



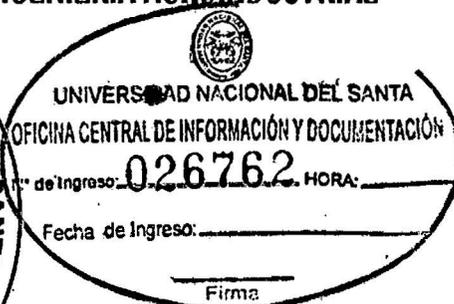
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS
FERMENTABLES DEL MANGO Y DETERMINACIÓN DE
PARÁMETROS ÓPTIMOS DE DESTILACIÓN”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

AUTORES :

- . BACH. AURORA VIGO , Edward Florencio**
- . BACH. BARRERA CHIROQUE , Eduardo Daniel**

ASESOR :

Dr. RODRIGUEZ PAUCAR, Gilbert Nilo

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ

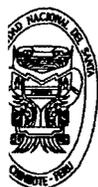
2014



HOJA DE CONFORMIDAD DE ASESOR

El presente trabajo de tesis titulado: **“OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS FERMENTABLES DE MANGO Y DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ÓPTIMOS DE DESTILACIÓN** Ha contado con el asesoramiento de quien deja constancia de su aprobación. Por tal motivo, firmo el presente trabajo en calidad de Asesor. Designado por RESOLUCION DECANATURAL N° 221 – 2013 – UNS – FI.

DR. GILBERT RODRÍGUEZ PAUCAR
ASESOR



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

*“Obtención de Bioetanol a partir de los Residuos Fermentables del
Mango y Determinación de Parámetros Óptimos de Destilación”*

TESISTAS

Bach. Aurora Vigo Edward Florencio
Bach. Barrera Chiroque Eduardo Daniel

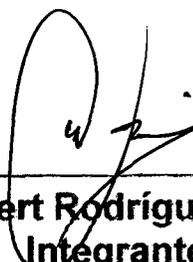
Revisado y Aprobado el día 29 de Enero de 2014 por el siguiente
Jurado Evaluador, designado mediante Resolución Decanatural N°
029 – 14 – UNS – CFI:



Ms. Saúl Eusebio Lara
Presidente



Ing. Vicente Carranza Varas
Secretario



Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Integrante

DEDICATORIA

A DIOS, quién desde niño siempre me ha ayudado a superar mis miedos y a lograr mis objetivos plasmados.

A mis padres; Américo y Marleny, quienes con su apoyo incondicional y consejos lograron que alcance esta meta.

A mi hermano Piero, quién es mi ánimo de superación y darle ejemplo de ello. A Yuliana, mi linda hermana que es mi motivación para seguir esforzándome y es la más feliz con este logro

A mis amigos Jesús, Darwin y Eudes. Quienes con su apoyo fueron como unos hermanos en los momentos maravillosos de la vida universitaria.

*A todos mis compañeros la promoción
2008 y demás compañeros de
agroindustria, Y para quienes piensen
que están vencidos y que ya no
pueden seguir; recuerden vencidos
pero no destruidos; en sus debilidades
se fortalecen.*

Edward

*A Dios, que me da la alegría y
fórtaleza para seguir, cuando nada
parece estar bien, me acompaña y
me ayuda a salir adelante.*

*A mi madre María y mi abuela
tòmaza, que con su sacrificio,
ejemplo y guía me ayudan a seguir
perseverante en mis ideales, Dios
las bendiga y las guarde siempre.*

*A mi tío Jorge Santisteban y
esposa que han velado por mí
para tener un futuro mejor.*

*A mis hermanos: Marcos, Erika y
Briguith; por brindarme siempre su
apoyo y amistad.*

*A mis amigos de la promoción
2008 por todas las experiencias
vivas en nuestra alma mater.*

Eduardo

Agradecimiento

*A todos los docentes de la E.A.P.I.A por todas las enseñanzas brindadas y de manera especial a nuestro asesor, **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar**, por su apoyo y confianza incondicional, desde un primer momento, lo que nos ha permitido culminar con éxito nuestra tesis.*

*Al nuestro Co-asesor **Ing. Williams Castillo**, al **Ing. Lenin Palacios**, a la **Ing. Soledad Quezada**, a la **Ing. Any Berenice Córdova**, al **Ing. John González**, al **Tec. Lab. Oscar Chauca** y al **Ing. Pedro Ayala**, a quienes siempre estaremos eternamente agradecidos, porque su apoyo, fue más del que hubiéramos podido imaginar. Dios los bendiga siempre.*

*A la **Srta. Silvia Huacacolqui Minaya**, encargada de la Biblioteca Especializada de Agroindustria, quien a sabiendas de nuestra condición de egresados, nos continuó brindando importante material bibliográfico, el cual ha sido fundamental para el desarrollo de nuestro trabajo. Muchísimas gracias Silvia, la tesis también es tuya.*

Gracias a todos nuestros compañeros y amigos de la promoción 2008 y demás amigos de Agroindustria: Jesús, Eudes, Darwin, Cely y Gino por su ayuda incondicional, ellos también forman parte de este logro.

Los autores

RESUMEN

En la presente investigación se obtiene Bioetanol a partir de los residuos fermentables de Mango (*mangifera indica*), utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como m.o. fermentador. En la primera etapa (Fermentación) se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3x2, donde el primer factor corresponde a la concentración de levadura (0.1 y 0.2 % v/v) y el segundo factor corresponde a la relación de Agua: Mosto (0:100; 35:65 y 50:50 %v/v). La caracterización de los residuos fermentables son: pH = 4.02 ± 0.2 , °Brix = 17 ± 1.2 ; Azúcares reductores = 110 ± 2.2 gr/L, Acidez titulable = 0.5 ± 0.1 , %H = 79 ± 2.1 , cenizas = 3.5 ± 0.1 y % recuperación de pulpa = 7.8 %, aplicando los métodos de análisis de la AOAC. La fermentación de los residuos fermentables (mosto), se realizó en un BIOREACTOR de 2 Lt de capacidad (volumen de trabajo 1.5 Lt); a T°= 27°C y presión atmosférica; obteniéndose parámetros óptimos de: [Levadura] = 0.2% y una Relación Agua: Mosto (35:65); al haber obtenido mayor concentración de etanol (5.25%).

En la segunda etapa, se centrifuga a 4500 rpm por 30 min. y se destila el producto final de la fermentación, determinándose los parámetros óptimos de: **flujo de alimentación y reflujo de destilado** para la obtención de Bioetanol mediante la destilación rectificadora en continuo, empleándose dos variables: flujo de alimentación (3, 4 y 5 L/h), razón de reflujo (0.2, 0.5 y 0.8), resultando 9 tratamientos de los cuales se determinó que a un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de destilado de 0.8 en una columna de rectificación iniciando con 4 Lt. de fermentado, se obtiene el mejor destilado con un volumen de 994.625 mL, con una concentración de alcohol de 64.25% (p/v) y rendimiento de 60.85% de Etanol.

ABSTRACT

In the present investigation Bioethanol is obtained from Mango fermentable residues (indicated mangifera) using *Saccharomyces cerevisiae* as mo fermenter. In the first stage (fermentation) was used for Design Random (DCA) 3x2 factorial arrangement, where the first factor corresponds to the concentration of yeast (0.1 and 0.2% v / v) and the second factor corresponds to the ratio of water: wort (0:100, 35:65 and 50:50% v / v). Characterization of fermentable residues are: pH = 4.02 ± 0.2 , ° Brix = 17 ± 1.2 ; Reducing sugars = 110 ± 2.2 gr / L, acidity = 0.5 ± 0.1 , % H = 79 ± 2.1 , 3.5 ± 0.1 Ash = and% recovery = 7.8% pulp, applying the methods of analysis of AOAC. The fermentation of fermentable residues (must), was performed in a BIOREACTOR 2 Lt capacity (working volume 1.5 Lt) at T ° = 27 ° C and atmospheric pressure, being obtained optimal parameters: [yeast] = 0.2% and ratio of water: wort (35:65) having obtained the highest concentration of ethanol (5.25%).

In the second stage, centrifuged at 4500 rpm for 30 min. and the final product of fermentation is distilled, determining optimal parameters: **flow of distillate feed** and **reflux** to obtain bioethanol rectified by continuous distillation, using two variables: feed flow (3, 4 and 5 L / h), reflux ratio (0.2, 0.5 and 0.8), the resulting 9 treatments which are identified as a feed stream 3 L / h and a distillate reflux 0.8 in a rectifying column with 4 L of starting fermented, distilled the best obtained with a volume of 994 625 mL, with an alcohol concentration of 64.25% (p/v) and performance of 60.85% Ethanol.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Biocombustibles	16
2.1.1. Bioetanol como combustible	17
2.1.2. Producción de Bioetanol	20
2.2. Materia Prima	24
2.2.1. Mango	24
2.2.2. Origen	25
2.2.3. Taxonomía	25
2.2.4. Características	26
2.2.5. Composición del Mango	26
2.2.6. Residuos Fermentables de Mango	28
2.3. Levadura	32
2.4. Fermentación	36
2.4.1. Procesos de Fermentación	39
2.4.2. Factores de la Fermentación Alcohólica	44
2.5. Destilación	46
2.5.1. Relaciones de equilibrio	47
2.5.2. Tipos de Destilación	48
2.5.3. Rectificación	53
2.5.4. Columnas de platos	53
2.5.5. Reflujo Total y Reflujo Mínimo	56
2.6. Alcoholes	59
2.6.1. Propiedades químicas de los alcoholes:	59
2.6.2. Alcoholes primarios, secundarios y terciarios	60
III. MATERIALES Y MÉTODOS	62
3.1. Lugar de Ejecución.	62
3.2. Materiales y Equipos.	62
3.2.1. Materia Prima.	62
3.2.2. Materiales	62
3.2.3. Reactivos	63

3.2.4. Equipos:	63
3.3. MÉTODOS	66
3.3.1. Análisis Físico y Químicos de los Residuos Fermentables	66
3.3.1.1. Humedad	66
3.3.1.2. Cenizas	66
3.3.1.3. Índice de Acidez	67
3.3.1.4. Contenido de Azúcares Reductores	67
3.3.1.5. Determinación de la Densidad	68
3.3.1.6. Grados Brix	68
3.3.1.7. Determinación de pH	69
3.3.1.8. Determinación de Grados Alcohólicos	69
3.4. Descripción del proceso	70
3.4.1. Obtención de Residuos Fermentables de Mango	70
3.4.1.1. Recepción de los Residuos Orgánicos del Mango variedad "Kent"	70
3.4.1.2. Pesado	70
3.4.1.3. Extracción de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"	71
3.4.1.4. Licuado de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"	71
3.4.1.5. Separación de Fibra de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"	72
3.4.1.6. Pasteurizado de los Residuos Fermentables del Mango	72
3.4.1.7. Almacenamiento de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"	72
3.4.2. Determinación de las Condiciones Óptimas de Fermentación	73
3.4.3. Determinación de las Condiciones Óptimas de Destilación	75
A. Metodología para la Puesta a puntos del sistema de utilización de la Unidad de Destilación Continua	77
B. Metodología para la Puesta en Marcha del Sistema para la utilización de la Unidad de Destilación Continua	78
3.4.4. Metodología para el Análisis Cromatográfico	79
3.4.4.1. Preparación de curvas patrón de Etanol.	79
3.5. Diseño Estadístico:	80
3.5.1. Análisis Estadístico.	80

3.5.1.1.	Fermentación	80
3.5.1.2.	Destilación	81
3.5.2.	Esquema de diseño experimental	82
3.5.2.1.	Fermentación	82
3.5.2.2.	Destilación	84
3.5.3.	Diagrama de Flujo experimental	86
3.5.3.1.	Obtención de Residuos Fermentables de Mango	86
3.5.3.2.	Fermentación	86
3.5.3.3.	Destilación	87
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
4.1.	Característica Físicoquímica de la Residuos Fermentables de Mango:	88
4.2.	Determinación de las Condiciones Óptimas para la Fermentación del Mosto	91
4.2.1.	Evaluación de la Fermentación Alcohólica del Mosto de Mango.	91
4.2.1.1.	Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación	91
4.2.1.2.	Comportamiento de los °Brix durante el proceso de Fermentación	95
4.2.1.3.	Medición de Azúcares Reductores	97
4.2.2.	Análisis del Efecto de la Concentración de Levadura y Relación Agua: Mosto en el Proceso de Fermentación de los Residuos del Mango.	101
4.2.2.1.	Evaluación del Efecto sobre la Concentración de Etanol Obtenido en la Fermentación.	101
4.2.2.2.	Optimización del Proceso en Función de la Concentración de Etanol Obtenido en la Fermentación.	107
4.3.	Determinación de las Condiciones Óptimas de Destilación del Fermentado de Residuos de Mango.	109
4.3.1.	Determinación de los parámetros físicoquímicos del Fermentado	109
4.3.2.	Análisis del Bioetanol obtenido a partir de la Destilación del Fermentado de Mango.	110
4.3.1.1.	Análisis Cromatográfico del Bioetanol	110
4.3.1.2.	Determinación de Etanol en el Destilado	116
4.3.3.	Análisis del Efecto del Flujo de Alimentación y Relación de Reflujo en el Proceso de Destilación Rectificada en Flujo Continuo del Fermentado de Mango.	117

4.3.1.3. Evaluación del Efecto sobre la Concentración en Volumen de Etanol obtenido en el Destilado	117
4.3.1.4. Optimización del Proceso en Función de la Concentración	122
4.3.1.5. Evaluación del Efecto sobre el Volumen de Destilado en el Proceso de Destilación en Flujo Continuo	123
4.3.1.6. Optimización del Proceso en Función del Volumen.	127
4.3.1.7. Evaluación del efecto sobre el Rendimiento del Proceso de Destilación en Flujo Continuo.	128
4.3.1.8. Optimización en Función al Rendimiento.	132
4.3.1.9. Optimización del Proceso interactuando la concentración, el volumen y el rendimiento.	133
V. CONCLUSIONES	135
VI. RECOMENDACIONES	136
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	137
ANEXOS	142
ANEXO 1: Procedimiento para la obtención de Bioetanol	142
ANEXO 2: Repeticiones de los análisis realizados para la caracterización de Residuos Fermentables	146
ANEXO 3: Análisis Cromatográfico de Etanol Puro para la Determinación de Curva Patrón	147
ANEXO 4: Curva Patrón de Etanol	149
ANEXO 5: Análisis Cromatográfico del Fermentado de Mango	150
ANEXO 6: Curva Patrón de Azúcares Reductores	154

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Diseño DCA para Fermentación _____	81
Cuadro 2. Diseño DCA con arreglo factorial para Destilación _____	82
Cuadro 3. Concentraciones de Levadura y Relación Agua: Mosto de trabajo. _____	92
Cuadro 4. Concentración de etanol obtenido de 1.5 litros de Mosto de Mango. _____	101
Cuadro 5. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evalúa la concentración de etanol. _____	103
Cuadro 6. Coeficiente de regresión para concentración en etanol. _____	104
Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos del Fermentado de Mango _____	109
Cuadro 8. Determinación de la concentración de etanol empleando la curva patrón. _____	116
Cuadro 9. Concentración de Etanol Obtenido del Destilado _____	118
Cuadro 10. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evalúa la concentración de etanol en el destilado. _____	118
Cuadro 11. Coeficiente de regresión para Concentración de Etanol del Destilado _____	119
Cuadro 12. Volumen de destilado obtenido de 4 litros de Fermentado de Mango. _____	123
Cuadro 13. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evalúa el volumen de destilado. _____	124
Cuadro 14. Coeficiente de regresión para Volumen de Destilado _____	125
Cuadro 15. Rendimiento de Volumen de Destilado Obtenido de 4 litros de Fermentado de Mango. _____	128
Cuadro 16. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evalúa el Rendimiento en Destilado. _____	129
Cuadro 17. Coeficiente de regresión para Rendimiento de Proceso de Destilado _____	130

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes nutricionales característicos del mango (cantidades dadas para 100 g de pulpa fresca)	27
Tabla 2. Relación A-M (agua-mosto).	73
Tabla 3. Caracterización fisicoquímica de la materia prima	88
Tabla 4. Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación.	92
Tabla 5. Comportamiento de los ° Brix durante el proceso de Fermentación.	95
Tabla 6. Concentración de los AR presentes al inicio, así como a lo largo de la fermentación de los mostos.	97
Tabla 7. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de etanol.	108
Tabla 8. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.	122
Tabla 9. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.	127
Tabla 10. Parámetros de optimización y resultados óptimos de Rendimiento de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.	132
Tabla 11. Parámetros de optimización de Condición de Flujo de Alimentación y Condición de Reflujo.	133
Tabla 12. Resultados óptimos de Rendimiento, Concentración y Volumen de Destilado en Proceso de Destilación en Continuo.	133
Tabla 13. Valores mínimos y máximos en el Proceso de Destilación en Continuo	134

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales Fuentes para la Obtención de Bioetanol. _____	19
Figura 2. Diagrama del Proceso de Producción de Bioetanol. _____	22
Figura 3. Mango variedad "Kent". _____	24
Figura 4. Alternativas de Solución a Residuos de Frutas _____	29
Figura 5. Residuos Orgánicos del Mango _____	31
Figura 6. Diversas presentaciones de Levadura _____	35
Figura 7. Glucólisis _____	40
Figura 8. Unidad de destilación Continua _____	47
Figura 9. Destilación Simple _____	48
Figura 10. Destilación Azeotrópica _____	52
Figura 11. Esquema de una columna de platos _____	55
Figura 12. Algunos alcoholes _____	61
Figura 13. Cromatógrafo de Gases _____	64
Figura 14. Destilador Simple _____	64
Figura 15. Unidad de Destilación Continua _____	65
Figura 16. Bioreactor BIOSTAT _____	65
Figura 17. Determinación de Azúcares Reductores _____	68
Figura 18. Refractómetro usado en la medición de grados Brix. _____	69
Figura 19. Residuos Fermentables de Mango obtenido en la Industria Agroexportadora de Mango IQF _____	70
Figura 20. Extracción de Residuos Fermentables de Mango _____	71
Figura 21. Pasteurización de Mosto de Mango a 70°C _____	72
Figura 22. Inoculación de Mosto de Mango con inóculo de Levadura Saccharomyces Cerevisiae _____	74
Figura 23. Fermentación del Mosto de Mango en Bioreactor. _____	75
Figura 24. Destilación del Fermentado de Mango. _____	76
Figura 25. Muestra de Etanol a diferentes concentraciones para determinación Curva Patrón _____	79
Figura 26. Muestra de Destilado analizadas en el Cromatógrafo de Gases _____	79
Figura 27. Determinación de etanol del ensayo 1 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	111

Figura 28. Determinación de etanol del ensayo 2 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	112
Figura 29. Determinación de etanol del ensayo 3 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	112
Figura 30. Determinación de etanol del ensayo 4 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	113
Figura 31. Determinación de etanol del ensayo 5 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	113
Figura 32. Determinación de etanol del ensayo 6 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	114
Figura 33. Determinación de etanol del ensayo 7 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	114
Figura 34. Determinación de etanol del ensayo 8 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	115
Figura 35. Determinación de etanol del ensayo 9 del fermentado de mango por cromatografía de gases. _____	115
Figura 36. Cromatograma de Etanol al 0.2% _____	147
Figura 37. Cromatograma de Etanol al 0.6% _____	147
Figura 38. Cromatograma de Etanol al 1% _____	148
Figura 39. Cromatograma de Etanol al 1.4% _____	148
Figura 40. Curva Patrón de Bioetanol Determinado por el GC. _____	149
Figura 41. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 1) por cromatografía de gases. _____	150
Figura 42. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 2) por cromatografía de gases. _____	151
Figura 43. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 3) por cromatografía de gases. _____	151
Figura 44. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 4) por cromatografía de gases. _____	152
Figura 45. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 5) por cromatografía. _____	152

Figura 46. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 6) por cromatografía de gases.	153
Figura 47. Curva Patrón de Azúcares Reductores Determinado por espectrofotometría.	154

INDICE DE GRAFICOS

Grafico 1. Gráfico de Rectificación de Mc-Cabe	57
Grafico 2. Gráfico de Mc-Cabe	58
Grafico 3. Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación.	93
Grafico 4. Comportamiento de los ° Brix durante el proceso de Fermentación.	96
Grafico 5. Comportamiento de los Azucares Reductores durante el proceso de Fermentación.	99
Grafico 6. Efecto de la interacción de la concentración de levadura y la relación agua: mosto para la concentración de etanol.	105
Grafico 7. Efecto de la interacción de la concentración de levadura y la relación agua: mosto para la concentración de etanol.	106
Grafico 8. Contornos de Superficie de Respuesta de concentración de etanol a distintas condiciones relación de agua: mosto y concentración de levadura.	106
Grafico 9. Superficie de Respuesta de concentración de etanol a distintas condiciones relación de agua: mosto y concentración de levadura.	107
Grafico 10. Curva Patrón de Etanol	116
Grafico 11. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para la concentración.	120
Grafico 12. Contorno de Superficie de Respuesta de la concentración de etanol en el Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.	120
Grafico 13. Superficie de Respuesta de la concentración de etanol en el Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.	121
Grafico 14. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para el Volumen de Destilado.	125
Grafico 15. Contornos de Superficie de Respuesta para el Volumen de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.	126
Grafico 16. Superficie de Respuesta para el Volumen de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.	126
Grafico 17. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para el Rendimiento de Destilado.	130
Grafico 18. Contornos de Superficie de Respuesta para el Rendimiento de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.	131

Grafico 19. Superficie de Respuesta para el Rendimiento de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo. _____	131
Grafico 20. Superficie de Respuesta interactuando la concentración, el volumen y el rendimiento, a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo. _____	134

INDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Esquema experimental para Fermentación _____	83
Diagrama 2. Esquema Experimental para Destilación _____	84
Diagrama 3. Diagrama de flujo de la obtención de Residuos Fermentables _____	86
Diagrama 4. Diagrama de flujo de Obtención de Fermentado de Mango _____	87
Diagrama 5. Diagrama de flujo de Obtención de Destilado de Bioetanol _____	87

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, en Perú se ha destacado la urgencia de realizar reformas estructurales que permitan un mayor desarrollo para enfrentar las necesidades que la globalización trae consigo. El sector energético es uno de los campos en los que se resalta la importancia de efectuar cambios y mejoras. Sin embargo, por ser un bien de interés público, las dificultades de cambio se explican por la gran rigidez en las políticas y reglamentos que regulan los procesos de producción, almacenamiento, transporte y distribución de energía; principalmente de energías no renovables. Sin embargo, es importante buscar otras soluciones orientadas más al desarrollo de sistemas eficientes en cuanto al consumo de energía y a la búsqueda de nuevas fuentes de energía, que limitarse al cambio de políticas y reglamentos de explotación, de lo que queda, de las fuentes de energía no renovables existentes (Maurice, 2007). Según la EWG (Energy Watch Group) la producción de petróleo ha declinado y se reduciría a la mitad para el 2030. Las fuentes mundiales de energía tradicionales se están agotando a un ritmo acelerado y su utilización como combustible no es apropiada ni resulta en beneficio para el medio ambiente (Remiro et al, 2009).

Una de las fuentes de energía que poco se menciona en los proyectos nacionales y que ha demostrado su factibilidad en otras regiones del mundo, es la producción de etanol. Desde el punto de vista industrial, trabajar en la producción de dicho producto es fundamental, pues el etanol no sólo es una fuente de energía sino una materia prima importante en la industria (química, farmacéutica, agroalimentaria, etc.).

Entre los principales usos del etanol está la preparación de carburantes para vehículos automotores. El etanol permite un aumento del índice de octano, y por lo tanto, la reducción del consumo y reducción de la contaminación (10 a 15 % menos de monóxido de carbono e hidrocarburos). El etanol se puede mezclar con la gasolina sin plomo de un 10 % a un 25 % sin dificultad. En ciertos motores, se ha logrado incorporar hasta en un 100 % (Almeida, 2006).

El etanol podría así, sustituir al metil ter-butil éter (MTBE), producto oxigenante con el que se reformulan las gasolinas en México desde 1989, y que ha permitido reducir las emisiones de CO₂. Esta acción es muy importante pues el MTBE, por ser un compuesto muy estable, de baja degradación y muy soluble en agua, ha resultado ser un contaminante de aguas subterráneas (Nava, 2006)

Una de las opciones para producir etanol es por fermentación a partir de materias primas ricas en carbohidratos (azúcar, almidón, celulosa, etcétera). Por tal razón, es común designar al etanol obtenido por esta vía "bioetanol". Entre estas materias primas se encuentran las frutas y vegetales como la caña de azúcar y la remolacha, los cereales (trigo, maíz, sorgo), los tubérculos (papas, yuca) y en general, materias provenientes de ligno-celulosas o de residuos orgánicos.

Por otro lado, una de estas alternativas es la obtención de etanol, teniendo como materia prima los residuos de frutas provenientes de procesos agroindustriales, en este caso los residuos del procesamiento del mango (*Mangifera Indica*), con lo que buscaremos por una parte aprovechar la disponibilidad, ya que se constituyen en una alternativa viable, que amplía las posibilidades de solución a la contaminación ambiental, al ser esta una fuente de energía de costo ambiental bajo y que puede ser utilizada durante un período de tiempo más amplio si se lo compara con los combustibles fósiles.

Es conveniente que los residuos agroindustriales del mango (*Mangifera Indica*), sean sometidos a un pre-tratamiento y un proceso de extracción donde se puedan liberar los azúcares fermentables.

En el Perú contamos aproximadamente con 30 empresas dedicadas a la exportación de Mango Congelado IQF, donde sus principales desechos fermentables suman aproximadamente 3000TM/día, siendo actualmente utilizadas como abonos para campos. Por lo que, en el presente trabajo se utilizara los residuos fermentables del Mango (*Mangifera Indica*) variedad "Kent" proveniente

de la Industria Agroexportadora de Mango Congelado "IQF". Esto debido a su alto contenido de azúcares, las cuales son susceptibles a someterse a un proceso de fermentación para la obtención de etanol; asimismo se busca aprovechar de estos residuos fermentables que actualmente representan aproximadamente el 5% de la Materia Prima Inicial, y así podremos contribuir con tecnologías que den un mayor valor agregado, para generar una mayor rentabilidad así como contribuir con disminución de la contaminación del medio ambiente.

De acuerdo a lo expuesto, los objetivos de este estudio fueron:

- Obtener bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de los residuos fermentables del Mango (*Manguifera Indica*) variedad "Kent"
- Caracterizar físico-químicamente los residuos fermentables del Mango (*Manguifera Indica*) variedad "Kent".
- Determinar los parámetros óptimos de fermentación del mosto de Mango (concentración de la levadura, proporción agua- mosto).
- Evaluar la concentración de glucosa (azúcares reductores, °Brix) presentes en el mosto a lo largo de la fermentación.
- Evaluar el pH a lo largo de la fermentación del mosto.
- Determinar los parámetros óptimos de destilación rectificada en flujo continuo del Fermentado de los residuos del mango (*Manguifera Indica*) variedad "Kent para la Obtención de Etanol.
- Cuantificar el bioetanol obtenido por cromatografía de gases.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biocombustibles

Los biocombustibles o biocarburantes son combustibles generados a partir de biomasa ya sea para propósitos de transporte, generación eléctrica o calefacción. Ellos pueden ser producidos a partir de productos agrícolas y forestales, así como de la porción biodegradable de desperdicios industriales y municipales. Estos biocombustibles se dividen en tres tipos: Bioetanol, biodiesel y biogás. (Gutiérrez. S, 2011).

