIOT de la Universidad Pontificia Bolivariana.

## **SOBRE LOS AUTORES**

### **Angela M. Gutierrez Contreras**

Estudiante de Ingeniería Química de la Universidad Pontificia Bolivariana. Integrante del Semillero de Investigaciones en Biotecnología del grupo CIBIOT.