Los beneficios asociados a los biocombustibles se han reflejado en un creciente número de países, los cuales están introduciendo o planeando introducir políticas para incrementar la proporción de los biocombustibles dentro de su matriz energética. Un incremento en el comercio de biocombustibles implicaría la expansión de cultivos en diversos países. Por un lado, los biocombustibles podrían brindar mayores ganancias económicas, desarrollo rural y menores emisiones de gases con efecto invernadero respecto de los combustibles fósiles. Por otro lado, la producción de cultivos energéticos podría llevar a una expansión de la frontera agrícola, deforestación, contaminación del agua, difusión de organismos genéticamente modificados, entre otros problemas. (Gutiérrez. S, 2011).

Una de las grandes barreras al desarrollo a gran escala de los biocombustibles son sus mayores costos económicos en comparación al de los combustibles convencionales. Algunas estimaciones muestran que el costo de los biocombustibles es el doble de aquellos de los combustibles fósiles. Sin embargo, los costos económicos tienden a variar dependiendo del tipo de biocombustible, el país de origen y la tecnología utilizada. El maíz, por ejemplo, es más caro y produce menos etanol por hectárea que los cultivos tropicales como la caña de azúcar que se cultivan en numerosos países en desarrollo. (Gutiérrez. S, 2011).

La obtención biocombustibles a nivel industrial se realiza a partir de la fermentación de los azúcares contenidos en cultivos como la remolacha, maíz, trigo o cebada, caña de azúcar. La producción de etanol a partir de materia de origen agrícola es una tecnología desarrollada suficientemente a nivel industrial, varios países en el mundo disponen de varias plantas de producción, entre ellos, Brasil (caña de azúcar), Europa (cereales, remolacha, semillas oleaginosas) Estados Unidos (maíz). Sin embargo este tipo de productos compiten directamente con la alimentación por ser cultivos energéticos, y compiten también por el uso de suelo y del agua. En Europa al año 2012 los automóviles deberán ser flexibles en el uso de biocombustible, según la norma europea. Se trata de dotar a los coches nuevos con dispositivos para emitir una media de 130 gramos de dióxido de carbono por kilómetro de cara al año 2012. (Sánchez. J, 2009)

En la actualidad, la demanda mundial de energía sigue aumentando a niveles predecibles de acuerdo con el crecimiento demográfico y el desarrollo. La mayor parte de este suministro total de energía primaria proviene de los combustibles fósiles; sin embargo, la carga ambiental cuando se quema, la escasez de recursos y los precios volátiles alentar a los países hacia la tarea difícil para pasar a una producción de energía baja en carbono, pero sin desestabilizar su economía y el desarrollo social. (Garcia. J *et al*, 2012)

2.1.1. Bioetanol como combustible

El bioetanol es un tipo de biocarburante, el cual, junto con el biodiésel, forman los dos grandes tipos de biocombustibles líquidos en la actualidad. En un futuro, quizá haya que incluir otros como el biobutanol pero, por el momento, hablar de biocarburantes líquidos es hacerlo de biodiesel y bioetanol. El bioetanol se puede definir como aquel alcohol etílico o alcohol carburante, líquido, cuya fórmula química es C_2H_5OH , que se produce de la fermentación de cultivos agrícolas

que contienen azúcares, almidones o celulosa; según las tres vías actuales de obtención del bioetanol. (GAIA, 2008).

No está de más señalar que entendemos por biocarburentes a aquellos combustibles líquidos de origen biológico, que por sus características físico-químicas resultan adecuados para sustituir a la gasolina o al gasóleo, bien sea de manera total, en mezcla con estos últimos o como aditivo, (definición dada según el Instituto para la Diversificación y el Ahorro Energético). Estos productos se obtienen a partir de materia vegetal. (GAIA, 2008).

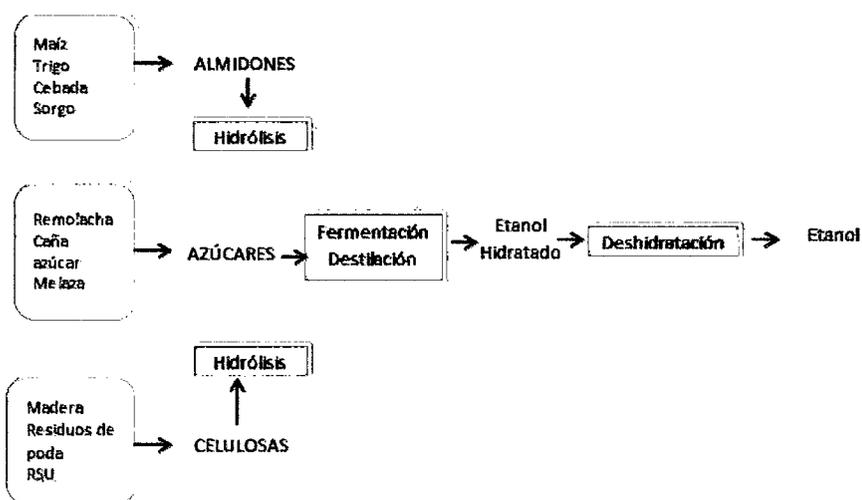
El bioetanol o simplemente etanol (EtOH), corresponde a uno de los dos tipos de biocombustibles líquidos, este puede usarse directamente como combustible o como oxigenante de la gasolina. La gasolina necesita de aditivos que aumenten su octanaje y así disminuir su capacidad autodetonante, incrementando su resistencia a la compresión. En la primera mitad del siglo pasado, se utilizó el tetraetil plomo ($C_8H_{20}Pb$) como antidetonante, pero, estudios posteriores sugirieron que por cada litro de gasolina consumida se formaba 1.0 g de óxido de plomo. Fue hasta enero de 1996 que la gasolina con plomo se prohibió en EE.UU. (Gutiérrez. S, 2011).

La adición de oxigenantes a la gasolina empezó en 1979 con el uso de metil ter-butil éter (MTBE), el cual permite la reducción en la emisión de compuestos aromáticos (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) y de monóxido de carbono (CO) al realizarse una combustión más completa hasta CO_2 . Se han explorado otros aditivos como el etil ter-butil éter (ETBE), el ter-amil metil éter (TAME) y el diisopropil éter (DIPE), pero sus propiedades son similares al MTBE. (Gutiérrez. S, 2011).

El uso de EtOH como oxigenante de la gasolina representa varias ventajas:

- Mayor contenido de O₂ (menor cantidad de aditivo requerido)
- No es tóxico
- Reduce más las emisiones de CO
- No contamina las fuentes de agua.
- Puede ser utilizado como materia prima en la producción de ETBE.

A nivel mundial, Brasil es el principal productor de EtOH obtenido a partir de la caña de azúcar, seguido por EE.UU. a partir del maíz. A través del programa Proalcoho en Brasil se ha utilizado el alcohol hidratado como combustible y el alcohol anhidro como oxigenante. En los EE.UU. hay también un programa de adición de EtOH a la gasolina que se vio impulsado especialmente por el Clean Air Act Amendments en 1990. De igual manera Francia tiene un programa de obtención de EtOH a partir de remolacha azucarera; la oxigenación de la gasolina se hace en este país a través de la síntesis de ETBE a partir de EtOH. (Gutiérrez. S, 2011).



Fuente: Gutiérrez. S, (2011).

Figura 1. Principales Fuentes para la Obtención de Bioetanol.

El etanol también llamado bioetanol es el sustituto ecológico de la gasolina obtenida a partir de productos petrolíferos, al igual que el biodiesel es el producto energéticamente renovable destinado a sustituir al diesel convencional. (Sánchez. C, 2009)

Actualmente, el bioetanol con su alto contenido de oxígeno y octanaje, es el más limpio y puede ser la única verdadera alternativa renovable a la gasolina. Hay pruebas que indican que su uso en los automóviles dará lugar a un mayor rendimiento al motor y reduce las emisiones de CO sólo pequeñas modificaciones a los motores de automóviles para funcionar con mezclas de combustible de gasolina con etanol hasta un 30%. Los coches nuevos también se pueden hacer con motores diseñado para funcionar con etanol puro. (Ibrahim. H, 2011).

La producción de bioetanol ha ganado importancia como una alternativa fuente de energía debido al agotamiento previsible de combustible suministro de energía. La producción de bioetanol por fermentación microbiana proporciona una fuente económicamente competitiva de la energía. (Saravanakumar. K *et al*, 2013)

El etanol es una fuente de energía renovable y se puede producir en el país en respuesta a la demanda de días de alta energía. La bioconversión de residuos lignocelulósicos a biocombustibles y químicos está recibiendo interés, ya que son de bajo costo, renovable, y extendido en la naturaleza. (Sudiyani. Y *et al*, 2012)

2.1.2. Producción de Bioetanol

El bioetanol se puede producir de azúcar simple como la caña de azúcar, remolacha azucarera, y melaza, o de otros hidratos de carbono que se pueden convertir al azúcar, tales como almidón y celulosa.

Materias primas con almidón son maíz, patatas, etc; y materiales celulósicos son tales como madera, residuos forestales, residuos agrícolas, residuos de cultivos, etc. El bioetanol producido a partir de cereales y el azúcar verduras como la remolacha azucarera basadas restringen el uso de bioetanol la producción en gran cantidad en los países en desarrollo, porque da lugar a crisis de los alimentos. Por lo tanto, los investigadores empezado a encontrar los métodos adecuados para derivar bioetanol partir de materias primas no comestibles tales como residuos forestales, residuos de madera, tallo de la planta, etc. El bioetanol tiene un alto número de octano, y por lo tanto, es directamente utilizado en la chispa de encendido (SI) motores. Sin embargo, la compresión son los preferidos de encendido (CI) a los motores más de los motores SI debido a que el primero da una mayor eficiencia térmica y son robusta en estructura. Pero, bioetanol no se puede utilizar directamente en los motores de encendido, debido a su bajo número de cetano. Puede ser utilizado ya sea por la modificación de combustible haciendo solución, mezcla o emulsión con un combustible de alto índice de cetano, o llevar a cabo necesario modificación del motor, tales como el modo dual de combustible y la superficie ignición. (Dulari. H *et al*, 2013)

La variedad de materias primas usadas en la producción de este biocombustible vía fermentación son convenientemente clasificados bajo tres tipos de materias primas agrícolas:

- Sustancias con alto contenido de almidón (maíz, trigo, cebada, sorgo, patata, cultivos de raíz (legumbres)), los cuales deben primero ser hidrolizados a azúcares fermentables por la acción de enzimas de malta o mohos.

- Sustancias con alto contenido de celulosa (madera, papel reciclado, residuos agrícolas), los cuales deben ser convertidos a azúcares, generalmente por la acción de ácidos minerales.
- Sustancias con alto contenido de azúcar (caña de azúcar, remolachas de azúcar, melazas, frutas tropicales), los cuales pueden ser convertidos directamente a etanol.

En la figura N° 02 se presenta un diagrama del proceso de producción de bioetanol, partiendo de los tres tipos de materias primas mencionados anteriormente. Normalmente, el proceso de producción involucra tres etapas. En la primera etapa, los substratos poliméricos son descompuestos a monosacáridos.

La segunda etapa involucra la fermentación microbiana (por bacterias o por levaduras, en su mayor parte de cepa de *Saccharomyces cerevisiae* para convertir los azúcares a alcoholes. Finalmente, el alcohol es recuperado por destilación y es purificado en pasos subsecuentes. (Gutiérrez. S, 2011).

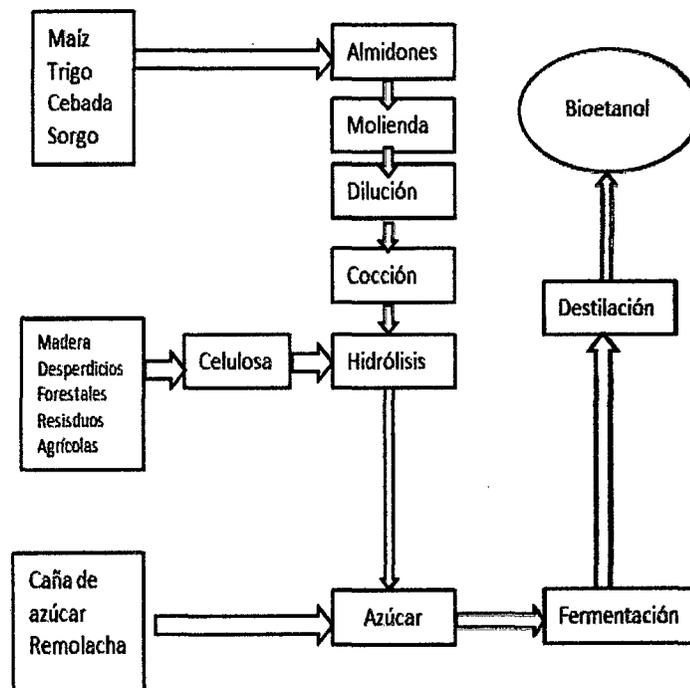


Figura 2. Diagrama del Proceso de Producción de Bioetanol.

La producción mundial de bioetanol mostró una tendencia al alza en los últimos 25 años, con un fuerte incremento a partir de 2000. Capacidad de producción anual de todo el mundo en 2005 y 2006 fueron alrededor de 45 y 49 mil millones de litros, respectivamente, y la producción total en el año 2015 se prevé llegar a más de 115 mil millones de litros. Brasil fue durante un tiempo el país productor de bioetanol más grande, pero en 2005, Estados Unidos aprobó el Brasil y se convirtió en el primer productor de etanol del mundo. La producción de bioetanol a partir de los recursos de biomasa no alimentaria como materia prima es de especial relevancia en los países con grandes poblaciones y el aumento del consumo de gasolina como Brasil, Egipto, China e India. Cerca de 3.9 millones de litros de etanol puede producirse a partir de la paja de arroz y el bagazo en China e India. (Ibrahim. H, 2011).

Los países que lideran la producción de etanol, como EE UU, Brasil, Colombia, Argentina, y México cuentan con un marco regulador para la producción, uso y manejo del etanol, han establecido porcentajes para la mezcla de gasolina y etanol, y brindan incentivos para su producción. (Ibrahim. H, 2011).

Los principales productores mundiales son Brasil y Estados Unidos (se estima que copan entre el 85% 90% de la producción mundial), siguiéndoles a mucha distancia, la Unión Europea y China, y otros países con una producción menor En Brasil la industria y el consumo de etanol arrancaron en la década de los 70 y por esto es donde el bioetanol está más extendido y socialmente aceptado. Brasil produjo en 2006 17.500 millones de litros de bioetanol En 2005 la cantidad fue de 16.500 millones, frente a los 16.230 de EEUU. Centrándonos en Europa, los órdenes de magnitud son inferiores. (GAIA, 2008).

2.2. Materia Prima

2.2.1. Mango

El mango (*Mangifera indica L*) es originario de Asia, específicamente de la región Indo - Birmanica, cultivándose en la India desde hace más de cuatro siglos. Este frutal fue introducido a nuestro país a través de los españoles, en el año de 1779, quienes trajeron las primeras variedades de las Islas Filipinas. A pesar de no ser un cultivo nativo del continente americano ha llegado a ocupar un lugar primordial. (Galán, 1999).

La composición química de los frutos cambia de variedad en variedad. Los principales constituyentes del mango son: carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos, pigmentos, sustancias pécticas, polifenoles, vitaminas, minerales, ácidos grasos y componentes odoríferos. Los azúcares que se encuentran en mayor proporción en el mango son: glucosa, fructosa, sacarosa y xilosa. La sacarosa la responsable del sabor dulce, y no la fructosa como generalmente sucede. Todos estos azúcares son susceptibles de someterse a un proceso de fermentación alcohólica (Gutiérrez. S, 2011).



Figura 3: Mango variedad "Kent".

Los frutos son drupas ovaladas de tamaño muy variable, algunos poco más grande que una almendra; otros llegan a alcanzar los dos kilos. Su piel es verde claro al principio y se va convirtiendo en marrón rojiza a medida que madura. En el interior del fruto aparece un solo hueso. La carne es jugosa, dulce, fibrosa, con un profundo aroma y muy buen sabor (Cedron, 2006).

2.2.2. Origen

El mango (*mangifera indica L.*) tiene origen indomalayo, de donde se extendió a Vietnam, Indonesia, Ceilán y Pakistán.

Fue introducido a América por los portugueses y españoles. Los primeros lo llevaron a Brasil y los segundos de Filipinas a México de donde se distribuyó a varios lugares del Caribe (Galán, 1999).

2.2.3. Taxonomía

REINO	: Vegetal
CLASE	: Angiospermae
SUBCLASE	: Dicotyledoneae
ORDEN	: Sapindae
FAMILIA	: Anacardiaceae
GENERO	: Mangifera
ESPECIE	: <i>Mangifera indica L</i>

El mango es el miembro más importante de la familia de las Anacardiáceas o familia del marañón, género *Mangifera*, el cual comprende unas 50 especies, nativas del sureste de Asia e islas circundantes, salvo la *Mangifera africana* que se encuentra en África. Está reconocido en la actualidad como uno de los tres o cuatro frutos tropicales más finos (Galán, 1999).

2.2.4. Características

- **Forma:** su forma es variable, pero generalmente es ovoide-oblonga o arriñonada, notoriamente aplanada, redondeada, u obtusa en ambos extremos, con un hueso central grande, aplanado y con una cubierta leñosa.
- **Tamaño y peso:** de 4-25 centímetros de largo y 1,5-10 de grosor, su peso varía desde 150 gramos hasta los 2 kilogramos.
- **Color:** el color puede ser entre verde, amarillo y diferentes tonalidades de rosa, rojo y violeta, mate o con brillo. Su pulpa es de color amarillo intenso, casi anaranjado.
- **Sabor:** exótico, succulento, muy dulce y aromático.

2.2.5. Composición del Mango

El valor alimenticio del mango, en general, es muy apreciado (*Galán-Saúco, 1999*). El mango es una fruta rica en agua, azúcares, fibra, minerales y vitaminas (*Cedrón, 2006*).

Además de las vitaminas A y C, el mango es rico en vitaminas del grupo B, entre las que se encuentran la niacina (Vitamina B3) necesaria para el buen funcionamiento del sistema nervioso, la salud de la piel y el metabolismo de las grasas, y sobre todo, en piridoxina (vitamina B6) cuya importancia es trascendental para la síntesis de los aminoácidos y el metabolismo de las grasas, así como la salud del cabello, de la piel o el equilibrio de los líquidos en el organismo. (*USDA, 2006*).

El mango no contiene colesterol y poquísima grasa. Su contenido en calorías es moderado unas 130 calorías por una pieza mediana y posee muy pocas sales. Por otra parte posee hidratos de carbono y azúcares de muy fácil asimilación. El mango es una muy buena opción que puede incluirse perfectamente dentro de la dieta para adelgazar. (*USDA, 2006*).

Esta fruta contiene hierro, lo que resulta interesante para prevenir la anemia, especialmente en personas vegetarianas que comen poca carne, o durante ciertos periodos de la vida de las mujeres, tal como ocurre durante el embarazo o la menstruación. (USDA, 2006).

Tabla 1. Componentes nutricionales característicos del mango (cantidades dadas para 100 g de pulpa fresca)

Componente	Contenido
Agua	81.7g
Energía	65 Kcal
Grasa	0.45 g
Proteína	0.51 g
Hidratos de carbono	17 g
Fibra	1.8 g
Potasio	156 mg
Fosforo	11 mg
Hierro	0.13 mg
Magnesio	9 mg
Calcio	10 mg
Cobre	0.11 mg
Zinc	0.04 mg
Selenio	0.6 mg
Vitamina C	27.7 mg
Vitamina A	3.894 UI
Vitamina B1 (Tiamina)	0.058 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.057 mg
Vitamina B3 (Niacina)	0.58 mg
Vitamina B6 (Piridoxina)	0.134 mg
Vitamina E	0.100 mg
Ácido Fólico	14 mcg

FUENTE: USDA, 2006

La medida de las características morfológicas de las principales variedades comerciales de mango son: un peso promedio de 350gr; una composición de 56.39% de pulpa, 21.51% de cascara y 22.09% semilla. La pulpa es de consistencia firme, con sabor dulce y baja acidez, la cascara es firme, de color amarillo y poco resistente al manejo postcosecha (Cedrón, 2006).

2.2.6. Residuos Fermentables de Mango

Llamamos residuo a cualquier tipo de material que esté generado por la actividad humana y que está destinado a ser desechado. Hoy en día la sociedad tiende en gran medida hacia los productos descartables, generándose de esta manera una necesidad de producir más y más elementos de consumo (Quizhpi. L, 2008)

Los residuos fermentables de Mango son los restos de pulpa que están adheridas a la cascara y pepa, así como de las mermas de proceso, provenientes de la Industria Agroexportadora, principalmente de Mango Congelado "IQF", siendo la misma, una materia prima rica en Azúcares Reductores, los cuales se pueden aprovechar para la obtención de Etanol. Los azúcares que se encuentran en mayor proporción en el mango son: glucosa, fructosa, sacarosa y xilosa. La sacarosa la responsable del sabor dulce, y no la fructosa como generalmente sucede. Todos estos azúcares son susceptibles de someterse a un proceso de fermentación alcohólica (Gutiérrez. S, 2011).

La industria genera una gran cantidad de residuos muchos de los cuales son recuperables. El problema está en que las técnicas para aprovechar los residuos y hacerlos útiles son caras y en muchas ocasiones no compensa económicamente hacerlo. De todas formas,

está aumentando la proporción de residuos que se valorizan para usos posteriores. (Quizhpi. L, 2008)

Los residuos que fueron la materia prima de los procesos productivos y los resultados del consumo y del crecimiento, y que observamos por todos lados; nos hablan de una cultura del desperdicio de los recursos, de su bajo aprovechamiento y de servicios deficientes, en general, de un desentendimiento del quehacer y de a dónde van a parar los residuos de nuestras casas, de la industria y de nuestra ciudad

Aunque actualmente los procesos mecánicos de separación de la materia orgánica y de compostaje posterior han mejorado notablemente sólo se consiguen calidades y rentabilidades monetarias aceptables en contados casos en los que se procede a la recogida selectiva en origen de los residuos orgánicos, separados previamente por los vecinos.

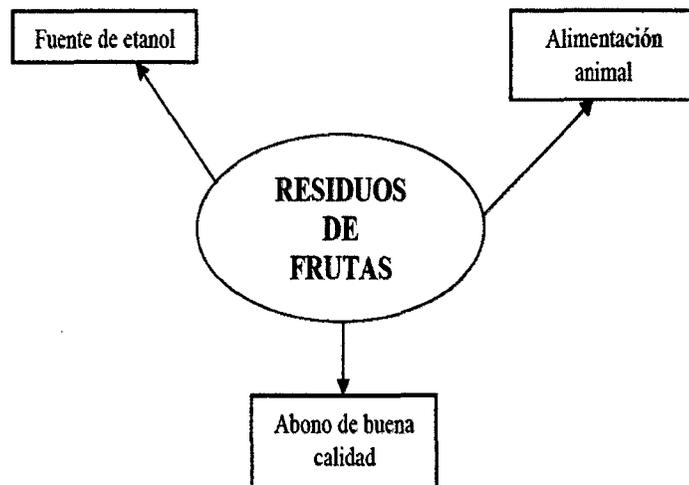


Figura 4. Alternativas de Solución a Residuos de Frutas

Para definir la palabra con precisión, reciclar consiste en usar la materia prima de los productos para elaborar otros nuevos, de esta manera muchos elementos que contiene la basura que diariamente sacamos a la calle puede volver a utilizarse, en forma de botellas de

vidrio, papel, planchas de aluminio, alimento para animales o en fertilizante de bajo costo (Quizhpi. L, 2008)

Si consideramos la acumulación de residuos sólidos principalmente generados por el desarrollo de la agroindustria, éstos además de convertirse en una amenaza al ambiente, se constituyen en una oportunidad para el desarrollo de la industria biotecnológica al aprovechar los tres componentes que conforman los residuos vegetales: celulosa, hemicelulosa y lignina, como fuente de carbono para los microorganismos que poseen el complejo enzimático para metabolizar estos polímeros y liberar azúcares simples que pueden quedar a disposición de otros microorganismos fermentativos. Es importante tener en cuenta que en la actualidad en su gran mayoría, la actividad del bacteriólogo está enfocada al área de la salud, dejando a un lado otros campos que han sido poco explorados. Uno de estos campos es la industria, donde la importancia de este profesional radica en el conocimiento y el uso de los microorganismos, para la obtención de productos de gran beneficio para el ser humano. Con este trabajo es posible demostrar que debido a la formación profesional adquirida, le permite desempeñarse en diferentes campos de acción. (GAIA, 2005).

La producción de residuos orgánicos en América Latina y El Caribe varía entre el 30% y 60%, pudiendo ser utilizados mediante un proceso técnico de transformación para la obtención de diferentes productos, como: Humus, concentrado para alimentación de animales, y en el caso de esta investigación para obtener etanol. Por otro lado, las fuentes mundiales de energía tradicionales se están agotando a un ritmo acelerado, en América Latina y en Colombia al igual que en el resto del mundo, las principales fuentes de energía son los combustibles fósiles, que al no ser aprovechados de forma racional tienden cada vez a agotarse, por lo que cada vez cobran más importancia otras fuentes alternativas de energía.

Entre otros factores de importancia que impulsan la investigación sobre la producción de biocombustibles es la preocupación acerca del cambio climático, ya que se cree que éste es inducido por la acción humana, específicamente por el uso (combustión) de combustibles fósiles como: gasolina, diesel, gas licuado de petróleo, etc. En el caso de Perú la demanda de energía aún no excede la capacidad de producción, sin embargo se espera que en un futuro en el aumento en la demanda, los biocombustibles puedan ser una alternativa viable de energía que podría satisfacer un porcentaje considerable de la demanda nacional de energéticos. En general, el uso de residuos agroindustriales como los del mango (*Mangifera Indica*), y otras frutas, para la producción de bioetanol podría ser una solución sustentable. No hay que olvidar la importancia de la rentabilidad de los procesos de producción, en el caso concreto de biocombustibles y que esta depende en gran parte del costo de la materia prima, su pre-tratamiento y su conversión a producto final. Por este motivo, la mayoría de los estudios relacionados con la producción de biocombustibles se centran en la optimización del pre-tratamiento de la materia prima y el uso de fuentes alternativas de carbono (GAIA, 2005)



Figura 5. Residuos Orgánicos del Mango

2.3. Levadura

Las levaduras son organismos vivos. El nombre científico de la levadura que se utiliza para la fermentación del azúcar es *Saccharomyces cerevisiae*, que significa "m.o que fermenta el azúcar de un cereal para producir alcohol y dióxido de carbono". (Crueger W, *et al.*, 2011).

La *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia, debido principalmente a su capacidad de convertir eficientemente azúcares, como los que se encuentran en mostos de uva, frutas, cebada y otros cereales y leche en alcohol y CO₂. Las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies próximas han sido también microorganismos muy utilizados tanto en microbiología industrial (bebidas fermentadas, pan y, ocasionalmente glicerina y grasa) como en todo el desarrollo de la Bioquímica (Gutierrez. S, 2009)

La levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) es un microorganismo unicelular, es un tipo de levadura utilizado industrialmente en la fabricación de pan, cerveza y vino. Se divide por gemación, presenta un crecimiento exponencial y puede tener una reproducción asexual cuando se encuentra en su forma haploide o de manera sexual cuando a partir de un cigoto se forma un asca que contiene cuatro ascosporas haploides. El proceso de crecimiento de las levaduras, se consigue mediante la estimulación de la reproducción, ofreciéndole las condiciones correctas de agua templada (25 °C) y nutrientes (azúcares) (Crueger W, *et al.*, 2011)

Las utilidades industriales más importantes de la levadura son la producción de cerveza, pan y vino gracias a su capacidad de generar dióxido de carbono y etanol durante el proceso de fermentación. Básicamente este proceso se lleva a cabo cuando esta levadura se encuentra en un medio muy rico en azúcares (como la D-Glucosa).

Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno (O₂), máxime durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico. (Quizhpi. L, 2008).

Las condiciones de crecimiento de las levaduras son muy diversas, pero la mayor parte prefiere alimentos ácidos (pH entre 4 y 4,5) con un contenido razonable de humedad. La mayor parte de las levaduras se desarrollan mejor en presencia de oxígeno entre 25 y 30 °C, algunas son capaces de crecer a 0 °C y a temperaturas más bajas; las levaduras y sus esporas mueren fácilmente calentándolas a 100 °C (Fox, Cameron 2008).

Las levaduras se multiplican asexualmente como células individualizadas que se dividen por gemación o por división directa (fisión), hay especies que pueden crecer como filamentos formando el micelio típico de los hongos; en su apartado de reproducción sexual las levaduras producen unas estructuras llamadas ascas, que contienen hasta 8 esporas, estas ascas y esporas pueden fusionarse entre sí y originar un nuevo individuo que podrá multiplicarse a través de una división vegetativa. La mayoría de las levaduras que se cultivan y se conocen pertenecen al género *Saccharomyces*, pero las más conocidas y comercializadas son las especies y cepas relacionadas de *Saccharomyces cerevisiae*. Este organismo ha sido largamente utilizado para fermentar azúcares del arroz, del trigo, de la cebada y del maíz para la producción de bebidas alcohólicas y en la industria de panificación para expandir o aumentar la masa. *Saccharomyces cerevisiae* es comúnmente usada como levadura en el pan y para algunos tipos de fermentación, los extractos de levadura se administran a menudo como suplemento vitamínico ya que están constituidas en un 50% por proteínas y son fuente importante de vitaminas B, niacina, y ácido fólico (Sansen y Vargas, 2009)

Principales formas de levadura:

En la actualidad y en todo el mundo, las levaduras para vino se producen en diversas formas que cumplen necesidades específicas de clima, tecnología, producto, metodología, transporte y almacenamiento. La levadura se ofrece en diversas formas:

- **Levadura comprimida:** Esta forma se suministra normalmente en bloques y levadura en papel encerado. El contenido estándar en extracto seco es del 28-30%, en muchas partes del mundo son habituales los bloques de 0.5Kg.
- **Levadura granular:** Esta forma de presentación consiste en pequeños gránulos. Tiene un extracto seco del 30-32% y se suministra en papel laminado o bolsas de plástico.
- **Crema de levadura:** Es una forma bombeable de levadura que tiene la consistencia de una crema. La crema de levadura sustituye a la levadura comprimida con una relación de 1.5 por 1.
- **Levadura en forma de pellet deshidratado:** Contenido de humedad muy escaso, Su ventaja sobre la levadura comprimida consiste en que al estar envasada puede transportarse y almacenarse más fácilmente, a temperatura ambiente y tiene una vida útil más prolongada. Para utilizar la levadura deshidratada es preciso reconstituirla con 5 veces su propio peso de agua templada. Se comercializan diversos envases de tamaños diferentes, desde los de 1 tonelada hasta los de 20 gramos. Los pellets de levadura deshidratada se han visto superados por la levadura instantánea tanto a escala industrial como doméstica.
- **Levadura instantánea:** Tiene un contenido de humedad muy escaso y un tamaño de partícula muy fino. La principal ventaja de su utilización frente a las levaduras deshidratadas estriba en que la humedad de la harina no afecta a la actividad de la levadura.
- **Levadura encapsulada:** Esta es una levadura especial producida para mezclas en las que su utilización no necesita un secado previo de la

harina. Debido a su elevado coste, la levadura encapsulada se utiliza poco en la actualidad.

- **Levadura Congelada:** Este tipo puede ser una levadura comprimida que se ha congelado bajo condiciones especiales. Debe ser descongelada lentamente antes de su utilización.

La deshidratación, la congelación y la encapsulación son métodos para la conservación de levaduras. Se han desarrollado diferentes medios de cultivo y métodos de crecimiento por parte de los fabricantes de levadura con el fin de producir levaduras para los distintos métodos de panificación y de productos vinos (Cauvain. P, 2002).

Los criterios que se evaluaron para la selección de levaduras son los siguientes:

- ✓ La capacidad de realzar los sabores y aromas del sustrato
- ✓ Resistencia a altas concentraciones de alcohol
- ✓ Buena capacidad para elaboración de vinos espumosos, tintos y blancos
- ✓ Resistencia a concentraciones de sulfitos
- ✓ Amplio rango de temperaturas de trabajo
- ✓ Baja necesidad de nutrientes



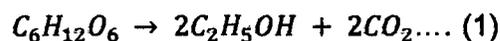
Figura 6. Diversas presentaciones de Levadura

2.4. Fermentación

La fermentación es uno de los más viejos procesos químicos conocido por el hombre, es usado para producir una gran variedad de productos, incluyendo alimentos, saborizantes, bebidas, farmacéuticos y químicos. Actualmente, sin embargo, muchos de los productos más simples tales como el etanol son de la industria de la fermentación, por lo tanto, depende de su capacidad de utilizar la alta eficiencia y especificidad de la catálisis enzimática para sintetizar productos complejos y de su capacidad de superar las variaciones en la calidad y disponibilidad de las materias primas (Gutiérrez. S, 2011).

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno (fundamentalmente aire) para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO₂ como desechos consecuencia de la fermentación (Quizhpi. L, 2008)

La fermentación alcohólica es una bioreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono. La conversión se representa mediante la ecuación:



Las principales responsables de esta transformación son las levaduras. La *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia. Por supuesto que existen estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas Mobilis*, pero la explotación a nivel industrial es mínima (Vázquez. H y Dacosta. O, 2007)

A pesar de parecer, a nivel estequiométrico, una transformación simple, la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta

dos moléculas de alcohol y dos moléculas de bióxido de carbono es un proceso muy complejo, pues al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse. Para evaluar esta transformación, se usa el rendimiento biomasa/producto y el rendimiento producto/substrato.

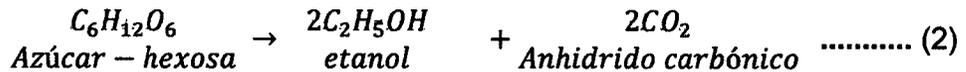
- Rendimiento biomasa/substrato (Y_x/s): es la cantidad de levadura producida por cantidad de substrato consumido.
- Rendimiento substrato/producto (Y_p/s): es la cantidad de producto sintetizado por cantidad de substrato consumido.

El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO₂ por 1g de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque como se señaló anteriormente, la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. El rendimiento experimental varía entre 90% y 95% del teórico, es decir, de 0.469 a 0.485 g/g. Los rendimientos en la industria varían entre 87 y 93% del rendimiento teórico (Boudarel, 1984). Otro parámetro importante es la productividad (g/h/l), la cual se define como la cantidad de etanol producido por unidad de tiempo y de volumen. (Vázquez. H y Dacosta. O, 2007).

Cuando se habla de fermentación, se refiere al proceso metabólico energético que comprende la descomposición de moléculas, tales como carbohidratos, de manera anaerobia. El proceso de fermentación es producido por acción de las enzimas, las cuales producen cambios químicos en las sustancias orgánicas. (Macek. M, 2008).

El mecanismo de la fermentación fue cuantificado por primera vez por Gay-Lussac, basándose en la estequiometría de la conversión de una hexosa en etanol y anhídrido carbónico donde:

Por consiguiente, 100 Kg de azúcar-hexosa = 51, 1 kg de etanol + 48, 9 kg de anhídrido carbónico (Jackman. E, 1991)



Previa a la fermentación se encuentra un proceso igualmente importante denominado glucólisis.

La glucólisis es una secuencia compleja de reacciones que se efectúan en el citosol de una célula, catalizadas por enzimas que rompen una molécula de glucosa en dos moléculas de ácido pirúvico. Este desdoblamiento produce una pequeña ganancia de energía de dos moléculas de ATP y dos moléculas del transportador de electrones NADH (Audesirk. T y Audesirk. G, 1996).

La glicólisis o glucólisis (“disolución de azúcar”) consta de diez reacciones que son las mismas en esencia en todas las células, desde las bacterias más simples hasta los vegetales y animales más complejos. La glicólisis se conoce también como la vía de Embden-Meyerhof, en honor de Gustav Embden y Otto Meyerhof (Charlotte J, 1991).

El pH elevado atrae a una multiplicidad de microorganismos, buenos y malos. El control del medio en fermentación alcohólica así como en fermentación maloláctica se ha convertido en la estrategia para prevenir los riesgos de desviaciones organolépticas y las paradas. La implantación de cepas de levaduras comerciales adaptadas actualmente está ampliamente difundida en el caso de la fermentación alcohólica. La eficacia tecnológica, sin embargo, no siempre está asegurada teniendo en cuenta la evolución de las condiciones enológicas. Dotar a las levaduras de mejores posibilidades de implantación pasa a través de una nutrición óptima.

2.4.1. Procesos de Fermentación

La fermentación alcohólica (denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (oxígeno - O₂), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: CH₃-CH₂-OH), dióxido de carbono (CO₂) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza, la sidra, el cava, etc. Aunque en la actualidad se empieza a sintetizar también etanol mediante la fermentación a nivel industrial a gran escala para ser empleado como biocombustible (JACKMAN E, 1991)

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO₂ como desechos consecuencia de la fermentación. Las levaduras y bacterias causantes de este fenómeno son microorganismos muy habituales en las frutas y cereales y contribuyen en gran medida al sabor de los productos fermentados. Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno (O₂), máxime durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico (Ferrer- Francesch 2004).

Bioquímica de la reacción de Fermentación

La glucólisis es la primera etapa de la fermentación, lo mismo que en la respiración celular, y al igual que ésta necesita de enzimas para su completo funcionamiento. A pesar de la complejidad de los procesos bioquímicos una forma esquemática de la reacción química de la fermentación alcohólica puede describirse como una glicólisis (en la denominada vía Embden-Meyerhof-Parnes) de tal forma que puede verse como participa inicialmente una molécula de hexosa:

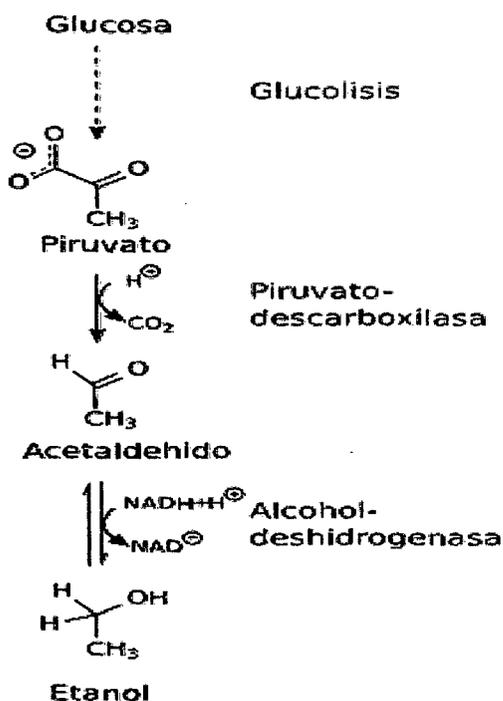
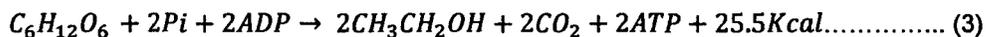


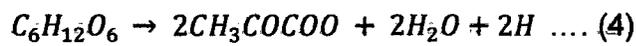
Figura 7. Glucólisis



Se puede ver que la fermentación alcohólica es desde el punto de vista energético una reacción exotérmica, se libera una cierta cantidad de energía. La fermentación alcohólica produce gran cantidad de CO_2 , que es la que provoca que el cava (al igual que el Champagne y algunos vinos) tengan burbujas. Este CO_2 (denominado en la edad media como gas vinorum) pesa más que el aire, y puede llegar a crear bolsas que desplazan el oxígeno de los recipientes donde se produce la

fermentación. Por ello es necesario ventilar bien los espacios dedicados a tal fin. En las bodegas de vino, por ejemplo, se suele ir con una vela encendida y colocada a la altura de la cintura, para que en el caso de que la vela se apague, se pueda salir inmediatamente de la bodega. La liberación del dióxido de carbono es a veces "tumultuosa" y da la sensación de hervir, de ahí proviene el nombre de fermentación, palabra que en castellano tiene por etimología del latín *fervere*. (Jackman E, 1991).

Si bien el proceso completo (vía *Embden-Meyerhof-Parnes*) descrito simplificado anteriormente explica los productos resultantes de la fermentación etílica de un hexano, cabe destacar que el proceso se puede detallar en una glicólisis previa gobernada por un conjunto de enzimas en la que se obtiene un piruvato tal y como se describe a continuación:



La reacción química se describe como la reducción de dos moléculas de Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) de NADH (forma reducida del NAD⁺) con un balance final de dos moléculas de ADP que finalmente por la reacción general mostrada anteriormente se convierten en ATP (adenosín trifosfato). Otros compuestos trazados en menores proporciones que se encuentran presentes tras la fermentación son: el ácido succínico, el glicerol, el ácido fumárico (Quizhpi. L, 2008)

En más detalle durante la fermentación etílica en el interior de las levaduras, la vía de la glucólisis es idéntica a la producida en el eritrocito (con la excepción del piruvato que se convierte finalmente en etanol). En primer lugar el piruvato se descarboxila mediante la acción de la piruvato descarboxilasa para dar como producto final acetaldehído

liberando por ello dióxido de carbono (CO_2) a partir de iones del hidrógeno (H^+) y electrones del NADH. Tras esta operación el NADH sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por el GADHP se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD^+ para la continuación de la glucólisis y sintetizando al mismo tiempo etanol. Se debe considerar que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen las levaduras tienden a morir. Esta es una de las razones fundamentales por las que las bebidas alcohólicas (no destiladas) no alcanzan valores superiores a los 20% de concentración de etanol. (Gutiérrez S, 2009)

Balance energético

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico exotérmico (libera energía) y moléculas de ATP necesarias para el funcionamiento metabólico de las levaduras (seres unicelulares). Debido a las condiciones de ausencia de oxígeno durante el bioproceso, la respiración celular de la cadena del ADP en ATP queda completamente bloqueada, siendo la única fuente de energía para las levaduras la glucólisis de la glucosa con la formación de moléculas de ATP mediante la fosforilación a nivel de sustrato. El balance a nivel molecular del proceso se puede decir que genera 2 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa. Si se compara este balance con el de la respiración celular se verá que se generan 38 moléculas de ATP. A pesar de ello parece ser suficiente energía para los organismos anaeróbicos. La energía libre de Gibbs (entalpía libre) de la reacción de fermentación etílica muestra un valor de ΔG de $-234.6 \text{ kJ mol}^{-1}$ (en un entorno de acidez neutra pH igual a 7) este valor negativo de la energía libre de Gibbs indica que: desde el punto de vista termodinámico la fermentación etílica es un proceso químico espontáneo (Gutiérrez S, 2009)

Limitaciones del Proceso

La determinación de los factores que limitan la glicólisis fermentativa del etanol son complejos debido a la interrelación existente y a la naturaleza de los parámetros intervinientes durante el proceso de fermentación. Algunos de ellos se deben tener en cuenta en la fermentación alcohólica industrial. En las limitaciones que surgen durante el proceso se pueden enumerar algunos de los más importantes como son:

- **Concentración de etanol resultante:** Una de las principales limitaciones del proceso, es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol (alcohol) que se llegan a producir durante la fermentación, algunos microorganismos como el *Saccharomyces cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta el 20% de concentración en volumen. En ingeniería bioquímica estos crecimientos se definen y se modelizan con las ecuaciones de crecimiento celular dadas por las ecuaciones de Tessier, Moser y de la ecuación de Monod (S Gutiérrez, 2009)

- **Acidez del sustrato:** El pH es un factor limitante en el proceso de la fermentación ya que las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3.5 a 5.5 pH. Los procesos industriales procuran mantener los niveles óptimos de acidez durante la fermentación usualmente mediante el empleo de disoluciones tampón. Los ácidos de algunas frutas (ácido tartárico, málico) limitan a veces este proceso (Quizhpi. L, 2008)

- **Concentración de azúcares:** La concentración excesiva de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad bacteriana. De la misma forma la baja concentración puede

frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar así como de la levadura responsable de la fermentación. Las concentraciones de azúcares afectan a los procesos de osmosis dentro de la membrana celular (Gutiérrez S, 2009)

- **Contacto con el aire:** Una intervención de oxígeno (por mínima que sea) en el proceso lo detiene por completo (es el denominado Efecto Pasteur). Esta es la razón por la que los recipientes fermentadores se cierran herméticamente (Quizhpi L, 2008)

- **La Temperatura:** El proceso de fermentación es exotérmico, y las levaduras tienen un régimen de funcionamiento en unos rangos de temperatura óptimos, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos. Si se expone cualquier levadura a una temperatura cercana o superior a 55 °C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. La mayoría cumple su misión a temperaturas de 30 °C (Gutiérrez S, 2009)

- **Ritmo de crecimiento de las cepas:** Durante la fermentación las cepas crecen en número debido a las condiciones favorables que se presentan en el medio, esto hace que se incremente la concentración de levaduras (Jackman E, 1991).

2.4.2. Factores de la Fermentación Alcohólica

A. Temperatura

La temperatura es un factor preponderante para la vida de las levaduras, no se desarrollan bien más que en una escala de temperaturas relativamente corta, hasta 30° C como máximo y por debajo de 13 ó 14° C el inicio de la fermentación de una vendimia es prácticamente imposible (Iza E, 2010)

B. Influencia de la Aireación

Las levaduras necesitan oxígeno para multiplicarse. En ausencia completa de aire, en un mosto se producen sólo algunas generaciones y su reproducción se detiene.

La rapidez del arranque de la fermentación depende de las condiciones de aireación. Generalmente con los trabajos previos a la fermentación (estrujado, despalillado, bombeo, etc.) se asegura una primera aireación útil para el arranque. La aireación se realiza bien por contacto continuo con el aire, por la operación de remontado (Iza E, 2010)

C. Remontado

Consiste en sacar mosto en fermentación a través de una espita colocada en la parte inferior de la cuba, dejándolo caer desde cierta altura a una cubeta o cubo. La fuerza de la caída produce una emulsión que facilita la disolución del oxígeno. El remontado se emplea para activar el trabajo de las levaduras, por lo cual debe realizarse al principio de la fermentación. Es recomendado en general hacer remontados preventivos, cuando las levaduras están en plena multiplicación, en la fase exponencial del crecimiento que corresponden a las primeras horas de la fermentación. En ese momento es cuando las levaduras pueden aprovechar el oxígeno que se les proporciona. (Gutiérrez S, 2009)

D. Influencia de la Acidez

Las levaduras hacen fermentar mejor los azúcares en un medio neutro o poco ácido. Una acidez débil puede convertir en muy graves las consecuencias de esa detención, pues las bacterias de enfermedades se desarrollan más fácilmente cuanto mayor es el pH. La acidez debe ser tal que no favorezca el desarrollo de las levaduras, pero que perjudique a las bacterias peligrosas en caso de cese de la fermentación. (Iza E, 2010)

2.5. Destilación

La destilación es una de las operaciones básicas más importantes de la industria química y que permite separar los componentes de una mezcla líquida al estado de sustancias puras. (Geankoplis, 1995)

La destilación es una operación unitaria que tiene por objeto separar, mediante vaporización, una mezcla de líquidos miscibles y volátiles en sus componentes. Esta separación se basa en aprovechar las distintas presiones de vapor de los componentes de la mezcla a una cierta temperatura.

El proceso de destilación es una de las operaciones unitarias más importantes en la industria química y del petróleo, aunque en la industria alimentaria también se utiliza, como es el caso de las industrias alcohólicas entre otras.

Cuando existe interacción entre las fases líquido y vapor, la destilación recibe el nombre de rectificación. En caso de que no se presente esta interacción, se la denomina destilación simple. En la rectificación, al interaccionar las fases, la gaseosa va enriqueciéndose en el componente más volátil, mientras que la líquida lo hace en el más pesado. Esta interacción entre las fases puede llevarse a cabo en etapas de equilibrio o mediante un contacto continuo.

Otros tipos de destilación, distintos a los mencionados, son por arrastre de vapor, destilación azeotrópica y extractiva. (Ibarz A et al, 2009)

La destilación es la operación de separar, comúnmente mediante calor, los diferentes componentes líquidos de una mezcla, aprovechando los diferentes puntos de ebullición (temperaturas de ebullición) de cada una de las sustancias a separar. La destilación se da en forma natural debajo del punto de ebullición (100 °C en el caso del agua), luego se condensa formando nubes y finalmente llueve. (Geankoplis, 1995).

De acuerdo con el diccionario (Valiente, 1990) la destilación es la operación cuyo fin es la separación de dos o más líquidos miscibles mediante la ebullición. Los vapores obtenidos se recuperan como producto deseable y se condensan. Los vapores condensados son más ricos en el líquido o líquidos más volátiles, mientras que los fondos, o líquidos remanentes, son más ricos en las sustancias menos volátiles.

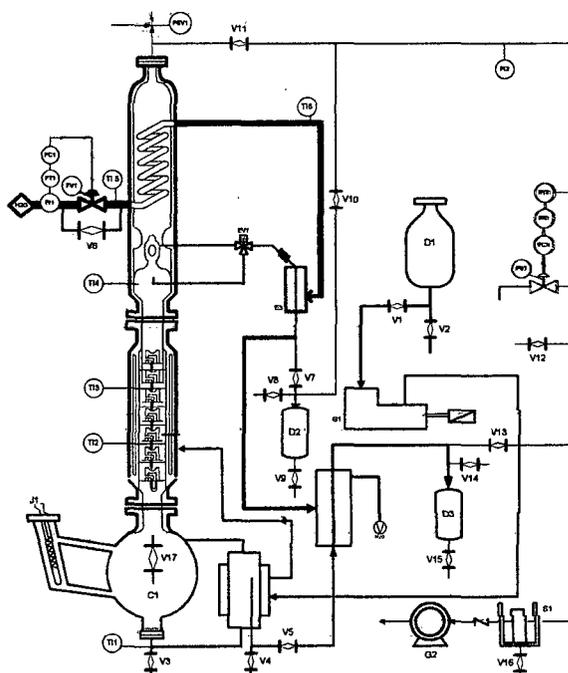


Figura 8. Unidad de destilación Continua

2.5.1. Relaciones de equilibrio

Para separar los componentes de una mezcla líquida por destilación es condición necesaria que la composición del vapor producido en la ebullición de la mezcla sea diferente de la composición del líquido de partida; por ello, el conocimiento de las relaciones de equilibrio entre ambas fases es esencial para la resolución analítica de los problemas de destilación, y los aparatos en los que se lleva a cabo esta operación han de suministrar un íntimo contacto entre el vapor y el líquido para que en el límite entre ambas fases se alcancen las condiciones de equilibrio (Ocon y Tojo, 1982).

2.5.2. Tipos de Destilación

A. Destilación Diferencial o Simple

Se usa para la separación de líquidos con punto de ebullición inferiores a 150° a presión atmosférica de impurezas no volátiles o de otros líquidos miscibles que presenten un punto de ebullición al menos 25° superior al primero de ellos. Para que la ebullición sea homogénea y no se produzcan proyecciones se introduce en el matraz un trozo de plato poroso

El aparato utilizado para la destilación en el laboratorio es el alambique. Consta de un recipiente donde se almacena la mezcla a la que se le aplica calor, un condensador donde se enfrían los vapores generados, llevándolos de nuevo al estado líquido y un recipiente donde se almacena el líquido concentrado. En la industria química se utiliza la destilación para la separación de mezclas simples o complejas. Una forma de clasificar la destilación puede ser la de que sea discontinua o continua. (Geankoplis, 1995).

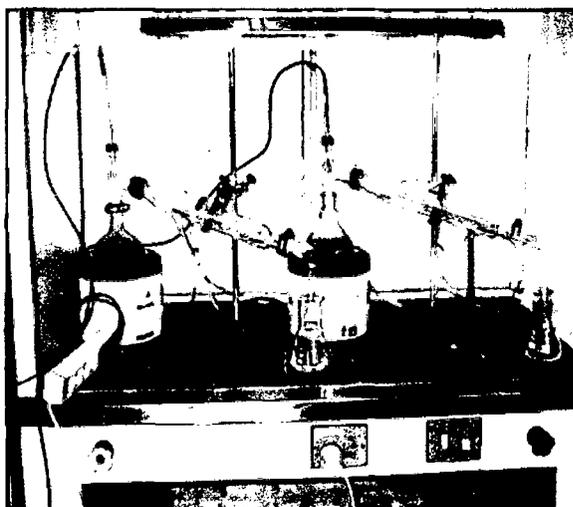


Figura 9. Destilación Simple

B. Destilación Fraccionaria

La destilación fraccionada es un proceso físico utilizado en química para separar mezclas (generalmente homogéneas) de

líquidos mediante el calor, líquidos que difieren de en menos de 25° en su punto de ebullición y con un amplio intercambio calórico y másico entre vapores y líquidos. Cada uno de los componentes separados se les denomina fracciones. Es un montaje similar a la destilación simple en el que se ha intercalado entre el matraz y la cabeza de destilación una columna que puede ser tener distinto diseño. Al calentar la mezcla el vapor se va enriqueciendo en el componente más volátil, conforme asciende en la columna. Algunos de los ejemplos más comunes son el petróleo, y la producción de etanol. (Ocon y Tojo, 1982).

La principal diferencia que tiene con la destilación simple es el uso de una columna de fraccionamiento. Ésta permite un mayor contacto entre los vapores que ascienden con el líquido condensado que desciende, por la utilización de diferentes "platos" (placas). Esto facilita el intercambio de calor entre los vapores (que ceden) y los líquidos (que reciben).

Ese intercambio produce un intercambio de masa, donde los líquidos con menor punto de ebullición se convierten en vapor, y los vapores de sustancias con mayor punto de ebullición pasan al estado líquido.

La única desventaja de la destilación fraccionada es que una gran fracción (más o menos la mitad) del destilado condensado debe volver a la parte superior de la torre y eventualmente debe hervirse otra vez, con lo cual hay que suministrar más calor. Por otra parte, el funcionamiento continuo permite grandes ahorros de calor, porque el destilado que sale puede ser utilizado para precalentar el material que entra. (Sansen, Vargas, 2009)

Cuando la mezcla está formada por varios componentes, estos se extraen en distintos puntos a lo largo de la torre. Las torres de destilación industrial para petróleo tienen a menudo 100 placas, con al menos diez fracciones diferentes que son extraídas en los puntos adecuados. Se han utilizado torres de más de 500 placas para separar isótopos por destilación. (Ocon y Tojo, 1982).

C. Destilación al Vacío

Esta técnica se emplea en la separación de líquidos con un punto de ebullición superior a 150°C. Como un líquido hierve cuando su presión de vapor iguala a la presión externa, se puede reducir el punto de ebullición disminuyendo la presión a la que se destila. (Sansen, Vargas, 2009)

Esta técnica se conoce como destilación a presión reducida o destilación al vacío. La destilación al vacío se utiliza cuando el líquido tiene un punto de ebullición excesivamente alto o descompone a alta temperatura. Por ejemplo, la anilina puede ser destilada a 100 °C extrayendo el 93% del aire del alambique. Este método es tan efectivo como la destilación por vapor, pero más caro. (Geankoplis, 1995).

Cuanto mayor es el grado de vacío, menor es la temperatura de destilación. Si la destilación se efectúa en un vacío prácticamente perfecto, el proceso se llama destilación molecular. Este proceso se usa normalmente en la industria para purificar vitaminas y otros productos inestables. Se coloca la sustancia en una placa dentro de un espacio evacuado y se calienta. (Geankoplis, 1995).

El condensador es una placa fría, colocada tan cerca de la primera como sea posible. La mayoría del material pasa por el espacio entre las dos placas, y por lo tanto se pierde muy poco. Es

un montaje muy parecido a los otros procesos de destilación con la salvedad de que el conjunto se conecta a una bomba de vacío o trompa de agua. En lugar de plato poroso se puede adaptar un capilar de vidrio u otro dispositivo semejante que mantenga la ebullición homogénea. (Geankoplis, 1995).

D. Destilación Azeotrópica

La destilación azeotrópica es una de las técnicas usadas para romper un azeótropo en la destilación. Una de las destilaciones más comunes con un azeótropo es la de la mezcla etanol-agua. Usando técnicas normales de destilación, el etanol solo puede ser purificado a aproximadamente el 95%.

Una vez que se encuentra en una concentración de 95/5% etanol/agua, los coeficientes de actividad del agua y del etanol son iguales, entonces la concentración del vapor de la mezcla también es de 95/5% etanol-agua, por lo tanto destilaciones posteriores son inefectivas. Algunos usos requieren concentraciones de alcohol mayores, por ejemplo cuando se usa como aditivo para la gasolina. Por lo tanto el azeótropo 95/5% debe romperse para lograr una mayor concentración. En uno de los métodos se adiciona un material agente de separación. Por ejemplo, la adición de benceno a la mezcla cambia la interacción molecular y elimina el azeótropo. La desventaja, es la necesidad de otra separación para retirar el benceno. (Ibarz A *et al*, 2009)

Otro método, la variación de presión en la destilación, se basa en el hecho de que un azeótropo depende de la presión y también que no es un rango de concentraciones que no pueden ser destiladas, sino el punto en el que los coeficientes de actividad se cruzan. Si el azeótropo se salta, la destilación puede continuar. Para

saltar el azeótropo, el azeótropo puede ser movido cambiando la presión. (Ibarz A *et al*, 2009)

Para lograr la concentración requerida para el etanol como aditivo para la gasolina se usan comúnmente tamices moleculares en la concentración azeotrópica. El etanol se destila hasta el 95%, luego se hace pasar por un tamiz molecular que absorba el agua de la mezcla, ya se tiene entonces etanol por encima del 95% de concentración, que permite destilaciones posteriores. Luego el tamiz se calienta para eliminar el agua y puede ser reutilizado. (Ibarz A *et al*, 2009).

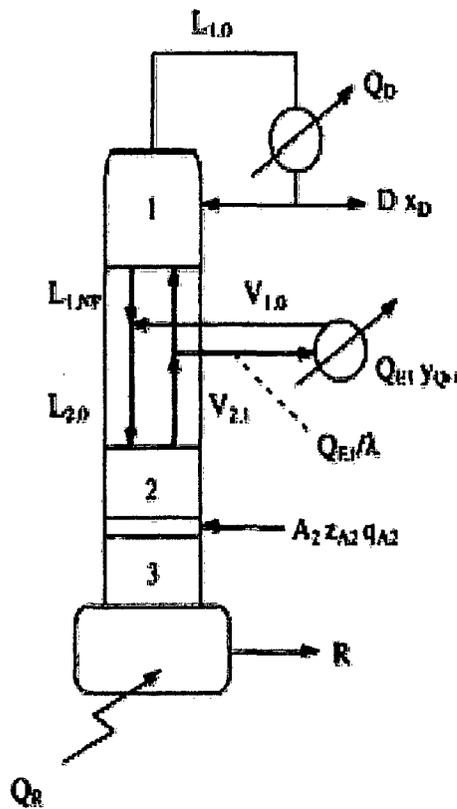


Figura 10. Destilación Azeotrópica.

2.5.3. Rectificación

La operación de rectificación consiste en hacer circular en contracorriente el vapor de una mezcla con el condensado procedente del mismo vapor, en un aparato denominado columna de rectificación (Ocon y Tojo, 1982).

Las partes esenciales de una columna de rectificación son: la columna propiamente dicha, que es donde se verifica el contacto íntimo entre el líquido y el vapor; el calderín, situado en la base de la columna en donde se hace hervir la mezcla a separar; y el condensador de reflujo situado en la cúspide de la columna, que se encarga de suministrar el líquido descendente para su contacto con el vapor (Ocon y Tojo, 1982).

Para lograr el íntimo contacto entre la fase líquida y vapor al objeto de establecer el intercambio de materia entre ambas fases, interesa que la superficie y el tiempo de contacto sean suficientes. En la práctica este contacto se logra con dos dispositivos diferentes: el de los platos de borboteo que retienen el líquido a través del cual se ve obligado a pasar el vapor, y el de los cuerpos de relleno, que llenan el interior de la columna verificándose el contacto entre fases sobre la superficie de estos cuerpos de relleno (Ocon y Tojo, 1982).

2.5.4. Columnas de platos

Para mezclas binarias, consideremos en primer lugar la rectificación en marcha continua, que corresponde al caso en el que los caudales de entrada y salida de la columna permanecen constantes. Designaremos F el caudal de alimentación, siendo D el del producto destilado, W el del producto de colas, y x_F , x_D y x_W sus composiciones respectivas (Ocon y Tojo, 1982).

Un balance total de materia, y otro aplicado al componente más volátil, lleva a:

$$F = D + W \quad \dots (5)$$

$$F_{XF} = D_{xD} + W_{xW} \quad \dots (6)$$

Para resolver estas dos ecuaciones es necesario conocer dos de las cuatro incógnitas (D , x_D , W , x_W), además de la cantidad y composición de la alimentación (F , x_F). Como dos de estas cuatro variables pueden fijarse arbitrariamente, es evidente que la rectificación de una alimentación determinada de composición conocida, puede dar lugar a productos de cabeza y cola en cantidades y composiciones diversas, que son función de los valores asignados a dos de las variables independientes (Ocon y Tojo, 1982).

Al efectuar el balance de materia anterior no hemos atendido al diseño de la columna de rectificación ni a las relaciones de equilibrio vapor-líquido de la mezcla a tratar. Para incluir tales relaciones consideremos dos secciones en una columna de rectificación que funcione en marcha continua: la sección superior o de rectificación situada por encima del plato de alimentación, y la sección inferior o de agotamiento, situada por debajo de aquel. Aplicando a cada una de estas secciones el balance de materia total y el referido al componente más volátil, numerando los platos o pisos de la columna en sentido descendente, e indicando el plato de que proceden como subíndice de los caudales del líquido, del vapor y de sus respectivas composiciones, tendremos (Ocon y Tojo, 1982):

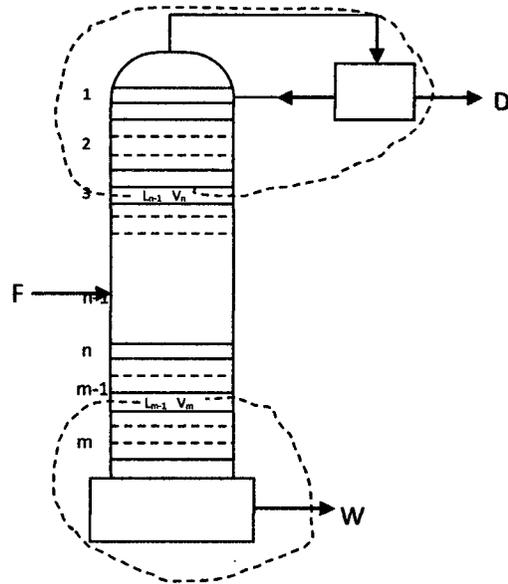


Figura 11. Esquema de una columna de platos

Para la sección superior (plato n):

$$\left. \begin{aligned} V_n &= L_{n-1} + D \\ V_n y_n &= L_{n-1} x_{n-1} + D x_D \end{aligned} \right\} y_n = \frac{L_{n-1}}{V_n} x_{n-1} + \frac{D}{V_n} x_D \quad \dots (7)$$

Para la sección inferior (plato m):

$$\left. \begin{aligned} V_m &= L_{m-1} - W \\ V_m y_m &= L_{m-1} x_{m-1} - W x_W \end{aligned} \right\} y_m = \frac{L_{m-1}}{V_m} x_{m-1} - \frac{W}{V_m} x_W \quad \dots (8)$$

Estas ecuaciones nos relacionan la concentración del vapor procedente de un piso con la del líquido que llega a él procedente del piso inmediatamente superior. En general, V_n y L_{n-1} varían a lo largo de la columna, y para determinar la relación entre ambos es necesario la aplicación de un balance entálpico al plato correspondiente. Para el plato n obtenemos:

$$V_{n+1}H_{n+1} + L_{n-1}h_{n-1} = V_nH_n + L_n h_n + \text{pérdidas} + \Delta H_m \quad \dots (9)$$

En donde H y h representan las entalpías específicas del vapor y el líquido procedentes del plato indicado por el subíndice correspondiente a la concentración en dicho plato, y ΔH_m es el calor de la mezcla. El cálculo exacto de este balance entálpico es difícil para la mayoría de las mezclas, y en la práctica hay que recurrir a cálculos aproximados, haciendo los supuestos siguientes:

- 1) No hay pérdidas de calor al exterior;
- 2) El calor de vaporización es constante e independiente de la composición;
- 3) No hay calor de mezcla.

Se deduce que tanto el caudal del líquido como el del vapor son constantes en cada una de las secciones de la columna; con estas simplificaciones la Ecs. (7) y (8) se transforman en:

$$y_n = \frac{L}{V} x_{n-1} + \frac{D}{V} x_D \quad \dots (10)$$

$$y_m = \frac{L'}{V'} x_{m-1} - \frac{W}{V'} x_W \quad \dots (11)$$

Estas relaciones nos permiten calcular el número de platos que ha de tener una columna para lograr una separación determinada, cálculo que podemos efectuar analíticamente siguiendo el método de Sorel y Lewis (Ocon y Tojo, 1982).

2.5.5. Reflujo Total y Reflujo Mínimo

Si en una columna de rectificación se aumenta la relación de reflujo, la pendiente de la recta operativa de enriquecimiento va aumentando hasta que para LD/D. La pendiente de ésta y la de todas las demás rectas operativas se hacen la unidad, y la construcción para el cálculo del número de pisos se realizará entre la diagonal y la curva de equilibrio, dando lugar al mínimo número de pisos necesarios para

llevar a cabo una separación dada, tal como se muestra en el grafico 02. (Albert Ibarz, *et al.*, 2009).

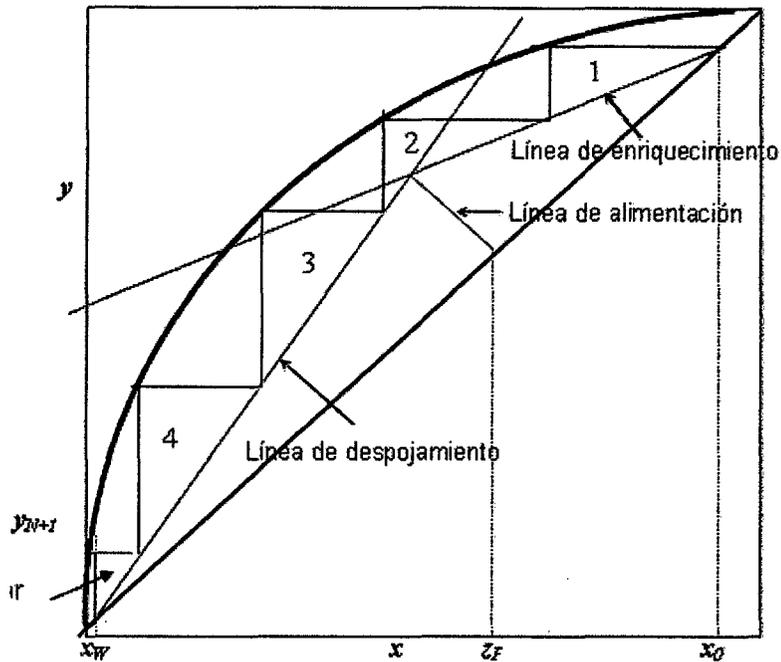


Grafico 1. Gráfico de Rectificación de McCabe

Este es un caso límite pues en estas condiciones no se extrae destilado ($D=0$) ni residuo ($R=0$); por tanto, no se puede alimentar la columna ($A=0$). Sin embargo, es un dato interesante para evaluar los límites de operación de una columna y permite determinar eficacias globales de la columna de rectificación. El caso del reflujo mínimo es algo más complejo de analizar.

Cuando una columna de rectificación trabaja a reflujo mínimo, en algún sector de la columna, una recta operativa corta a la curva de equilibrio. Esto supone que la composición de dicho punto de corte no se puede rebasar, necesiéndose infinitos pisos para conseguir la separación deseada. Para calcular el reflujo mínimo hay que localizar

aquél de todos los posibles mínimos que pueden encontrarse a lo largo de la columna, que corresponde a un valor más alto: de esta forma se asegura que, trabajando con una relación superior al mayor de los mínimos, la columna diseñada nunca se encontrará en condiciones de reflujo mínimo. Para localizar dicho reflujo mínimo, hay que calcular el mínimo correspondiente a cada sector de la columna. (Geankoplis, 1995).

$$y_{1,i+1} = \frac{L_{1,0}}{L_{1,0} + D} x_{1,i} + \frac{Dx_D}{L_{1,0} + D} \dots\dots\dots(12)$$

Por medio de se localiza la intersección de cada operativa con la diagonal, y trazando la recta que une este punto con el punto de corte de la recta para cada sector con la curva de equilibrio (sobre la recta q), se obtiene la recta que proporcionará el reflujo mínimo para cada sector.

De la Pendiente de esta recta se puede evaluar $(L1,0)k$, y aquella que proporcione el $(L1,0)k$ mayor será la que predomine y la selección de reflujo mínimo se hará según $MAX ((L1,0)k /D)$. El grafico 02 ilustra el procedimiento para una columna ejemplo (Ibarz A et al, 2009):

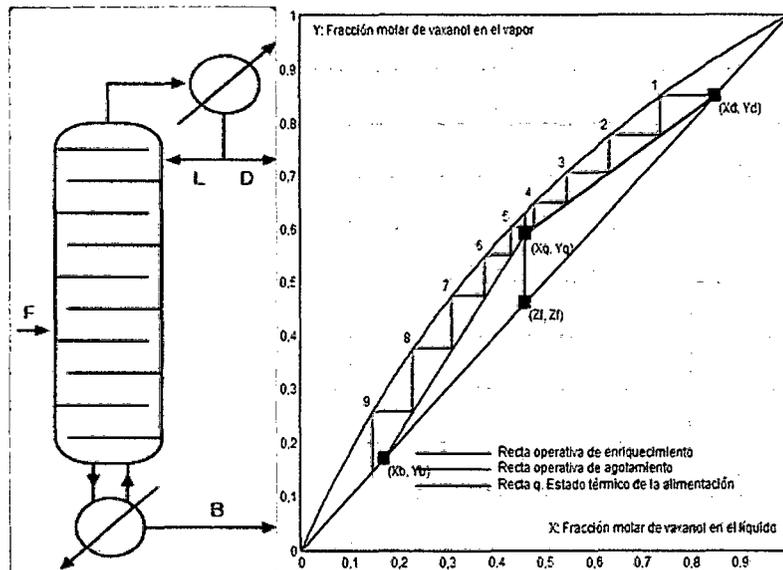


Grafico 2. Gráfico de Mc-Cabe para una Columna de Destilación

$$\frac{Dx_D - A_1 z_{A1}}{D - A_1}$$

$$m_1 = \frac{(L_{1,0})_1}{(L_{1,0})_1 + D}; m_2 = \frac{(L_{1,0})_2 + q_{A1} A_1}{(L_{1,0})_2 + D - (1 - q_{A1}) A_1}; m_3 = \frac{(L_{1,0})_3 + q_{A1} A_1 + q_{A2} A_2}{(L_{1,0})_3 + D - (1 - q_{A1}) A_1 - (1 - q_{A2}) A_2} \dots\dots\dots (13)$$

El reflujo mínimo se obtiene como:

$$(L_{1,0} / D)_{\min} = \text{MAX} [(L_{1,0})_1 / D, (L_{1,0})_2 / D, (L_{1,0})_3 / D] \dots\dots\dots (14)$$

2.6. Alcoholes

Los alcoholes son líquidos incoloros de baja masa molecular y de olor característico, solubles en el agua en proporción variable y menos a que ella. Al aumentar la masa molecular, aumentan sus puntos de fusión y ebullición, pudiendo ser sólidos a temperatura ambiente (p.e. el **pentaeritrol funde a 260 °C**). También disminuye la solubilidad en agua al aumentar el tamaño de la molécula, aunque esto depende de otros factores como la forma de la cadena alquílica. Algunos alcoholes (**principalmente polihidroxílicos y con anillos aromáticos**) tienen una densidad mayor que la del agua. Sus puntos de fusión y ebullición suelen estar muy separados, por lo que se emplean frecuentemente como componentes de mezclas anticongelantes. Por ejemplo, el 1,2-etanodiol tiene un punto de fusión de -16 °C y un punto de ebullición de 197 °C. (S. Gutiérrez, 2009)

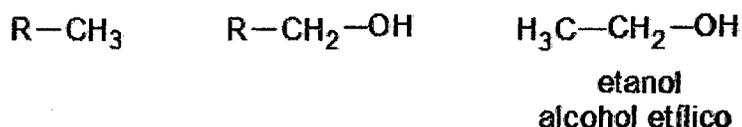
2.6.1. Propiedades químicas de los alcoholes:

Las propiedades químicas de los alcoholes están relacionados con el grupo **-OH**, que es muy polar y capaz de establecer puentes de hidrógeno con sus moléculas compañeras, con otras moléculas neutras, y con aniones.

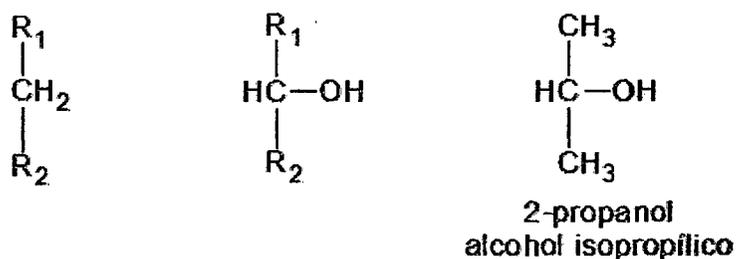
Los alcoholes son el grupo de compuestos químicos que resultan de la sustitución de uno o varios átomos de hidrógeno (H) por grupos hidroxilo (-OH) en los hidrocarburos saturados o no saturados. (Valiente, 1990)

2.6.2. Alcoholes primarios, secundarios y terciarios

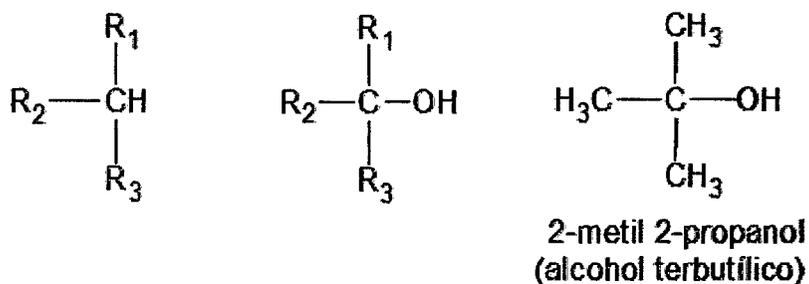
Un alcohol es primario, si el átomo de hidrogeno (H) sustituido por el grupo oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) primario:



Alcoholes secundario, si el átomo de hidrogeno (H) sustituido por el grupo oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) secundario:



y finalmente, es terciario, si el átomo de hidrogeno (H) sustituido por el grupo oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) terciario:



La función alcohol puede repetirse en la misma molécula, resultando monoles, o alcoholes monovalentes; dioles, o alcoholes bivalentes; trioles, o alcoholes trivalentes, etc.

Fórmula	Nombre	Clasificación
$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	1-propanol	monol
$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HC}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	1,2-propanodiol (propilen glicol)	diol
$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HC}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \end{array} $	1,2,3-propanotriol (glicerina)	triol

Figura 12. Fórmula química de Algunos alcoholes

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Ejecución.

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes ambientes:

- Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la Escuela de Agroindustria - Universidad Nacional del Santa
- Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Productos Agroindustriales de la Escuela de Agroindustria-Universidad Nacional del Santa.
- Laboratorios de Operaciones Unitarias Agroindustriales de la Escuela de Agroindustria-Universidad Nacional del Santa.
- Laboratorio de Análisis y Composición de Productos Agroindustriales de la Escuela de Agroindustria-Universidad Nacional del Santa.

3.2. Materiales y Equipos.

3.2.1. Materia Prima.

- Residuos Fermentables de Mango (Variedad: Kent)
- Agua destilada
- Levadura Liofilizada (saft-instant)

3.2.2. Materiales

- Fiolas de 25, 50 y 100 ml.
- Probeta de 50, 100 y 250 ml.
- Peras de decantación de 250 ml.
- Pipetas graduadas de 1, 2 y 5 ml (una para cada solución).
- Viales con tapa 2 ml.
- Pipetas Pasteur.
- Vasos Precipitados.
- Tubos tapa rosca.
- Pera succionadora.
- Crisoles de porcelana
- Tubos de centrifugación

- Tazones de plástico.
- Colador de plástico.

3.2.3. Reactivos

- Alcohol etílico, para cromatografía de gases, Merck.
- Hidróxido de sodio (90% p/p de pureza)
- Ácido sulfúrico (0.2 M)
- Fenolftaleína
- NaOH, lentes.
- Hexano, para cromatografía de gases, Merck.
- Metanol, para cromatografía de gases, Merck.
- Gas He UHP. Messer.
- Gas H_2 UHP, Messer.
- Aire Sintético 4.7, Messer.
- Ácido orto fosfórico
- Tartrato de Sodio y Potasio
- Hidróxido de Sodio (0.1N)
- Reactivo DNS

3.2.4. Equipos:

- Centrifuga. Marca: Sartorius AG. Modelo: Sigma 2-16pk.
- Balanza Analítica modelo AA-200, marca denverInstrumentCompany.
- Equipo Autoclave
- Equipo de Baño María, modelo N°: 18007 A-1CE, marca Aqua Bath.
- Incubadora, marca MMMERT.
- Espectrofotómetro, marca JASCO
- Estufa, marca MMMERT.
- Refractómetro
- pHmetro, modelo HI 9017, marca Hanna Instrument.
- Mufla, modelo 2-16, marca Thermoyne.
- Licuadora. Marca: Oster clásica. Modelo: 450-20.

- Cromatógrafo de Gas Shimadzu modelo 2010: Con detector de ionización de flama (GC-FID), equipado con columna capilar de Silice fundida PAG Restek, de carácter multipolar, con las siguientes dimensiones: (30 m de comprimido x 0.25 mm de diámetro interno). Se usara el Helio como gas de arrastre, gas de hidrogeno y aire, todos con alto grado de pureza (99.99 %).

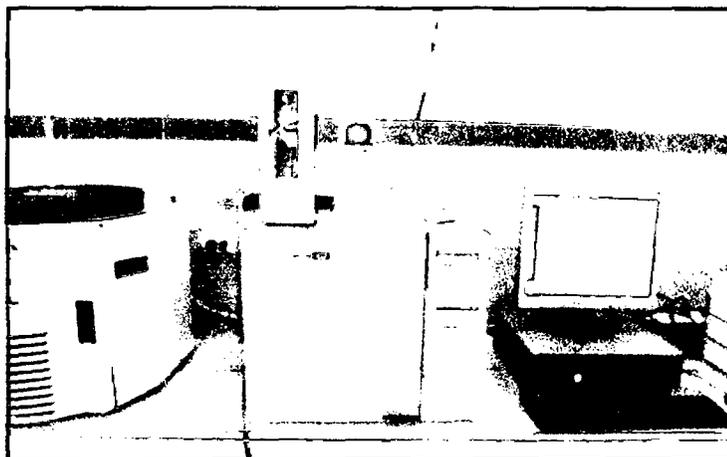


Figura 13. Cromatógrafo de Gases,

- Modulo para Destilación Simple

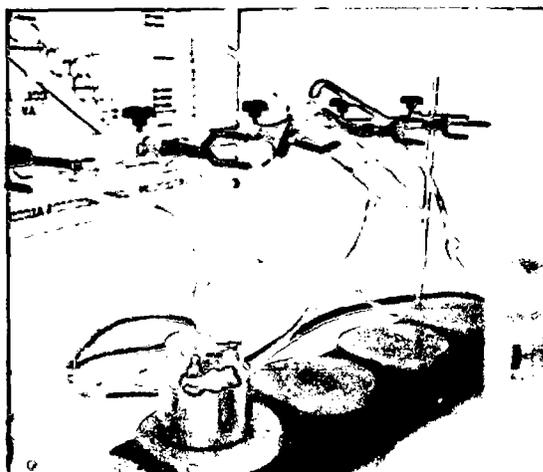


Figura 14. Destilador Simple

- Unidad de Destilación Continúa Automatizada mod. UDCA/EV.

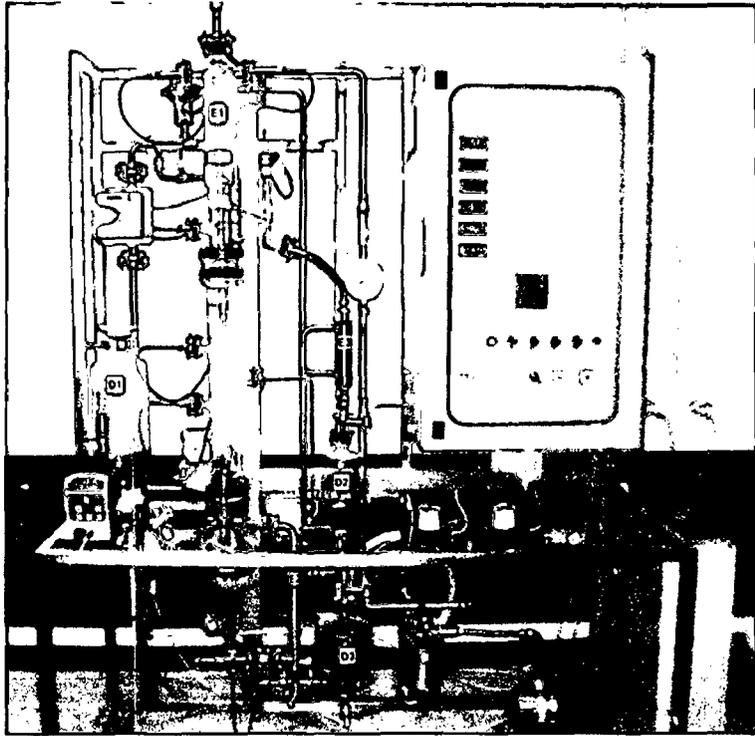


Figura 15. Unidad de Destilación Continua

- Bioreactor : Tanque de Fermentación (Capacidad: 2 Litros)

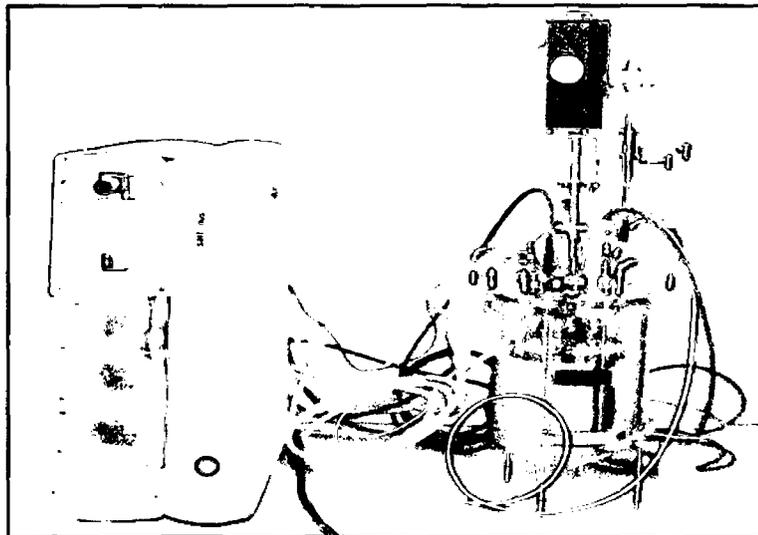


Figura 16. Bioreactor BIOSTAT

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Análisis Físico y Químicos de los Residuos Fermentables

3.3.1.1. Humedad

La humedad se determinó por secado y por diferencia de los pesos de acuerdo al método 934.06 (37.1.10) del A.O.A.C (1996).

$$\%H = \frac{P_m - (P_f - P_i)}{P_m} \times 100\% \quad \dots(16)$$

Dónde:

- %H: Humedad en porcentaje de masa.
- P_f : Peso final de la placa con la muestra.
- P_i : Peso de la placa vacía.
- P_m : Peso de la muestra.

3.3.1.2. Cenizas

Se determinó por incineración de la muestra a 650°C por 3 horas según A.O.A.C (1995) 942.05.

$$\%C = \frac{P_f - P_i}{P_m} \times 100\% \quad \dots(17)$$

Dónde:

- %C: Contenido de cenizas en porcentaje de masa.
- P_f : Peso final del crisol con las cenizas.
- P_i : Peso del crisol vacío.
- P_m : Peso de la muestra.

3.3.1.3. Índice de Acidez

Se determinó por Método de Titulación directa. La acidez total será determinada en las muestras utilizando un sistema de titulación, con Hidróxido de Sodio al 0.1N, utilizando como indicador fenoltaleína. Para cada una de las lecturas se introdujo 1 ml de la muestra en un vaso de precipitación para proceder a la titulación. Se registrara un valor de gasto para hacer virar de incoloro a rosado fuerte, además tenemos el dato de densidades de cada muestra, de esta manera se determinó la acidez total en base a ácido cítrico.

3.3.1.4. Contenido de Azúcares Reductores

Preparación del Reactivo DNS:

Se mezcla y disuelve en 250 ml. de agua destilada 8 gr. De NaOH y 15 gr. de tartrato de Sodio y Potasio. Posteriormente se agregan 5 gr. de Acido 3,5 dinotrasalicilico bajo calentamiento. Se aforan a 500 ml con agua destilada y se almacenan a temperatura ambiente protegiéndolo de la luz.

A. Curva Patrón de Azúcares Reductores

Utilizar un estándar de 1.0 mg/ml. de glucosa, realizar las diluciones para obtener concentraciones de **0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0**, Realizar una curva patrón de glucosa.

Extraer 1 ml de cada solución y colocar en un tubo de ensayo adicionando 1 ml de la solución DNS, agitar y llevar luego a ebullición por 10 minutos. Enfriar rápidamente y agregar 10 ml de agua destilada con previa agitación. Llevar la muestra al espectrofotómetro a 540 nm y leer su absorbancia.

B. Análisis de Muestra

Diluir 1 ml. de cada muestra en 100ml. de agua destilada en una probeta, luego extraer 1 ml de esta solución

en un tubo de ensayo adicionando un 1ml. de la solución DNS, agitar y llevar luego a ebullición por 10 min. Enfriar rápidamente y agregar 10 ml. (o 5 ml.) de agua destilada con previa agitación.

Llevar la muestra al espectrofotómetro a 540 nm y leer su absorbancia. Con este dato encontrado insertamos en la curva de calibración previamente construida y el resultado se lee como gramo de glucosa.

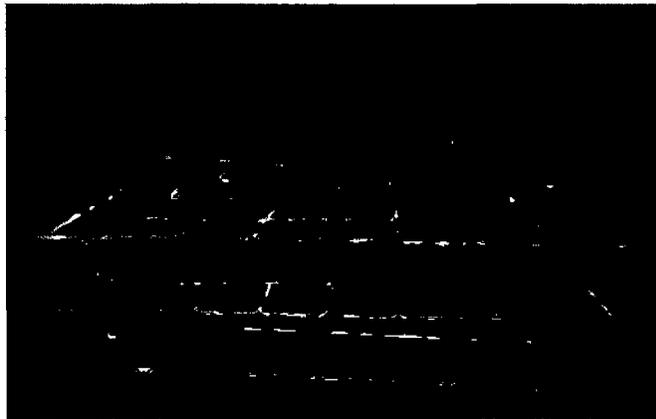


Figura 17. Determinación de Azucares Reductores

3.3.1.5. Determinación de la Densidad

La densidad será determinada en las muestras utilizando el método del picnómetro.

3.3.1.6. Grados Brix

Los grados brix serán determinados en las muestras utilizando un refractómetro ABBE, hecho en Polonia, Nr: 25790/91, el cual fue previamente calibrado con agua destilada. Para cada una de las lecturas se introdujo la muestra entre dos prismas. Se registrara un valor de grados Brix, para cada una de las muestras, expresados a un lugar decimal.

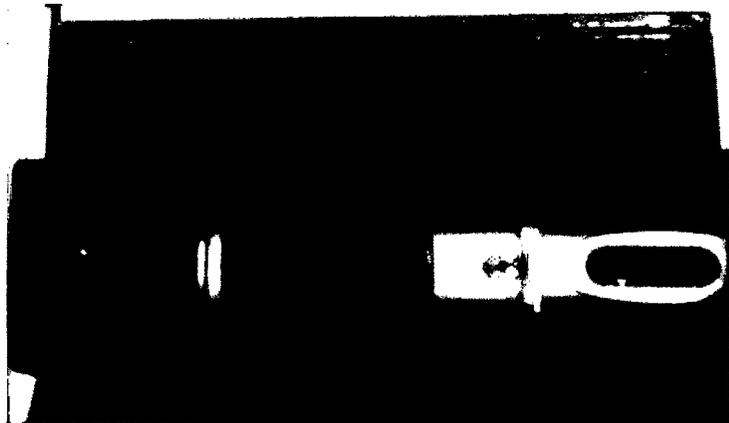


Figura 18. Refractómetro usado en la medición de grados Brix.

3.3.1.7. Determinación de pH

El pH será determinado en las muestras utilizando un potenciómetro portátil marca Hanna Instruments, el cual fue previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 4.00 y 7.00. Para cada una de las lecturas se introdujo el electrodo en la muestra cuya temperatura fue programada entre 20 - 25 °C. Se registró un valor de pH a cada una de las muestras expresados a dos lugares decimales.

3.3.1.8. Determinación de Grados Alcohólicos

Los grados alcohólicos serán determinados por cromatografía de gases. Para cada uno de las lecturas se utilizó 1 ml de la muestra para este análisis, diluido. Se halló un valor de grado alcohólico, para cada una de las muestras, expresados en porcentaje (%).

3.4. Descripción del proceso

3.4.1. Obtención de Residuos Fermentables de Mango

Los residuos fermentables de Mango se obtuvieron a partir de los desperdicios que se genera en la industria agroexportadora de Mango Congelado IQF variedad "Kent", proveniente de la Empresa CHAVIN DE HUANTAR S.A, ubicada en la Ciudad de Casma. A continuación se describen los pasos hasta la obtención del Mosto de Mango.

3.4.1.1. Recepción de los Residuos Orgánicos del Mango variedad "Kent"

Se recibió los residuos fermentables (cascara y pepas) y la pulpa de Mango de las mermas de proceso (pulpa de mango) obtenidos directamente de la Industria de Mango Congelado "IQF", proporcionados por la Empresa Agrícola y Ganadería Chavín de Huantár S.A.



Figura 19. Residuos Fermentables de Mango obtenido en la Industria Agroexportadora de Mango IQF

3.4.1.2. Pesado

Se pesó la cantidad total de residuos orgánicos del Mango (cascara y pepa), así como la pulpa de las mermas del proceso, cuyo valor obtenido de residuos fue de 150kg, mientras que la

pulpa de las mermas fue aproximadamente 6kg. Esto se obtuvo de 270 kg de Mango.

3.4.1.3. Extracción de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Se realizó la extracción de la residuo fermentable (pulpa) adherida a la cascara y pepa con un cuchillo, retirándose así la cantidad posible de Residuos Fermentables del Mango cuyo valor obtenido fue 12 kg, que representa el 8% aproximadamente de los residuos orgánicos del Mango. Esta pulpa se mezcló con los 6 kg de pulpa (obtenido de la merma de proceso del Mango Congelado IQF), obteniéndose en total 18kg de Residuo Fermentable (Pulpa) de Mango. A nivel industrial este proceso se podrá realizar con la ayuda de un Pulpeadora.



Figura 20. Extracción de Residuos Fermentables de Mango

3.4.1.4. Licuado de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Se realizó el mezclado de la pulpa con la ayuda de una licuadora, obteniéndose los residuos fermentables en forma líquida, dándonos un total de 18 Litros.

3.4.1.5. Separación de Fibra de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Esta etapa se realizó con la ayuda de un colador, con la finalidad de eliminar las fibras que contenía y así obtener un mosto homogéneo; a fin de que estas no influyan negativamente en la obtención de bioetanol; estas operaciones se realizaron manualmente.

3.4.1.6. Pasteurizado de los Residuos Fermentados del Mango variedad "Kent"

Una vez extraído el jugo se depositaran en envases plásticos con una capacidad de 20 litros, los cuales se encontraran previamente lavados con agua caliente. Para garantizar la esterilidad del mosto se llevara el mosto a una temperatura de 70°C por 5 minutos, luego se le bajara a 30°C, de tal modo de realizar un choque térmico. Al mosto obtenido se realizó los análisis fisicoquímicos anteriormente mencionados.



Figura 21. Pasteurización de Mosto de Mango a 70°C.

3.4.1.7. Almacenamiento de los Residuos Fermentados del Mango variedad "Kent"

Una vez obtenido el Mosto, se le almacenó en una refrigeradora a $T^{\circ} = 5^{\circ}\text{C}$, a fin de poder utilizar posteriormente en la Fermentación.

3.4.2. Determinación de las Condiciones Óptimas de Fermentación

Para encontrar las condiciones óptimas tanto para la fermentación del mosto así como para las operaciones posteriores a esta (destilación), se determinará la cantidad de agua adicionada al mosto y la concentración de Levadura óptima.

En la tabla siguiente, se presenta la nomenclatura utilizada para designar a cada uno de los sistemas con los cuales se trabajó durante la determinación de las condiciones óptimas para la fermentación del jugo (mosto) de los residuos fermentables del Mango para la obtención del etanol.

Tabla 2. Relación A-M (agua-mosto).

Levadura (gr/L)	Relación Agua : Mosto
0.1%	0:100 (0)
	35:65 (0.5)
	50:50 (1)
0.2%	0:100 (0)
	35:65 (0.5)
	50:50 (1)

Fuente: Elaboración Propia

Para obtener la cantidad de agua adicionada al mosto, se realizó la fermentación de la siguiente forma: al mosto filtrado se le agregó agua en tres proporciones diferentes: al 0, al 0.5 y al 1. Asimismo, para eliminar los microorganismos indeseables en la mezcla mosto-agua, ésta se calentara a una temperatura aproximada de 70-73 °C, y enseguida se dejó enfriar hasta los 40 °C.

Activación de Levadura

Se pesó 3 gr de Levadura *Sacharomyces Cerevisae* en una placa Petri, previamente esterilizada, y se le inoculo en 100ml de Mosto, y fue llevado a una Incubadora por espacio de 30 a 45 minutos.

Inoculación de Levadura

Enseguida cada mezcla se transfirió al Bioreactor de fermentación (recipiente de plástico), donde se le agregó el inculo de levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*), según las diferentes concentraciones de trabajo: 0.1 y 0.2%.

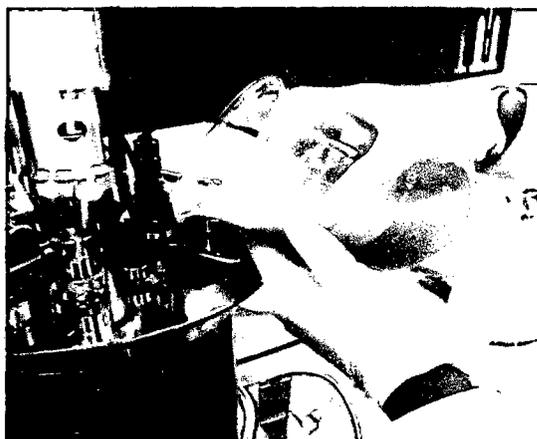


Figura 22. Inoculación de Mosto de Mango con inculo de Levadura *Saccharomyces Cerevisiae*

Posteriormente la mezcla mosto-agua-microorganismo de cada uno de los sistemas fue aireada (la aireación se llevó a cabo mediante adición de O₂) durante dos horas, esto con la finalidad de aumentar la concentración de oxígeno disuelto en el medio, la cual es esencial para el desenvolvimiento de las levaduras.

Fermentación del mosto.

Por último, se inició la fermentación del mosto utilizando la cantidad de levadura estimada (0.1 y 0.2%) y trabajando en base a tres proporciones de agua con respecto al mosto (0, 0.5 y 1). La temperatura se mantuvo en el intervalo de 29 a 31 °C, ya que en el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* se tiene un desarrollo óptimo entre 28 a 35°C, recomendable 30 °C. A lo largo de la fermentación del mosto, se tomaran muestras a ciertos intervalos de tiempo, a las que se

les determinó la cantidad de azúcares reductores totales. La determinación de azúcares reductores totales se realizara con el objetivo de saber en qué momento detener la fermentación y por lo tanto proceder a la destilación del mosto, es decir cuando el contenido de azúcares en el mosto se ha agotado; ya que los azúcares son la fuente de alimentación de los microorganismos y por lo tanto, determinan el rendimiento de etanol.

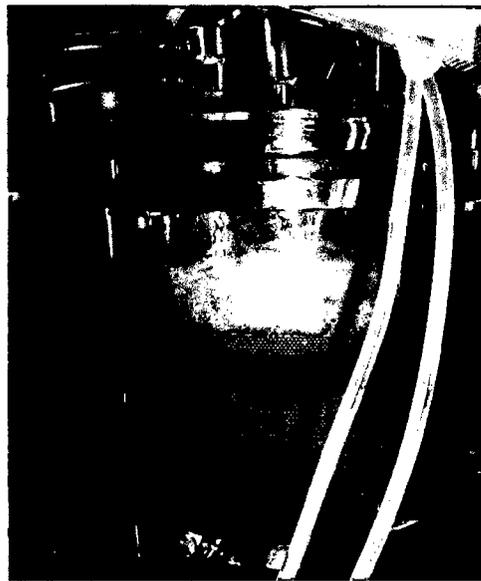


Figura 23. Fermentación del Mosto de Mango en Bioreactor.

3.4.3. Determinación de las Condiciones Óptimas de Destilación

Una vez detenida la fermentación del mosto se determinó la concentración final de etanol en cada una de los tratamientos estudiados, así como el rendimiento en azúcares reductores, y el volumen de fermentado, con la finalidad de determinar los mejores parámetros de fermentación Mango de Mosto teniendo como variables independientes: concentración de Levadura (0.1 y 0.2%), Relación Agua: Mosto (0, 0.5 y 1); mencionadas anteriormente.

Una vez seleccionado el mejor tratamiento, se llevó a cabo la centrifugación a 4500 rpm por 20 minutos y posteriormente la

destilación del misma (a condiciones de trabajo antes mencionadas), con la finalidad de determinar los parámetros óptimos de destilación rectificada en continuo, en la UDCA/EV; teniendo como variables independientes: flujo de alimentación (3, 4 y 5 L/h), razón de reflujo (0.2, 0.5 y 0.8); variable dependiente: concentración de alcohol del destilado. Las muestras obtenidas de las destilaciones del mosto se almacenaron en refrigeración hasta su posterior análisis por cromatografía de gases.

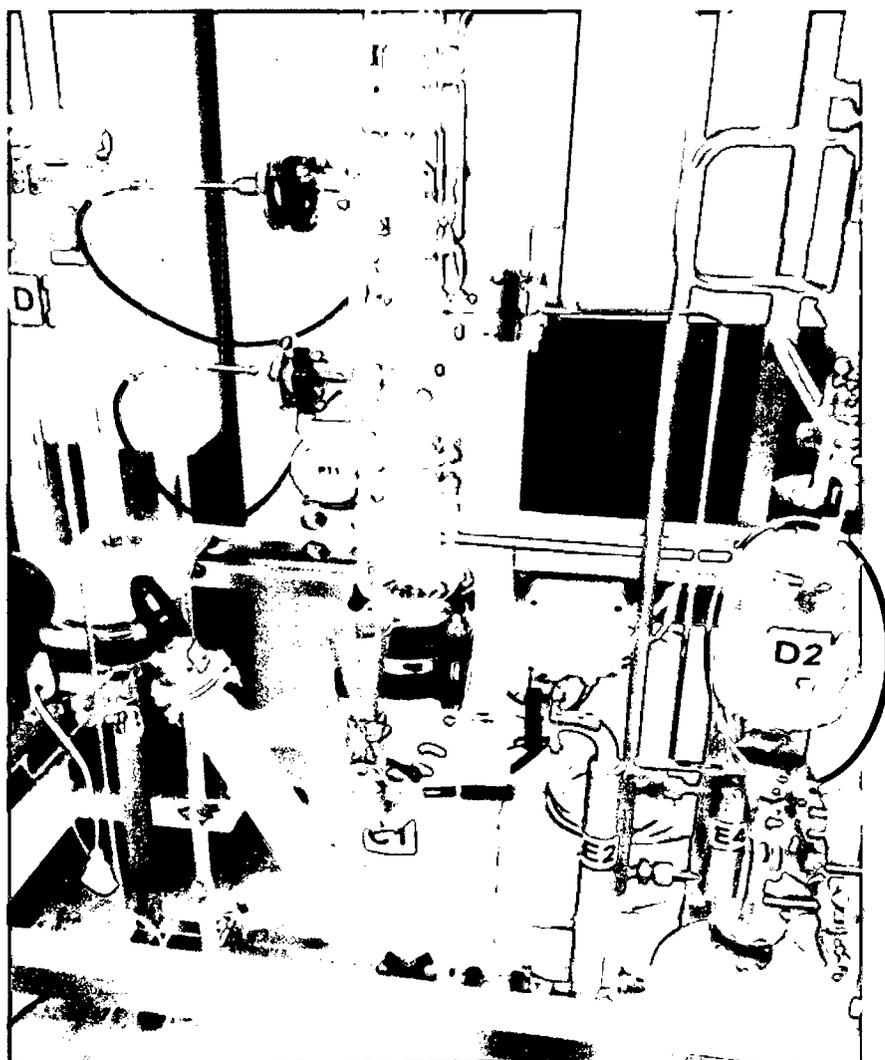


Figura 24. Destilación del Fermentado de Mango en la unidad de destilación continua mod. UDCA/EV.

A. Metodología para la Puesta a puntos del sistema de utilización de la Unidad de Destilación Continua

- Cerrar las válvulas V2, V3, V6, V8, V14, V12, V15 y V9.
- Abrir las válvulas V1, V5, V7, V10, V11 y V13.
- Llenar el depósito D1 con una mezcla binaria: agua y alcohol 96°
- Conectar la instalación a la red eléctrica.
- Situar el conmutador AUTO/MAN/PC en posición MAN.
- Activar el interruptor AUTO-DIFF.
- Presione el pulsador "Start".
- Conectar la descarga del agua a la red de desagüe
- Conectar la instalación a la red hídrica y fijar el caudal en 150l/h, actuando sobre la válvula V6.
- Poner en marcha la bomba dosificadora G1, conmutador en la posición 1.
- Llenar la caldera hasta ahogar completamente la resistencia eléctrica.
- Parar la bomba G1.
- Situar el conmutador "regulación del recalentamiento" en posición 0.
- Situar el conmutador "regulación del reflujo" en posición 0.
- Llenar el separador S1 con hielo seco para evitar la entrada de vapores en el cuerpo de la bomba G2.
- Poner en marcha la bomba de vacío G2, conmutador en posición 1.
- Controle la presión usando la válvula V12.

B. Metodología para la Puesta en Marcha del Sistema para la utilización de la Unidad de Destilación Continua

- Situar el conmutador "regulación del recalentamiento" en posición 1.
- Girar en sentido dextrorso el potenciómetro de la resistencia eléctrica.
- Fijar el valor de la presión residual en el valor deseado.
- Llevar la disolución a ebullición.
- Dejar la columna en reflujo total durante aproximadamente 5 minutos.
- Poner en marcha la bomba G1.
- Alimentar por ejemplo 1lt/h.
- Poner el temporizador "START" en 2 segundos.
- Poner el temporizador "STOP" en 20 segundos.
- Situar el conmutador "regulación del reflujo" en posición 1.
- Para variar la alimentación aumentar o disminuir el número de impulsos de la bomba G1.
- Para aumentar o disminuir la razón de reflujo, variar los tiempos de intervención de los temporizadores en la válvula electromagnética EV1.
- Para tomar una muestra de destilado, proceder de la manera siguiente : cerrar las válvulas V7 y V10, abrir la válvula V8, coger una probeta Erlenmeyer y descargar el contenido del depósito D2 abriendo la válvula V9; para volver a crear el vacío cerrar las válvulas V9 y V8 y abrir las válvulas V10 y V7.
- Para tomar una muestra del producto de cola de la columna, proceder de la manera siguiente : cerrar las válvulas V5 y V13, abrir la válvula V14, coger una probeta Erlenmeyer y descargar el producto del depósito D3 abriendo la válvula V15; para volver a crear el vacío cerrar las válvulas V15 y V14 y abrir las válvulas V13 y V5.

3.4.4. Metodología para el Análisis Cromatográfico

3.4.4.1. Preparación de curvas patrón de Etanol.

Se preparó soluciones patrón para cada uno de los alcoholes superiores en concentraciones de: (0.2%, 0.6%, 1%, 1.4%) en solución etanol/agua (40:60 v/v), la cuantificación será realizada por interpolación de las curvas patrón. El patrón solo fue etanol.

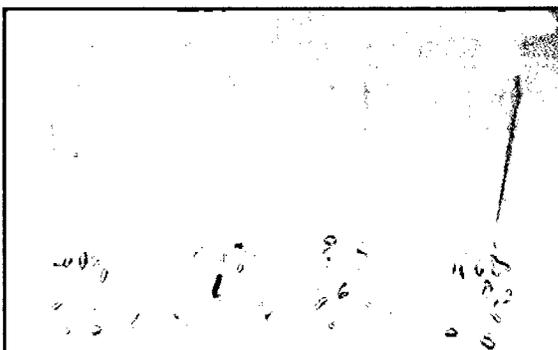


Figura 25. Muestra de Etanol a diferentes concentraciones para determinación Curva Patrón

3.4.4.2. Condiciones cromatográficas.

Las condiciones cromatográficas usadas serán las siguientes: temperatura del inyector 200°C; temperatura del detector 200°C, velocidad de gas de arrastre (He) a 30mL/min; flujo de hidrogeno 40.0mL/min; flujo de aire 399.8 mL/min; radio de división (split) de 300.



Figura 26. Muestra de Destilado analizadas en el Cromatógrafo de Gases

3.5. Diseño Estadístico:

3.5.1. Análisis Estadístico.

Hipótesis Estadística.

Hipótesis nula.

H₀: No existe diferencia significativa entre los tratamientos

Hipótesis alterna.

H₀: Al menos un tratamiento posee diferencia significativa

Decisión:

Se rechaza H₀, si $F_{cal} > F_{tab}$ o su equivalente como lo es $p\text{-valor} \leq \alpha$

Dónde: $\alpha = 0.05$ para ambos casos

Si $p < 0.05$, variables son significativas o,

Si $p > 0.05$, variables no significativas

3.5.1.1. Fermentación

Se llevará a cabo un análisis estadístico para las variables respuestas de la caracterización fisicoquímica de los residuos fermentables del mango, y de las diferentes relaciones mosto: agua. Se aplicaron análisis de varianza (ANOVA), para un Diseño Factorial 3x2, con 6 tratamientos con 12 experimentos. Los valores reportados para las variables evaluadas con la misma letra no son significativamente diferentes.

Variable dependiente: Concentración de Etanol Obtenido, pH, Azúcares Reductores, °Brix

Variable Independiente:

C_j : Concentración de Levadura (2 niveles j= 1,2)

C₁ : 1 gr/L

C₂ : 2 gr/L

R_k : Relación Agua: Mosto, (3 niveles k= 1,2,3)

R₁ : 0:100 (0%)

R₂ : 35:65 (0.5%)

R₃ : 50:50 (1%)

Unidad experimental: 2Lts de mosto (mezcla de agua con residuos fermentables de mango)

Cuadro 1. Diseño DCA con arreglo factorial para Fermentación

Relación Agua : Mosto	Levadura (gr/L)	Azúcares Fermentables (°Brix)
0:100	1	
35:65	1	
50:50	1	
0:100	2	
35:65	2	
50:50	2	

3.5.1.2. Destilación

El diseño estadístico que se va a usar consiste en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 3x3, es decir 9 tratamientos con 27 experimentos, cuyos resultados serán evaluados estadísticamente a fin de determinar las diferencias significativas entre ellos.

Variable dependiente: Concentración de Etanol, Rendimiento y Grado Alcohólico.

Variables Independientes:

F_j : Flujo de alimentación (3 niveles j= 1,2,3)

F₁ : 3 lt/h

F₂ : 4 lt/h

F₃ : 5 lt/h

R_k : Reflujo (3 niveles k= 1,2,3)

R₁ : 1/1

R₂ : 1/2

R₃ : 1/3

Unidad experimental: 4Lts de fermentado de residuos del Mango, variedad "Kent" (aproximadamente)

En este trabajo se va utilizar el programa Statgraphics® para optimización, el diseño a emplear es superficie de respuesta con una (1) variable de respuesta y dos (2) factores experimentales; y se empleara el diseño completamente al azar con arreglo factorial.

Cuadro 2. Diseño DCA con arreglo factorial para Destilación

Flujo de alimentación	Razón de reflujo	Concentración de Etanol
3	0.2	
3	0.5	
3	0.8	
4	0.2	
4	0.5	
4	0.8	
5	0.2	
5	0.5	
5	0.8	

3.5.2. Esquema de diseño experimental

3.5.2.1. Fermentación

Las actividades se dividen en 6 ensayos diferenciados por distintos tratamientos, con 2 repeticiones. Así para cada ensayo el diseño estadístico a emplear, consiste en una factorial de 2x3, con arreglo en un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde el primer factor corresponde a la Concentración de Levadura y el segundo Relación Agua : Mosto

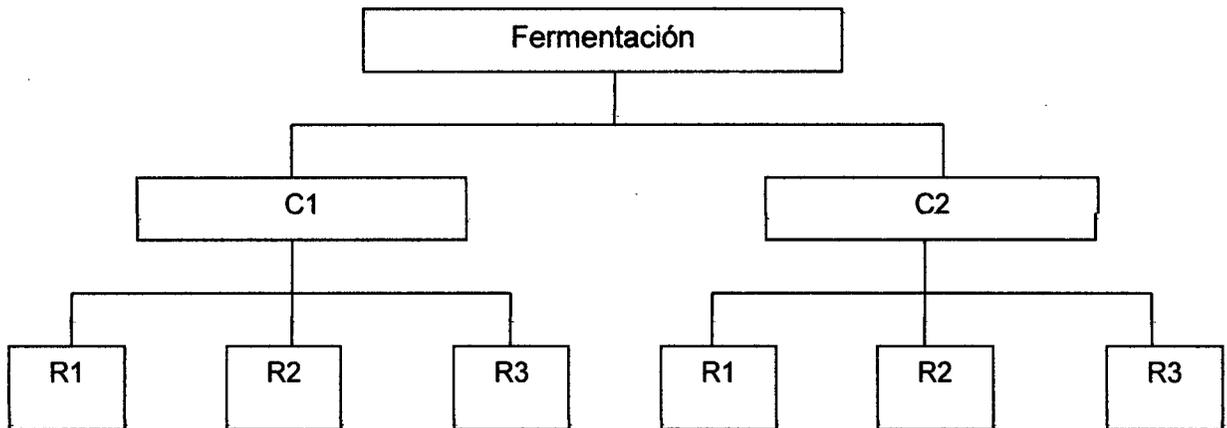


Diagrama 1. Esquema experimental para Fermentación

Factor (variable): C = Concentración de Levadura

C₁: concentración Levadura 0.1 % v/v

C₂: concentración Levadura 0.2 % v/v

Factor (variable): B = Relación Agua - Mosto

R₁: 0/1 (0:100)

R₂: 1/2 (35:65)

R₃: 1/1 (50:50)

a. Primera Etapa: Obtención de bioetanol Factorial 3x2 en DCA con r=1

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} es el rendimiento del bioetanol obtenido con el i -ésimo la concentración de Levadura j -ésimo Relación Agua : Mosto
- μ es el efecto de la media general
- A_i es el efecto del i -ésimo Concentración de Levadura

- B_j es el efecto del j -ésimo Relación Agua : Mosto
- $(AB)_{ij}$ es el efecto de la interacción en el i -ésimo concentración Levadura, j -ésimo Relación Agua : Mosto.
- ε_{ij} es el efecto del error experimental en el i -ésimo la concentración de Levadura, j -ésimo Relación Agua: Mosto.

3.5.2.2. Destilación

Las actividades se dividen en 9 ensayos diferenciados por distintos tratamientos, con 2 repeticiones. Así para cada ensayo el diseño estadístico a emplear, consiste en una factorial de 3x3, con arreglo en un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde el primer factor corresponde al Flujo de Alimentación y el segundo al Reflujo.

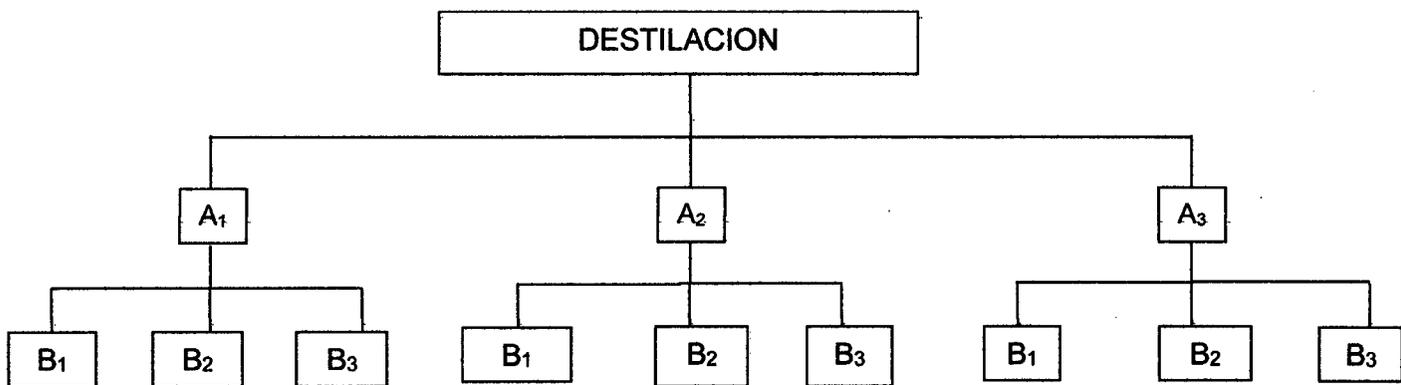


Diagrama 2. Esquema Experimental para Destilación

Factor (variable): A = Flujo de Alimentación

A₁: 3 Lt/h

A₂: 4 Lt/h

A₃: 5 Lt/h

Factor (variable): B = Reflujo

B₁: 0.2

B₂: 0.5

B₃: 0.8

b. Segunda Etapa: Destilación de bioetanol Factorial 3x3 en DCA con r=3

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} es el rendimiento del bioetanol obtenido con el i -ésimo la flujo de alimentación j -ésimo reflujo.
- μ es el efecto de la media general
- A_i es el efecto del i -ésimo flujo de alimentación
- B_j es el efecto del j -ésimo reflujo.
- $(AB)_{ij}$ es el efecto de la interacción en el i -ésimo flujo de alimentación, j -ésimo reflujo.
- ε_{ijk} es el efecto del error experimental en el i -ésimo flujo de alimentación, j -ésimo reflujo.

3.5.3. Diagrama de Flujo experimental

3.5.3.1. Obtención de Residuos Fermentables de Mango

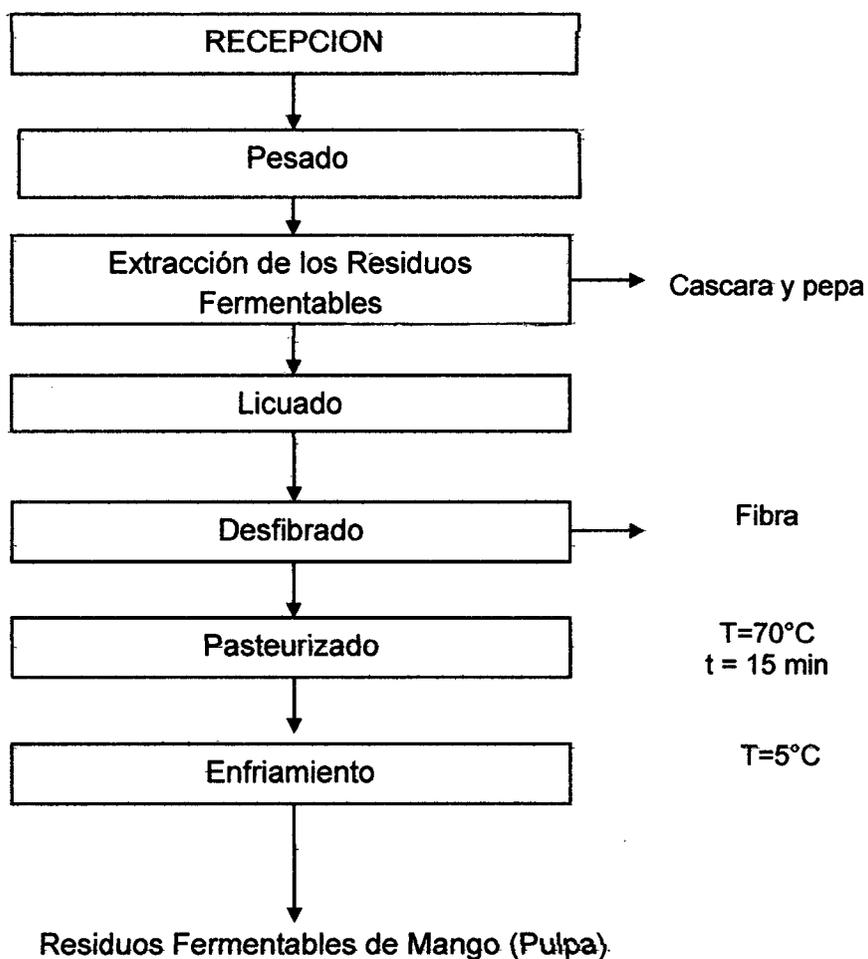


Diagrama 3. Diagrama de flujo de la obtención de Residuos Fermentables

3.5.3.2. Fermentación

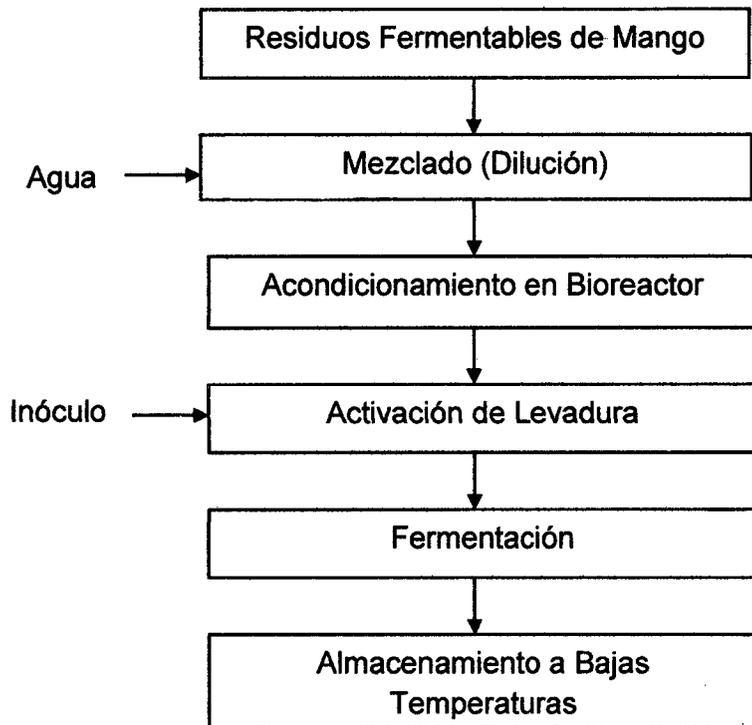


Diagrama 4. Diagrama de flujo de Obtención de Fermentado de Mango

3.5.3.3. Destilación

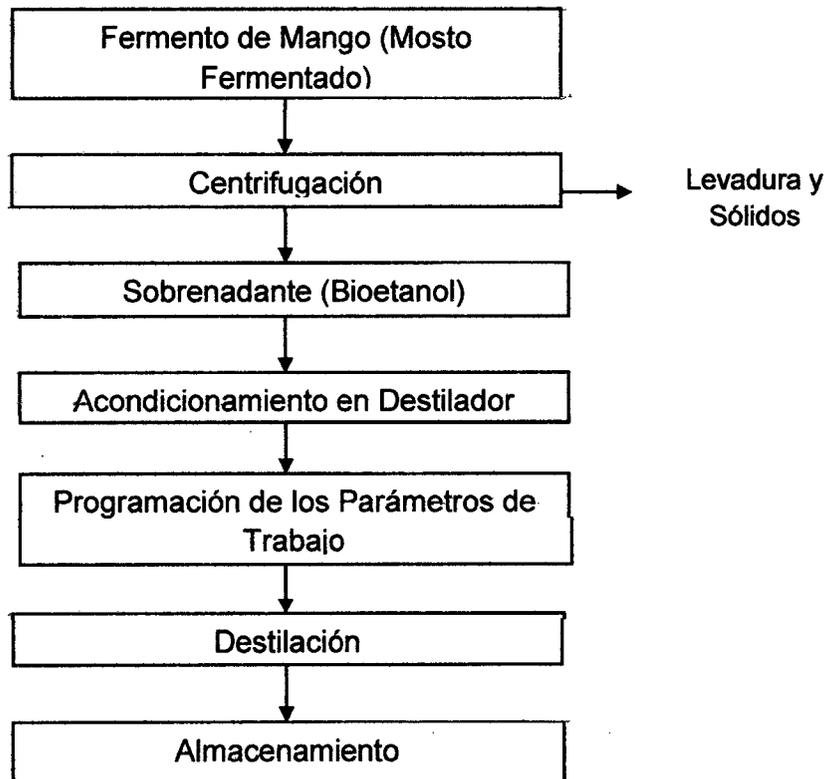


Diagrama 5. Diagrama de flujo de Obtención de Destilado de Bioetanol

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Característica Físicoquímica de la Residuos Fermentables de Mango:

Los resultados de los análisis físicoquímicos de los residuos fermentables de Mango (pulpa) se muestran en la Tabla N° 3:

Tabla 3. Caracterización físicoquímica de la materia prima

Análisis	Resultados
Humedad (%)	79 ± 2.1
Cenizas (%)	3.5 ± 0.1
Índice de Acidez (%)	0.5 ± 0.2
Viscosidad (mm ² /s)	64.32 ± 1.5
° Brix	17 ± 1.2
pH	4.02 ± 0.5
Densidad	1.02 ± 0.2

En la tabla se muestra el resultado obtenido para la humedad, el valor obtenido fue de 79%.

El resultado del contenido de humedad de los residuos fermentables (pulpa) estuvo próximo a la de la literatura en donde se reportó un valor de 81% para el mango. (USDA, 2006). El mango es una fruta con una humedad del 80%. (Sansen y Vargas, 2009)

El contenido de agua en un fermentado es importante porque está en proporción de la cantidad de sólidos (°Brix) y porque en fermentación es un medio que proporciona oxígeno, que es una fuente de alimentación de las levaduras. (Sansen y Vargas, 2009).

El valor promedio obtenido en esta investigación para el pH fue de 4.02%. El pH es un factor limitante en el proceso de la fermentación ya que

las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3.5 a 5.5 pH. Se procura mantener los niveles óptimos de acidez durante la fermentación usualmente mediante el empleo de disolución (Gutiérrez S, 2009).

La determinación del pH es uno de los procedimientos analíticos más importantes y más usados en ciencias tales como química, bioquímica y la química de suelos. El pH determina muchas características notables de la estructura y actividad de las biomacromoléculas y, por tanto, del comportamiento de células y organismos (Sansen L y Vargas F, 2009). El mango es una fruta con una pH entre 3.6 y 4.6 según ficha técnica del CEPICAFE. Por otro lado, este resultado es comparable con la de la bibliografía pH = 3.86 (Sansen L y Vargas F, 2009), similar al de este trabajo. Con respecto al pH se pueden observar que existen fluctuaciones, esto puede ser generado por diversos factores, principalmente a la actividad enzimática de las levaduras quienes degradan los agentes acidificantes, produciendo de esta manera un aumento del pH, o la producción de otros agentes acidificantes dentro de la reacción (Peynaud y Blouin 2004)

Asimismo el valor promedio obtenido para el contenido de cenizas fue del 3.5 % lo cual indica que en general hay presencia de minerales tales como, carbonatos provenientes de la materia orgánica. Este parámetro no tiene influencia directa en el proceso para la obtención del bioetanol, sin embargo, puede llegar a influir en su calidad ya que algunos de estos minerales, tales como calcio y magnesio, podrían formar incrustaciones en el sistema de inyección de combustible. (Galeano et al, 2011). Por otro lado, este resultado es comparable con la de la bibliografía donde el contenido de cenizas es 4.12% (Sansen L y Vargas F, 2009), similar al de este trabajo.

El valor promedio obtenido para el índice de acidez fue 4.5% (ácido cítrico). Este valor se encuentra fuera del intervalo recomendado (< 3 % en masa) para la obtención de bioetanol. (Galeano, et al., 2011)

El valor promedio obtenido para los Grados Brix fue de 17. Las levaduras fermentativas necesitan los azúcares para su catabolismo, es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales. El principal nutriente de las levaduras es el carbono, el cual es suministrado por los azúcares contenidos en la materia prima, siendo la concentración de azúcar un valor que se debe considerar ya que afecta la velocidad de la fermentación, el comportamiento y el desarrollo de las células de la levadura. Cuando se trabaja con concentraciones de azúcar muy altas, se observa una deficiencia respiratoria en la levadura y por lo tanto un descenso de la velocidad de fermentación. De la misma forma la baja concentración puede frenar el proceso. La deficiencia respiratoria se debe al efecto inhibitorio por sustrato, el cual tiene efecto sobre la velocidad específica de crecimiento de las células de levadura. (Gutiérrez S, 2009). El mango para la industria requiere de un valor mínimo de sólidos solubles (°Brix) de 13,5% (CODEX, 2005)

Para los zumos de fruta, un grado Brix indica cerca de 1-2 % de azúcar por peso; ya que los grados Brix se relacionan con la concentración de los sólidos disueltos (sobre todo la sacarosa) en un líquido, tienen que ver con la gravedad específica del líquido. La gravedad específica de las soluciones de la sacarosa también puede medirse con un refractómetro. Por su facilidad de empleo, los refractómetros se prefieren sobre los aerómetros marcados para la escala de Brix. (Sansen L y Vargas F, 2009).

En la Tabla N° 4 y 5 se muestran los porcentajes correspondientes a pH y °Brix obtenidos en el proceso de fermentación alcohólica. Se puede observar una disminución de los grados Brix, debido al consumo de los azúcares fermentables por parte de las levaduras. Es importante señalar

que a partir de las 30 horas, los grados Brix se mantienen constantes, indicando que la fermentación ha cesado. En la gráfica N°3 y 4 se observa el comportamiento general del pH y °Brix del proceso de fermentación durante el experimento.

Así mismo se observó que el rendimiento de pulpa de los Residuos tanto en cascara como en pepa del Mango (% Recuperación de Pulpa de Mango), fue:

$$R = \frac{\text{Peso de pulpa de Mango}}{\text{Peso de Residuos Fermentables de Mango}} \times \frac{(100 - \%Hh)}{(100 - \%Hg)} \times 100$$

$$\%R = 7.8\%$$

Actualmente, si revisamos los reporte de producción de todas las empresas de Mango Congelado IQF, nos daremos cuenta que su RENDIMIENTO esta entre 42 a 46%, y según bibliografía el 46% del mango representan la cascara y pepa del Mango, por lo que verificamos que existe un % de Pulpa de Mango que se está desperdiciando (residuo), siendo este aproximadamente el 8%, el cual sirvió de Materia Prima para la Presente Investigación.

4.2. Determinación de las Condiciones Óptimas para la Fermentación del Mosto

4.2.1. Evaluación de la Fermentación Alcohólica del Mosto de Mango.

4.2.1.1. Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación

La medición del pH, se realizó en las tres relaciones de Agua: Mosto (0:100,35:65,50:50) para cada porcentaje de levadura (1gr/l, 2gr/l) durante todo el proceso de fermentación. Para esto, en cada intervalo de tiempo, se homogenizó el mosto mediante agitación y se efectuaba la medición respectiva del pH.

Cuadro 3. Concentraciones de Levadura y Relación Agua: Mosto de trabajo.

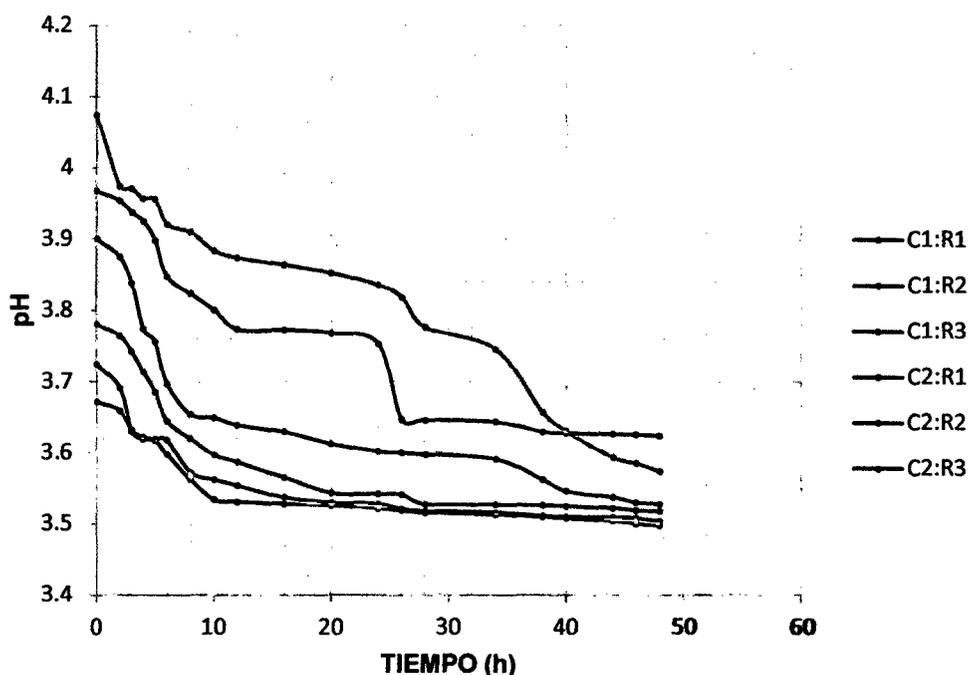
Concentración de Levadura		Relaciones de Agua: Mosto	
C1:	0.1%	R1:	10:100
C2:	0.2%	R2:	35:65
		R3:	50:50

Tabla 4. Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación.

Comportamiento de pH durante la Fermentación							
Muestra	Toma de Muestra (h)	C1 (1 gr/L)			C2 (2 gr/L)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0	3.672	3.901	4.075	3.725	3.968	3.781
2	2	3.659	3.875	3.974	3.691	3.954	3.764
3	3	3.632	3.838	3.971	3.63	3.938	3.742
4	4	3.622	3.774	3.957	3.619	3.925	3.714
5	5	3.619	3.756	3.956	3.617	3.898	3.685
6	6	3.618	3.697	3.921	3.598	3.848	3.645
7	8	3.572	3.654	3.91	3.562	3.824	3.62
8	10	3.562	3.649	3.884	3.534	3.801	3.597
9	12	3.554	3.639	3.874	3.531	3.774	3.587
10	16	3.537	3.629	3.864	3.528	3.772	3.565
11	20	3.53	3.613	3.853	3.526	3.769	3.544
12	24	3.528	3.602	3.836	3.522	3.753	3.542
13	26	3.521	3.6	3.819	3.519	3.647	3.541
14	28	3.518	3.598	3.777	3.516	3.646	3.528
15	34	3.516	3.591	3.746	3.513	3.6435	3.527
16	38	3.511	3.562	3.657	3.51	3.6295	3.526
17	40	3.51	3.546	3.631	3.508	3.6280	3.525
18	44	3.509	3.537	3.593	3.504	3.6260	3.522
19	46	3.508	3.53	3.585	3.5	3.6255	3.519
20	48	3.504	3.528	3.574	3.498	3.6240	3.518

Fuente: Elaboración propia

Grafico 3. Comportamiento del pH durante el proceso de Fermentación.



Fuente: Elaboración propia

Cuanto más bajo el pH del medio, tanto menor el peligro de infección, pero si se trabaja con pH muy bajos la fermentación es muy lenta, ya que la levadura no se desarrolla de la forma conveniente. Según estudios se halló que el pH más favorable para el crecimiento de la *Saccharomyces Cerevisiae* se encuentra entre 4.0 – 5.0, con un pH de 4.5 para su crecimiento óptimo, aunque puede sobrevivir de 3.0 a 7.5 (Cenzano, 2013)

En la Grafico N° 3 se puede observar la descendencia del pH con respecto al tiempo de fermentación del mosto, registrado al inicio así como a lo largo de la fermentación. De esta figura, se puede observar como el pH inicial de 4.075 va disminuyendo lentamente a lo largo del proceso de fermentación hasta llegar a un pH de 3.504, a las 30 horas de fermentación. A mayor tiempo

de fermentación, la disminución del pH es lenta debido a que la concentración de azúcares es muy baja, por lo que su conversión a etanol es mínima, por lo tanto, al no haber cambios en la concentración de azúcares y etanol el pH se mantiene prácticamente constante. Entre los tratamientos se verificó que el tratamiento C1:R3, presenta valores más altos de pH, mientras que el tratamiento C2:R1, es el que presento valores más bajos de pH, esto está en relación del contenido de azúcares.

Hartelius, demostró que la acción del alcohol también depende de la cantidad de ácido formado. Así, la fermentación en una solución nutritiva sintética cesa a 25°C cuando se ha formado un 7,3 % de alcohol y, al mismo tiempo, el pH ha descendido a 2,3. Si, por otra parte, el pH se mantiene entre 3-4, la fermentación sólo: termina cuando se ha formado un 12,6% de alcohol; la reproducción cesa con el 8,5 % de alcohol. En el mismo trabajo se demostró, añadiendo levadura fresca a una serie de soluciones nutritivas con pH 4 y concentraciones alcohólicas crecientes, que la multiplicación sólo cesaba cuando estaba presente un 10% de alcohol, mientras que la fermentación terminaba a la concentración alcohólica del 12,6 %. La capacidad de multiplicación, pero no la capacidad fermentativa, se debilita, por tanto, en el curso de la fermentación. (Owen, 1991)

Los valores obtenidos de pH para cada mosto están entre los valores establecidos por Cenzano y Owen los cuales nos permiten establecer que en nuestros pruebas se trabajó con pH establecidos para la sobrevivencia y el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* y que a mayor tiempo de fermentación la disminución del pH es lenta debido a que la concentración de azúcares es muy baja, por lo que su conversión a etanol es mínima, por lo tanto, al no haber cambios en la concentración

de azúcares y etanol el pH se mantiene prácticamente constante.

4.2.1.2. Comportamiento de los °Brix durante el proceso de Fermentación

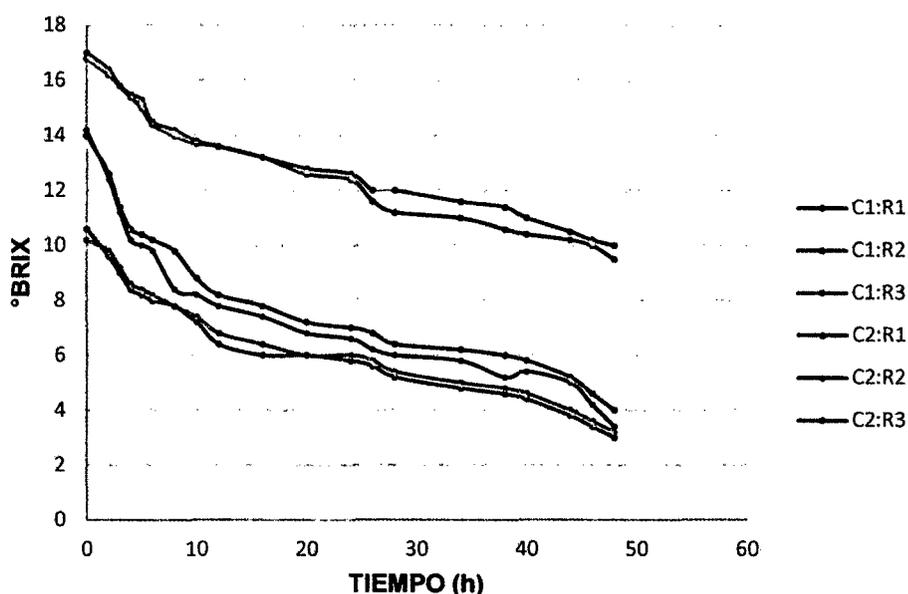
Para medir los grados Brix en todo el proceso fermentativo, se obtuvo de los fermentados pequeños volúmenes de muestras las cuales eran colocadas en el lente del refractómetro para la lectura correspondiente de los grados Brix expresados en la escala.

Tabla 5. Comportamiento de los ° Brix durante el proceso de Fermentación.

Comportamiento de los ° BRIX							
Muestra	Toma de Muestra (h)	C1 (1 gr/L)			C2 (2 gr/L)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0	17	14	10.2	16.8	14.2	10.6
2	2	16.4	12.6	9.8	16.2	12.4	9.6
3	3	15.8	11.4	9.2	15.8	11.2	9
4	4	15.5	10.6	8.6	15.4	10.2	8.4
5	5	15.3	10.4	8.4	15	10	8.2
6	6	14.5	10.2	8.2	14.4	9.8	8
7	8	14.2	9.8	7.8	14	8.4	7.8
8	10	13.8	8.8	7.4	13.7	8.2	7.2
9	12	13.6	8.2	6.8	13.6	7.8	6.4
10	16	13.2	7.8	6.4	13.2	7.4	6
11	20	12.8	7.2	6	12.6	6.8	6
12	24	12.6	7	6	12.4	6.6	5.8
13	26	12	6.8	5.8	11.6	6.2	5.6
14	28	12	6.4	5.4	11.2	6	5.2
15	34	11.6	6.2	5	11	5.8	4.8
16	38	11.4	6	4.8	10.6	5.2	4.6
17	40	11	5.8	4.6	10.4	5.4	4.4
18	44	10.5	5.2	4	10.2	5	3.8
19	46	10.2	4.6	3.6	10	4.2	3.4
20	48	10	4	3.2	9.5	3.4	3

Fuente: Elaboración propia

Grafico 4. Comportamiento de los ° Brix durante el proceso de Fermentación.



De la Tabla N° 5 se puede observar que la cantidad aproximada de sólidos solubles (°Brix) va disminuyendo gradualmente a lo largo del proceso de fermentación. Durante las primeras 12 horas, el consumo de los azúcares del medio es lento, esto se debe a que los microorganismos, en ese tiempo comienzan a reproducirse. Mientras que de las 16 a 34 horas, la disminución del °Brix fue más rápida, debido al metabolismo fermentativo del que se produce etanol. Después de las 34 horas, la disminución del °Brix fue muy lenta, ya que la presencia de azúcares en el medio es muy baja.

De los datos de la Grafico N° 4 podemos deducir que la mayor disminución de grados °Brix se da entre los días 12 y 36 horas, a partir de la 36 horas vuelve a ser lenta la disminución lo cual es correcto debido que a medida que el curso de la fermentación alcohólica avanza y la concentración de etanol aumenta la acción de las enzimas se ve frenada por este último factor (Hansen, 2000).

Hay que considerar que, como consecuencia del metabolismo, el pH del medio de cultivo suele tender a bajar durante el cultivo. El decremento del pH se puede deber a varios factores, uno de los cuales es la liberación de ácidos orgánicos de cadena corta (fórmico, acético, láctico). Por consiguiente, es necesario controlar el pH de los cultivos para evitar que un descenso excesivo pueda producir la auto esterilización del cultivo. (Hansen, 2000)

Asimismo, del Grafico N° 04, se puede verificar que en el fermentado con mayor concentración de Mosto (0:100), un medio rico en azúcares, pero con mayor viscosidad, existe una mayor cantidad de sólidos solubles (°Brix), esto debido a que existe una menor difusividad del O₂ en el medio, razón por la que se obtuvo al final una mayor concentración de azúcares residuales (ver Gráfico N° 06). Mientras que para el tratamiento que tenía una mayor dilución, se puede observar una mayor aprovechamiento de los azúcares, pero debido a que tenía una menor concentración de los mismos, la concentración de etanol resultante es baja. Por lo que se pudo verificar, que los mejores parámetros de trabajo se encontraban cuando se tenía una relación agua: mosto (35:65), pues se obtuvo una mayor concentración final de etanol.

4.2.1.3. Medición de Azúcares Reductores

La determinación de la concentración de los azúcares reductores presentes en el mosto, fueron determinadas al inicio y a lo largo de la fermentación.

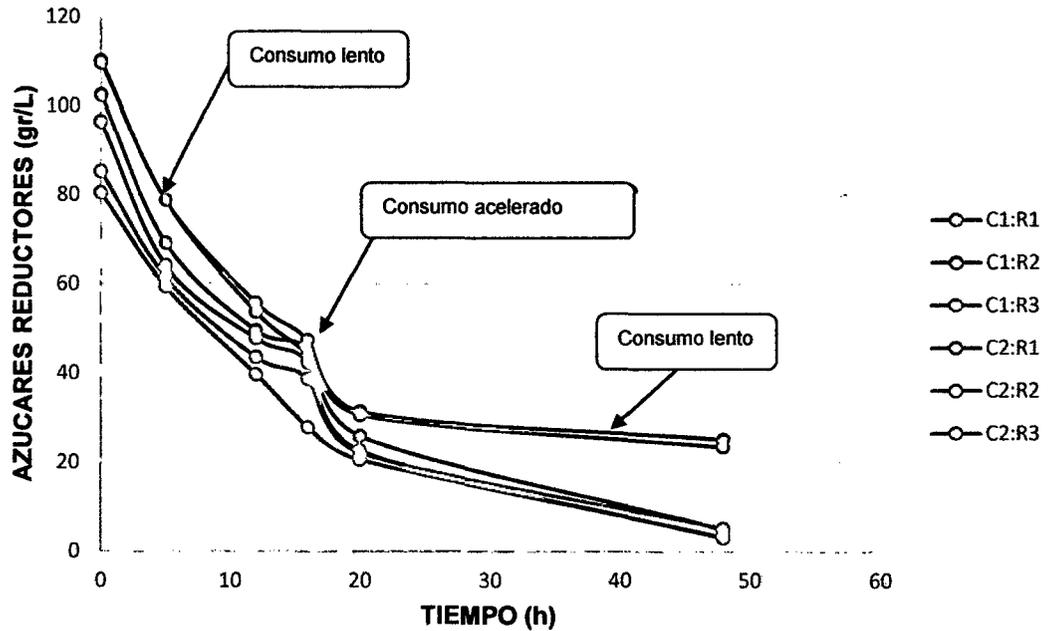
Tabla 6. Comportamiento de los AR a lo largo de la fermentación.

Comportamiento de Azúcares Reductores durante la Fermentación							
Muestra	Toma de Muestra (h)	C1 (1 gr/L)			C2 (2 gr/L)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0	102.2356	99.9462	95.2351	104.7746	100.5725	93.4413
2	5	78.8648	69.2355	61.5326	78.8649	64.2360	59.5523
3	12	55.7788	49.5627	43.5662	53.7297	47.7256	39.7426
4	16	47.4475	45.2146	38.7854	44.1325	42.4544	27.9412
5	20	31.4569	25.9824	22.3075	30.6951	22.7256	20.5953
6	48	25.1524	4.98339	5.21354	23.4565	3.0013	3.2581

De la Tabla N° 06, se puede observar que la concentración inicial de los en los mostos fue 102.235695 g/L, 99.9462354 g/L, 95.2351648 g/L, 104.7746 g/L, 100.5725 g/L, 93.4413 g/L respectivamente. Después de 16 horas de fermentación, la concentraciones fueron de 47.447 g/L, 45.214 g/L, 38.785 g/L, 44.132, 42.454, 27.941 de 44.345 g/L, la cantidad total de azúcares reductores consumidos a este tiempo de fermentación fue de 41.181 g/L, lo cual representa el 48% respecto a la concentración inicial.

Finalmente a las 46 horas, la concentración de los azúcares reductores fue 2.626 g/L, la cantidad total de azúcares reductores consumidos durante la fermentación fue de 82.9 g/L, lo cual representa el 97 % de la concentración inicial.

Grafico 5. Comportamiento de los Azúcares Reductores durante el proceso de Fermentación.



Del Grafico N° 5 se puede observar que la concentración de los azúcares reductores fue disminuyendo gradualmente a lo largo del proceso de fermentación. Durante las primeras 12 horas, el consumo de los azúcares reductores fue lento, esto se debe a que los microorganismos, más que a consumir los azúcares del medio de fermentación se reproducen. Es decir, en el grafico N° 5 se puede ver el consumo de sustrato en el medio de fermentación que comenzó rápidamente, motivo por el cual anteriormente se observó una insignificante fase de latencia. Vemos que el microorganismo metabolizó al sustrato, esto en parte se debió a las buenas condiciones iniciales que se tuvo tales como el pH óptimo, temperatura, buena aireación y por su puesto un rico medio de cultivo.

Mientras que de las 16 a 30 horas, el consumo de los azúcares fue más rápido, puesto que una vez reproducidos los microorganismos, llevan a cabo el metabolismo fermentativo del que se produce etanol. Finalmente se puede observar que después de las 30 horas, la fermentación fue muy lenta, ya que la concentración de los azúcares en el medio es muy baja.

Finalmente se puede observar que después de las 30 horas, la fermentación fue muy lenta, ya que la concentración de los azúcares en el medio es muy baja (Garay y colaboradores, 2004) La tendencia del comportamiento del perfil de concentración de los ART a lo largo de la fermentación del mosto en función del tiempo de fermentación presentado es muy similar a las reportadas por el autor citado anteriormente.

Según Kosaric, et al., 1987, refiere; En la fermentación por lotes, se cargan en el reactor el caldo de fermentación (sustrato) y una solución esterilizada previamente inoculada con los microorganismos. A lo largo de la fermentación suele añadirse algo de oxígeno (en forma de aire), agente antiespumante, ácidos o bases para controlar el pH, nutrientes (si se requieren) y antibióticos; asimismo se añade inóculo fresco si es necesario. La conversión de azúcares en un sistema por lotes simple es de 75-95% del valor teórico, con una concentración final de etanol de 10-16% en volumen. La productividad usual de procesos por lotes simples y convencionales es de 1.8-2.5 g de etanol por litro del volumen del fermentador por hora.

4.2.2. Análisis del Efecto de la Concentración de Levadura y Relación Agua: Mosto en el Proceso de Fermentación de los Residuos del Mango.

4.2.2.1. Evaluación del Efecto sobre la Concentración de Etanol Obtenido en la Fermentación.

Los resultados de la concentración de etanol se muestran en el cuadro N 04°

Cuadro 4. Concentración de etanol obtenido de 1.5 litros de Mosto de Mango.

MUESTRA	CONCENTRACION DE LEVADURA (%)	RELACION AGUA: MOSTO (%)	CONCENTRACION DE ETANOL PRODUCIDO (%)
1	0.1	0	3.95
2	0.1	0.5	4.68
3	0.1	1	2.95
4	0.2	0	4.25
5	0.2	0.5	5.25
6	0.2	1	3.15
7	0.1	0	3.45
8	0.1	0.5	4.5
9	0.1	1	2.85
10	0.2	0	4.15
11	0.2	0.5	5.35
12	0.2	1	3.05

En el cuadro N° 04, se muestra los resultados de las concentraciones de Etanol Obtenido al final de la Fermentación para los diferentes parámetros de trabajo (Concentración de Levadura: 0.1 y 0.2%; Relación Agua: Mosto: 0, 0.5 y 1), con una réplica. Asimismo, El análisis de varianza de los experimentos se muestra en el Cuadro N°11.

La concentración de los compuestos que se necesitan para el crecimiento es importante porque puede provocar una disminución de la tasa de crecimiento a causa de la alta presión osmótica del medio. Hemos visto que en el curso de la fase exponencial del crecimiento, las tasas de crecimiento eran independiente de la concentración de los distintos componentes del medio de cultivo. Por debajo de cierto nivel de concentración esto ya no es verdad. Si se cultiva un microbio en un medio sintético que tiene un exceso de todos los compuestos que necesita a excepción de uno, el crecimiento no se puede efectuar. Cuando se suministran los compuestos en cantidades pequeñas y variables de un ensayo a otro, la tasa de crecimiento permanece inferior a tasa máxima mientras la concentración no es suficiente, y aumenta al incrementar esa concentración. También algunos alcoholes superiores pueden ser utilizados como fuente de carbono y ser transformado en ácido láctico (Montaño Ortega. M, 1991); esto explica al tratamiento en el cual se obtuvo Mosto Puro (sin dilución) la presencia al final de la fermentación muchos azúcares residuales, producto de una mala concentración del medio, de la viscosidad y poca aireación del medio.

Otro factor importante a tener en cuenta en la fermentación es la Aireación, ya que contribuye considerablemente al adecuado crecimiento de los microorganismos. El oxígeno es especialmente necesario cuando se lleva a cabo una fermentación por lotes con altos niveles de azúcares que requieran un crecimiento prolongado de la levadura, o en procesos continuos, ya que la levadura es incapaz de crecer por más de cuatro o cinco generaciones en condiciones totalmente anaeróbicas (Kosaric et al, 1987, 603). Para ello, es necesario disponer de un sistema adecuado de agitación, de tal forma que haya un contacto permanente entre las células y el sustrato nutritivo; asimismo, es

importante desalojar el dióxido de carbono que se va produciendo, ya que en concentraciones relativamente pequeñas inhibe el crecimiento celular. Este factor influyó directamente en el crecimiento y en la producción de etanol, pues cuando se obtuvo un fermentado con mayor concentración (mosto puro), se observó un medio con mayor viscosidad, por lo que existe una menor difusividad del O₂ en el medio, razón por la que se obtuvo al final una mayor concentración de azúcares residuales. Mientras que para el tratamiento que tenía una mayor dilución, se puede observar un mayor aprovechamiento de los azúcares, pero debido a que tenía una menor concentración de los mismos, la concentración de etanol resultante era baja. Por lo que se pudo verificar, que los mejores parámetros de trabajo se encontraban cuando se tenía una relación agua: mosto (35:65), pues se obtuvo una mayor concentración final de etanol.

Cuadro 5. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evalúa la concentración de etanol.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Concentración de					
Levadura	0.6627	1	0.6627	21.72	0.0035
B:Relación Agua :					
Mosto	1.805	1	1.805	59.16	0.0003
AB	0.045	1	0.045	1.47	0.2702
BB	5.7624	1	5.7624	188.86	0.00001
Bloques	0.0645	1	0.0645	2.12	0.1961
Error total	0.1831	6	0.0305		
Total (corr.)	8.5227	11			

Fuente: Statgraphics Centurion

Del análisis estadístico mostrado en el Cuadro N° 5, se tiene que el valor de F para los factores Concentración de Levadura y Relación Agua: Mosto son altos lo que indica que son estadísticamente significativos, a un nivel de error del 5%, así mismo los valores de P menores a 0.0500 muestra que los variables A, B y BB son significativos.

Así mismo de este análisis se obtiene que $R^2 = 97.85$, lo cual es aceptable para determinar una respuesta significativa. De esta manera se ha definido la ecuación Final del Diseño Estadístico para la concentración en alcohol. Siendo:

$$\text{Concentración de Etanol} = 3.02 + 6.2 \cdot \text{Concentración de Levadura} + 5.38 \cdot \text{Relación Agua: Mosto} - 3.0 \cdot \text{Concentración de Levadura} \cdot \text{Relación Agua: Mosto} - 5.88 \cdot \text{Relación Agua: Mosto}^2$$

Cuadro 6. Coeficiente de regresión para concentración en etanol.

Coeficiente	Estimado
constante	3.02
A:Concentración de Levadura	6.2
B:Relación Agua : Mosto	5.38
AB	-3.00
BB	-5.88

Fuente: Statgraphics Centurion

En el cuadro N° 6, se puede observar los coeficientes de regresión para los diferentes variables de estudio: A: Concentración de Levadura, y B: Relación Agua: Mosto, los cuales nos dan la ecuación que modela el comportamiento de la Concentración de Etanol Producido.

En el Grafico N° 6 se muestra como la concentración de Levadura y la Relación Agua: Mosto afecta a la Concentración de Etanol, así a medida que la concentración de Levadura aumenta, la Concentración de Etanol aumenta, asimismo la Concentración de Etanol aumenta cuando la Relación Agua: Mosto es aprox. 50%, al disminuir y aumentar esta Relación Agua: Mosto, Concentración de Etanol la disminuye.

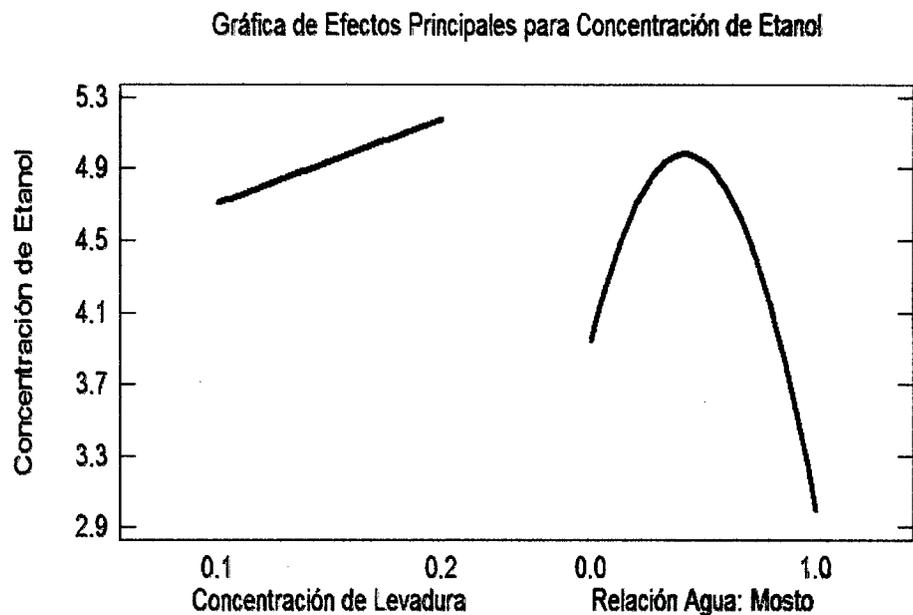


Grafico 6. Efecto de la interacción de la concentración de levadura y la relación agua: mosto para la concentración de etanol.

En la Grafica N°7, muestra que la interacción de la la concentración de Levadura y la Relación Agua: Mosto influye Concentración de Etanol, siendo así que para una Relación Agua: Mosto al 50%, Concentración de Etanol aumenta, al utilizar una concentración de Levadura al 0.2%.

Gráfica de Interacción para Concentración de Etanol

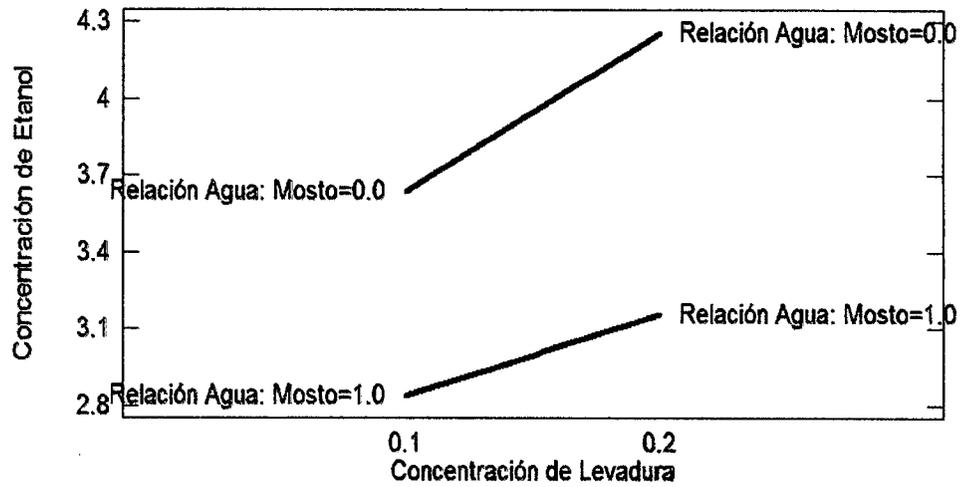


Gráfico 7. Efecto de la interacción de la concentración de levadura y la relación agua: mosto para la concentración de etanol.

Contornos de la Superficie de Respuesta Estimada

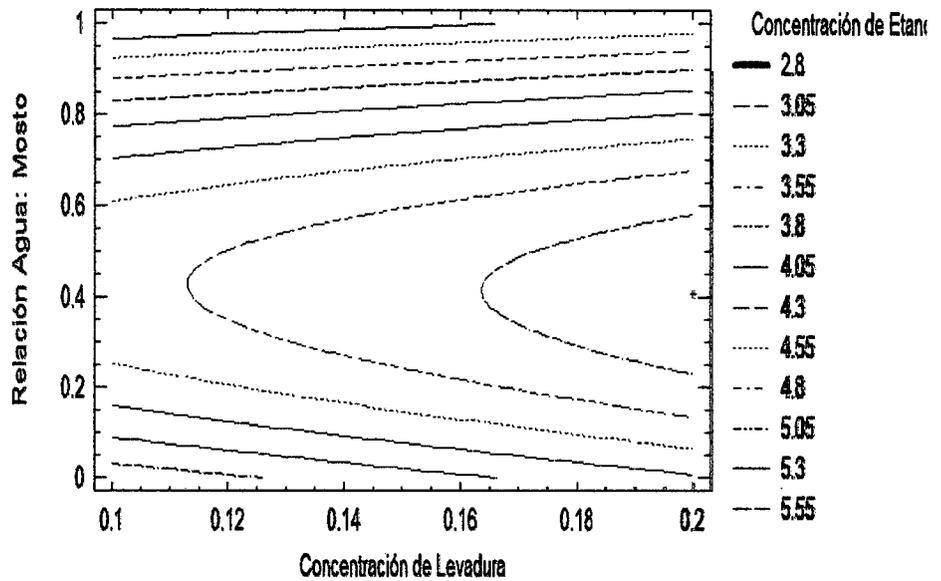


Gráfico 8. Contornos de Superficie de Respuesta de concentración de etanol a distintas condiciones relación de agua: mosto y concentración de levadura.

La gráfica N° 8 se muestra los Contornos de Superficie de Respuesta estimada para la concentración de Etanol, siendo 2.8 el valor mínimo y 5.55 el valor máximo de la misma.

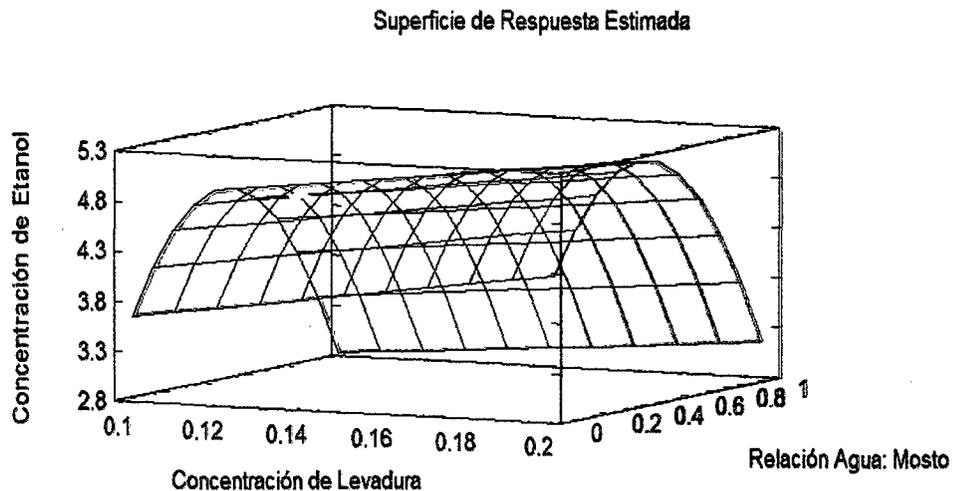


Gráfico 9. Superficie de Respuesta de concentración de etanol a distintas condiciones relación de agua: mosto y concentración de levadura.

La gráfica N° 9 de Superficie de Respuesta estimada, muestra que se obtiene una mayor concentración de etanol cuando la estamos en el 0.5 de relación agua: mosto y cuando se tiene un mayor concentración de Levadura.

4.2.2.2. Optimización del Proceso en Función de la Concentración de Etanol Obtenido en la Fermentación.

Para optimizar el proceso en función de la concentración de etanol se buscó las relaciones agua: mosto y concentración de levadura que nos dieran mayor concentración en alcohol.

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar la Concentración de etanol

Valor óptimo = 5.35%

Tabla 7. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de etanol.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de Levadura	0.1	0.2	0.2
Relación Agua : Mosto	0	1	0.5

Fuente: Statgraphics Centurion

La Tabla N° 7, muestra que los parámetros óptimos de concentración de levadura y relación agua: mosto son 0.2% y 0.5 (35:65) respectivamente, siempre buscando una mayor concentración de etanol.

Es posible que una determinada fermentación, esté limitada en sus posibilidades de mejorar su rendimiento y productividad, no por razones propias de las características de las células sino que por problemas en el diseño que permita satisfacer la alta demanda de transferencia de masa, y en especial de oxígeno, y teniendo una mayor concentración del Mosto (100% Mosto: 0% Agua), se permitirá menos disponibilidad de O₂, y por ende poca salida CO₂ producido, es decir se queda adherido en el medio de cultivo, lo que es un factor limitante por lo que se produce menos etanol, mientras caso contrario ocurre cuando se tiene un medio con menor viscosidad (cuando la relación Agua: Mosto es de 50:50), pues se obtiene una mayor aprovechamiento de los azúcares, pero se ve limitado por existir una menor disponibilidad de los mismos, por lo que se obtiene un mayor concentración de etanol cuando trabajamos con un medio de relación Agua: Mosto de 35:65 (0.5).

4.3. Determinación de las Condiciones Óptimas de Destilación del Fermentado de Residuos de Mango.

4.3.1. Determinación de los parámetros fisicoquímicos del Fermentado de Mango

El análisis fisicoquímico del Fermentado de Mango obtenido de los parámetros óptimos antes seleccionado (Concentración de Levadura: 0.2% y Relación Agua: Mosto: 0.5) se muestran en el Cuadro N° 7, en donde se observa que el Fermentado de Mango tiene un grado alcohólico de 5.25°, también podemos apreciar un pH de 3.89 lo cual indica que está dentro de los parámetros establecidos por Perez, 1994; quien manifiesta que en toda fermentación se puede observar un rápido descenso de pH en las primeras 12 horas del proceso fermentativo, posterior a este tiempo el valor del pH se mantiene constante. Los Brix final fueron de 3.2 habiendo iniciado con 14°Brix.

Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos del Fermentado de Mango

Concentración de Etanol (%)	pH	Acidez Total (%)	Solidos Solubles (°Brix)
5.25	3.89	0.546	3.2

Teniendo en cuenta que la fermentación alcohólica se inició con 14°Brix y termino con 3.2°Brix podemos hablar de un buen rendimiento de etanol al final de la fermentación de 5.25°G.L (aproximadamente 95%). Jacques et al 1999, manifiesta que según Pasteur, solo puede lograrse un máximo de 95% del rendimiento teórico, es decir, que a partir del azúcar reductor que ingresa al proceso solo el 95%, máximo ha de ser convertido a alcohol por parte de la levadura. El 5% restante es empleado para crecimiento celular, producción de otro metabolitos como ácidos orgánicos, consumo por parte de la contaminación bacteriana, conversión en productos fermentables, entre otros; esto se

pudo verificar en la experiencia, pues tuvimos un rendimiento aproximado del 95%.

Según Sansen L y Vargas M, 2009, refieren que en el proceso de fermentación de Mango se puede observar una disminución de los grados Brix, debido al consumo de los azúcares fermentables por parte de las levaduras. Es importante señalar que a partir del cuarto día, los grados Brix se mantienen constantes, indicando que la fermentación ha cesado. Con respecto al pH se pueden observar que existen fluctuaciones, esto puede ser generado por diversos factores, principalmente a la actividad enzimática de las levaduras quienes degradan los agentes acidificantes, produciendo de esta manera un aumento del pH, o la producción de otros agentes acidificantes dentro de la reacción.

4.3.2. Análisis del Bioetanol obtenido a partir de la Destilación del Fermentado de Mango.

4.3.1.1. Análisis Cromatográfico del Bioetanol

Los resultados obtenidos en las distintas condiciones de operación, se muestra en el Cuadro N° 9. Es importante resaltar que estos resultados corresponden a procesos en donde los siguientes parámetros se mantuvieron constantes:

- Porcentaje de potencia total de la resistencia calentadora de calderín: 40%
- Volumen de la mezcla a ser destilada: 4 Litros
- Volumen mezcla de Calderín: 2.5 Litros
- Volumen mezcla a alimentar en el proceso: 1.5 Litros

Para poder determinar la concentración de etanol por cromatografía de gases en cada una de las pruebas realizadas fue necesario diluir empleando una dilución de 1mL de destilado obtenido y enrazarlos hasta 50mL con agua destilada. A los cual obtuvimos los siguientes resultados:

En las figuras descritas a continuación se presenta el resultado del análisis cromatográfico de los 9 tratamientos, en los cuales podemos apreciar en su totalidad la presencia de un solo alcohol, el etanol.

MUESTRA 1: Flujo de Alimentación: 3 L/h, Reflujo: 0.8

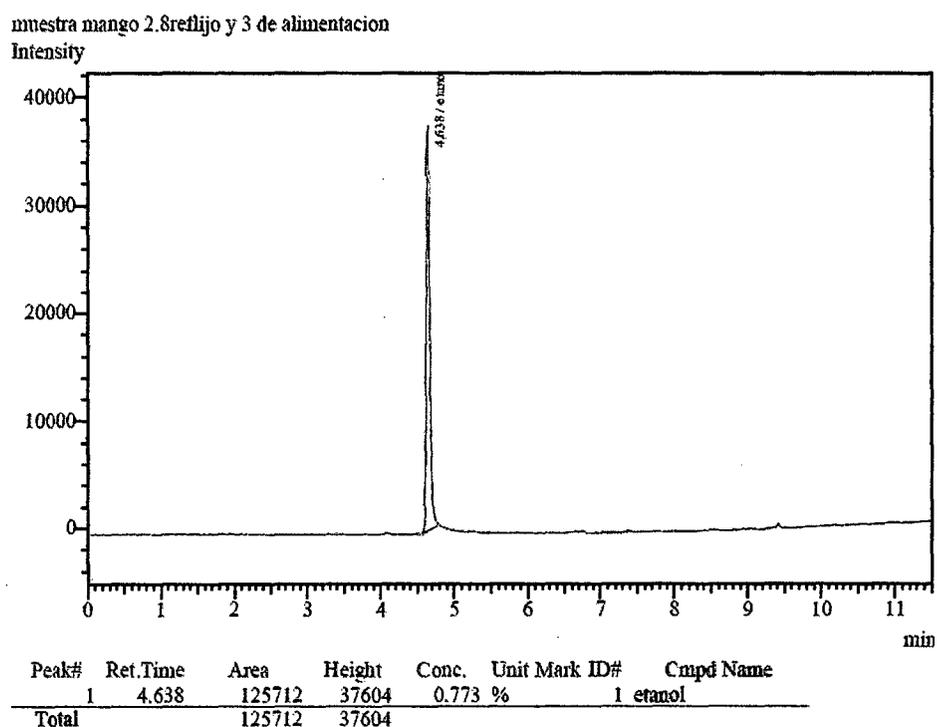
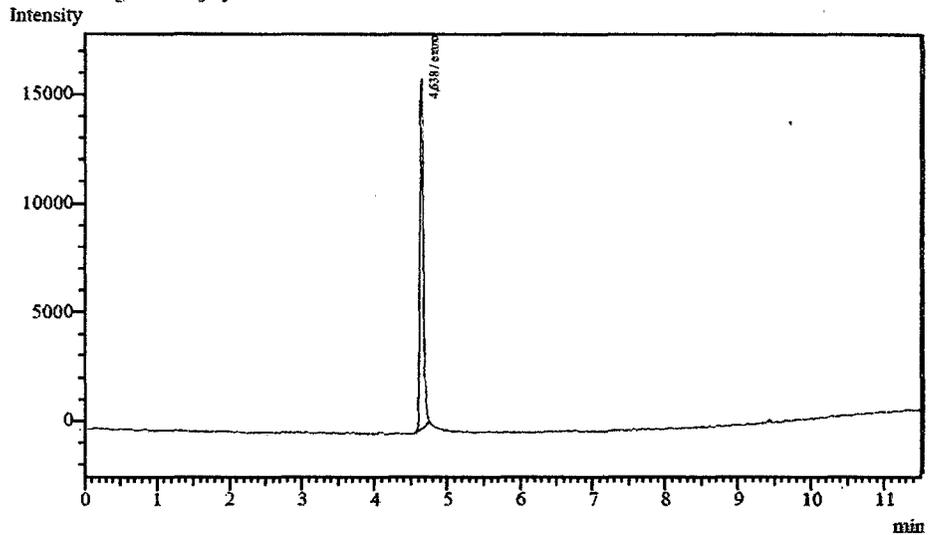


Figura 27. Determinación de etanol del ensayo 1 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 2: Flujo de Alimentación: 3 L/h, Reflujo: 0.5

muestra mango 5.5reflijo y 3 de alimentacion

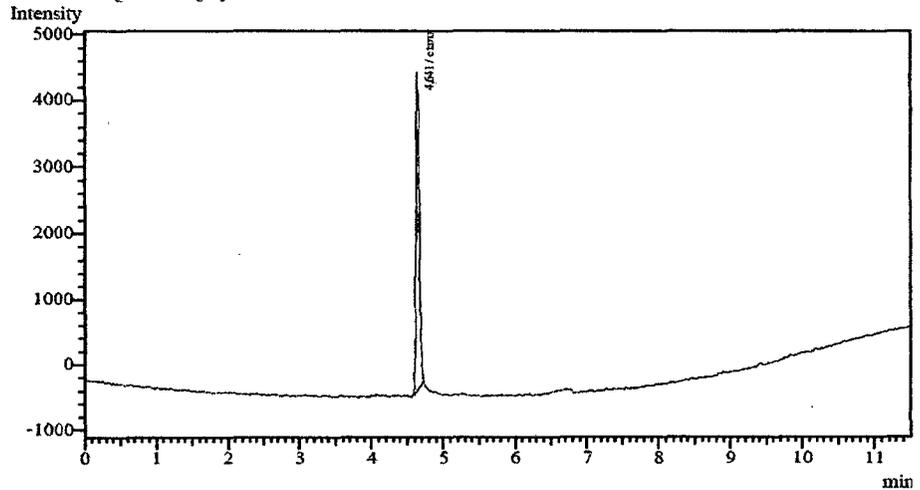


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	4.638	52283	16057	0.336 %		1	etanol
Total		52283	16057				

Figura 28. Determinación de etanol del ensayo 2 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 3: Flujo de Alimentación: 3 L/h, Reflujo: 0.2

muestra mango 8.2reflijo y 3 de alimentacion

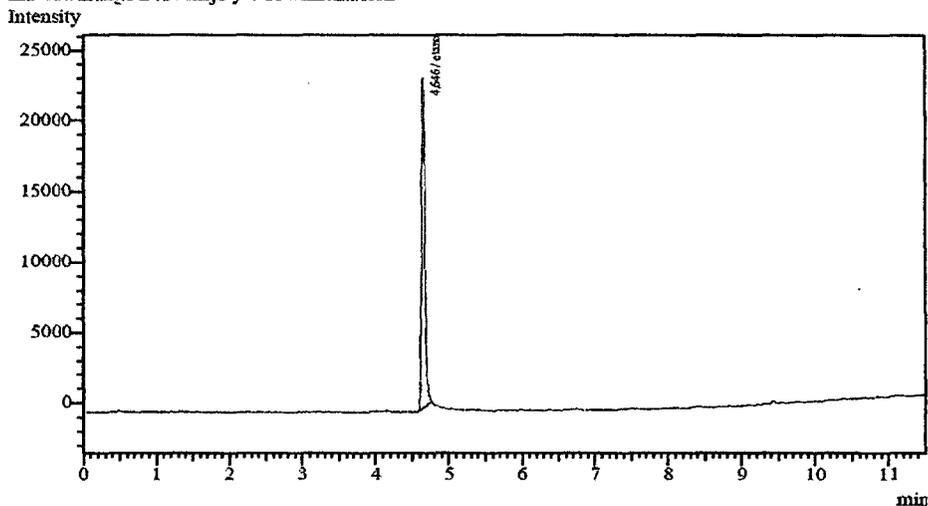


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	4.641	15302	4808	0.115 %		1	etanol
Total		15302	4808				

Figura 29. Determinación de etanol del ensayo 3 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 4: Flujo de Alimentación: 4 L/h, Reflujo: 0.8

muestra mango 2 .8 refljo y 4 de alimentacion

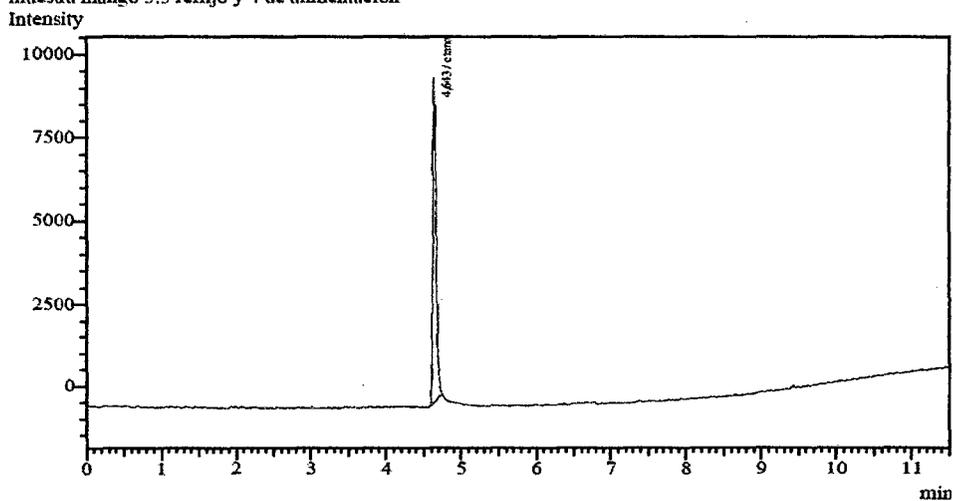


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	4.646	74335	23401	0.467 %		1	etanol
Total		74335	23401				

Figura 30. Determinación de etanol del ensayo 4 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 5: Flujo de Alimentación: 4 L/h, Reflujo: 0.5

muestra mango 5.5 refljo y 4 de alimentacion



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	4.643	30534	9722	0.206 %		1	etanol
Total		30534	9722				

Figura 31. Determinación de etanol del ensayo 5 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 6: Flujo de Alimentación: 4 L/h, Reflujo: 0.2

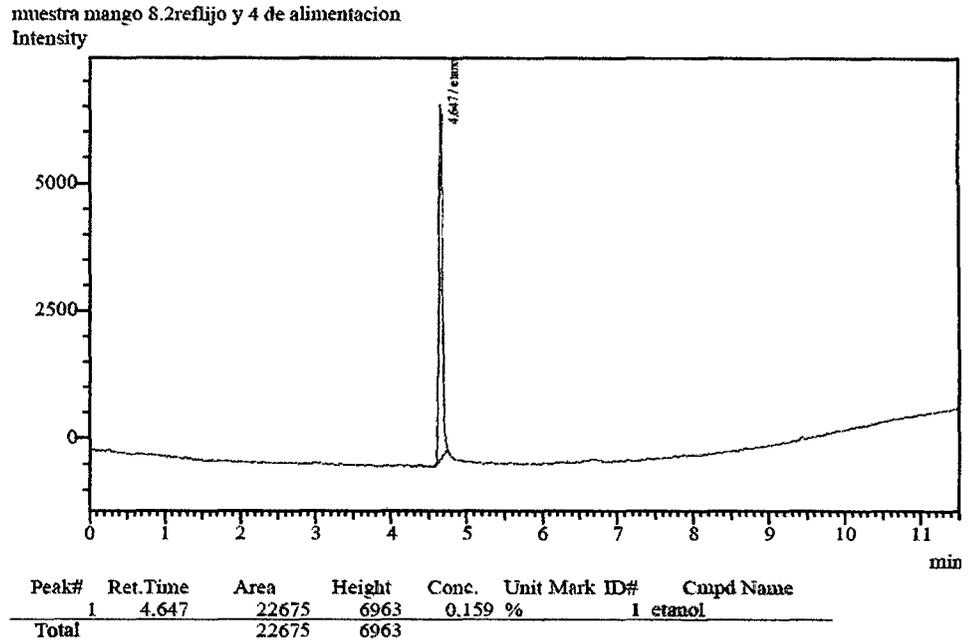


Figura 32. Determinación de etanol del ensayo 6 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 7: Flujo de Alimentación: 5 L/h, Reflujo: 0.8

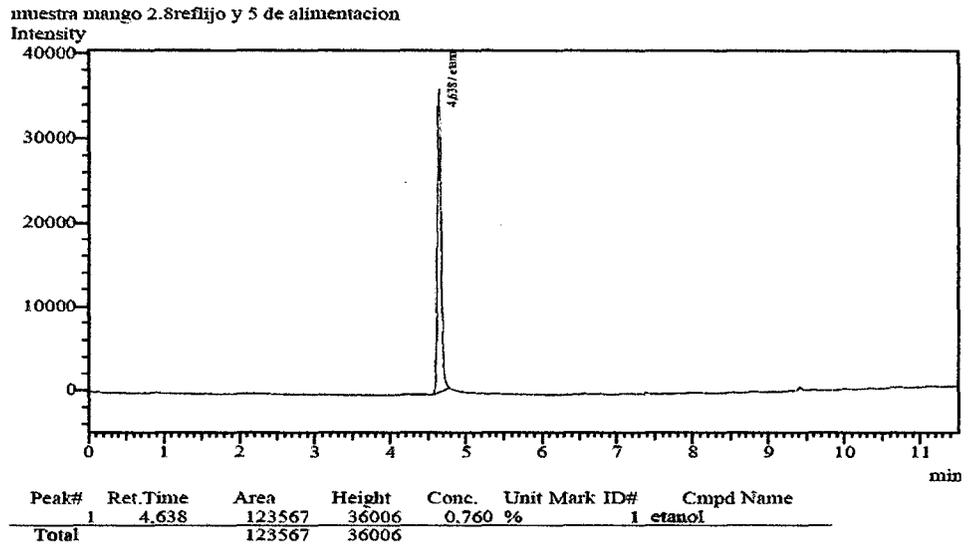


Figura 33. Determinación de etanol del ensayo 7 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 8: Flujo de Alimentación: 5 L/h, Reflujo: 0.5

muestra mango 5.5xreflujo y 5 de alimentacion

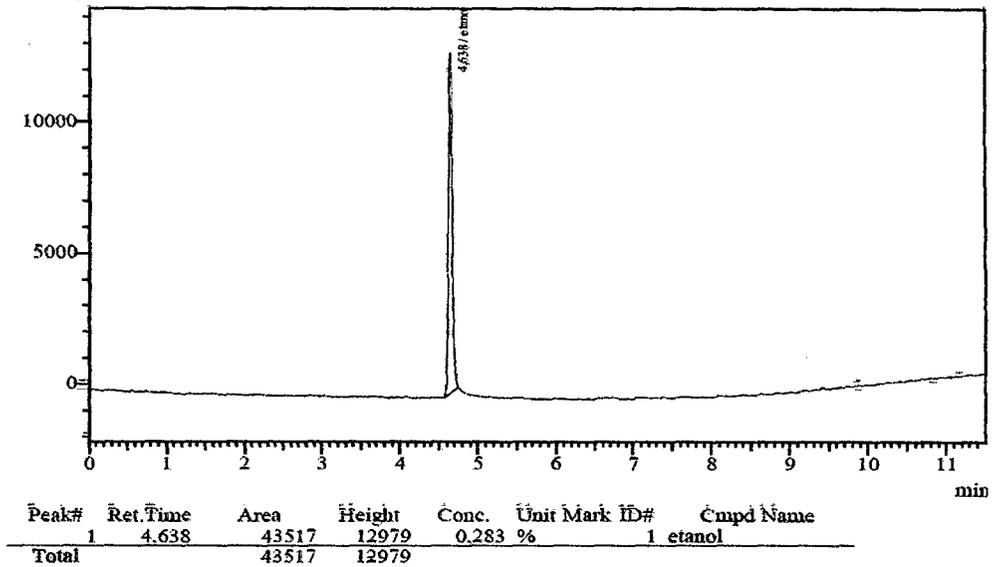


Figura 34. Determinación de etanol del ensayo 8 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

MUESTRA 9: Flujo de Alimentación: 5 L/h, Reflujo: 0.2

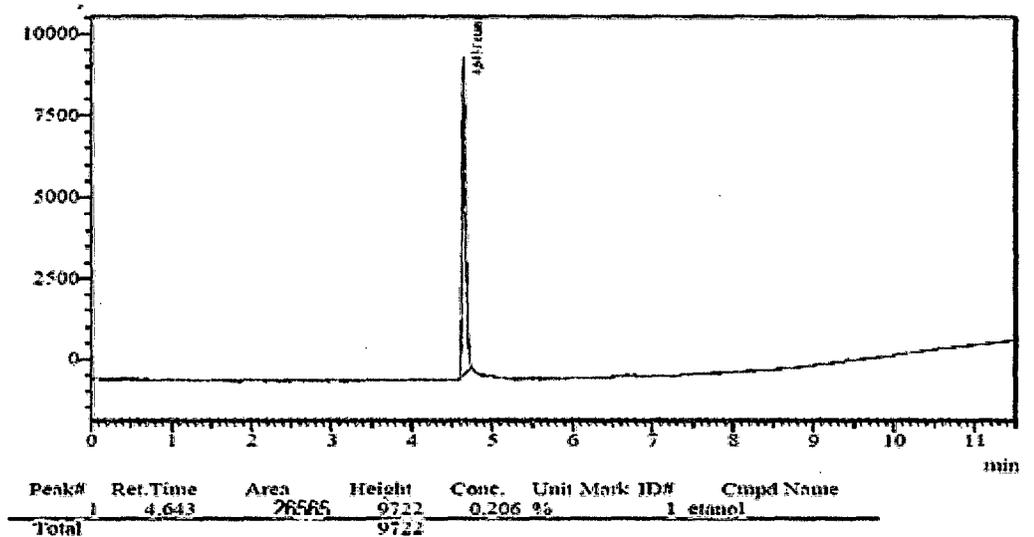


Figura 35. Determinación de etanol del ensayo 9 del fermentado de mango por cromatografía de gases.

4.3.1.2. Determinación de Etanol en el Destilado

Para determinar la concentración de etanol en el Destilado de Fermentado de Mango, se realizó lo siguiente: realizamos el análisis cromatográfico de todos los ensayos obtenidos y encontramos en área correspondiente a cada uno, con la ayuda de la curva patrón de etanol el cual nos proporcionaba una ecuación y un R^2 que se muestra en la Grafico N° 10, he introduciéndose el valor del área en dicha ecuación encontramos la concentración de etanol para cada uno de los ensayos correspondientes y dichos resultados lo presentamos en el Cuadro N° 9.

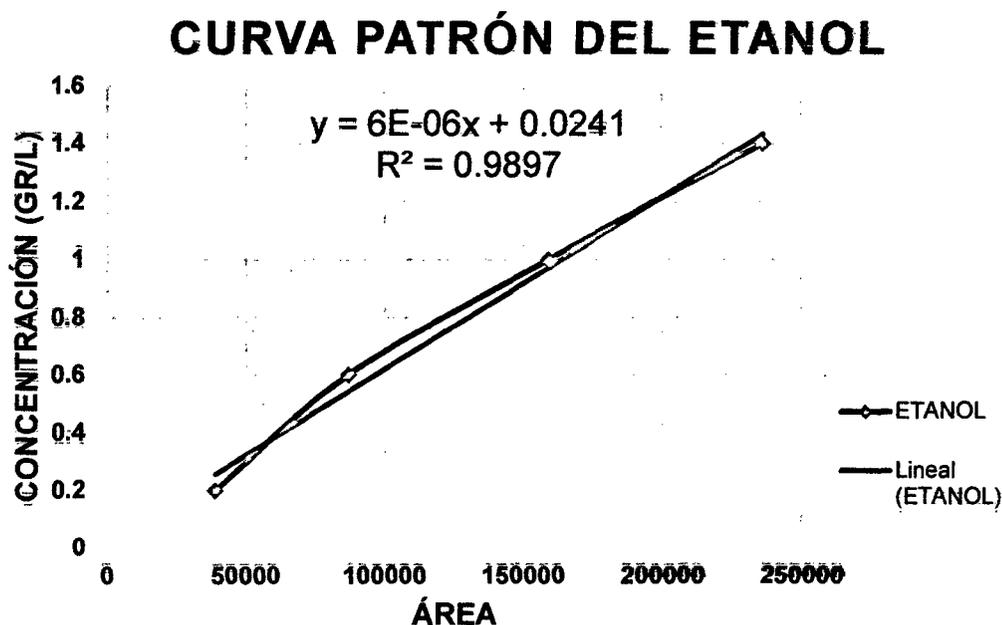


Grafico 10. Curva Patrón de Etanol

Cuadro 8. Determinación de la concentración de etanol empleando la curva patrón.

MUESTRA	CONDICION DE REFLUJO	CONDICION DE FLUJO DE ALIMENTACION (L/h)	ÁREA	Empleando la ecuación para el etanol	Concentración de Etanol (%)
1	0.2	3	15302	0.1153	34.5793
2	0.5	3	30534	0.2060	49.4439
3	0.8	3	125712	0.7731	66.6452
4	0.2	4	22675	0.1592	31.8385
5	0.5	4	43517	0.2834	34.0042
6	0.8	4	74335	0.4670	40.2570
7	0.2	5	26565	0.1943	41.1238
8	0.5	5	52283	0.3356	46.9835
9	0.8	5	123567	0.7603	57.0229

Del Cuadro N° 08, podemos apreciar que a mayor reflujo mayor es la concentración de etanol y a mayor flujo de alimentación también y si empleamos la interacción de ambas los resultados es similar que a medida que vamos aumentando los parámetros va aumentando la concentración.

4.3.3. Análisis del Efecto del Flujo de Alimentación y Relación de Reflujo en el Proceso de Destilación Rectificada en Flujo Continuo del Fermentado de Mango.

4.3.1.3. Evaluación del Efecto sobre la Concentración en Volumen de Etanol obtenido en el Destilado

Los resultados de la evaluación del efecto sobre la concentración en volumen de etanol obtenido en el destilado se presentan en el Cuadro N° 09.

Cuadro 9. Concentración de Etanol Obtenido del Destilado

MUESTRA	CONDICION DE REFLUJO	CONDICION DE FLUJO (L/h)	Concentración de Etanol (%)
1	0.2	3	34.5793
2	0.5	3	49.4439
3	0.8	3	66.6452
4	0.2	4	31.8385
5	0.5	4	34.0042
6	0.8	4	40.2570
7	0.2	5	41.1238
8	0.5	5	46.9835
9	0.8	5	57.0229

El análisis de varianza de los experimentos se muestra en el cuadro N°11.

Cuadro 10. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evaluó la concentración de etanol en el destilado.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Flujo de Alimentación	5.11194	1	5.11194	0.19	0.6931
B:Reflujo	529.85	1	529.85	19.6	0.0214
AA	388.268	1	388.268	14.36	0.0322
AB	65.3414	1	65.3414	2.42	0.2179
BB	6.24635	1	6.24635	0.23	0.6636
Error total	81.1054	3	27.0351		
Total (corr.)	1075.92	8			

Fuente: Statgraphics Centurion

Del análisis estadístico mostrado en el Cuadro N° 10, se tiene que el valor de F para la variable reflujo es de 19.6 lo que indica que es estadísticamente significativo, a un nivel de error del 5%, así mismo los valores de P menores a 0.0500 muestran que la misma variable es significativa, mientras que la otra variable (Flujo de Alimentación) no son estadísticamente significativas.

Así mismo de este análisis se obtiene que $R^2 = 92.46$, que a pesar de no tener un valor más cercano a 1; es aceptable para determinar una respuesta significativa.

De esta manera se ha definido la ecuación Final del Diseño Estadístico para la concentración de Etanol siendo:

$$\text{Concentración de Etanol} = 223.114 - 105.652 \cdot \text{Condición de Flujo} + 65.5774 \cdot \text{Condición de Reflujo} + 13.9332 \cdot \text{Condición de Flujo}^2 - 13.4723 \cdot \text{Condición de Flujo} \cdot \text{Condición de Reflujo} + 19.6361 \cdot \text{Condición de Reflujo}^2$$

Cuadro 11. Coeficiente de regresión para Concentración de Etanol del Destilado

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
constante	223.114
A:Condición de Flujo	-105.652
B:Condición de Reflujo	65.5774
AA	13.9332
AB	-13.4723
BB	19.6361

Gráfica de Efectos Principales para Concentración de Etanol

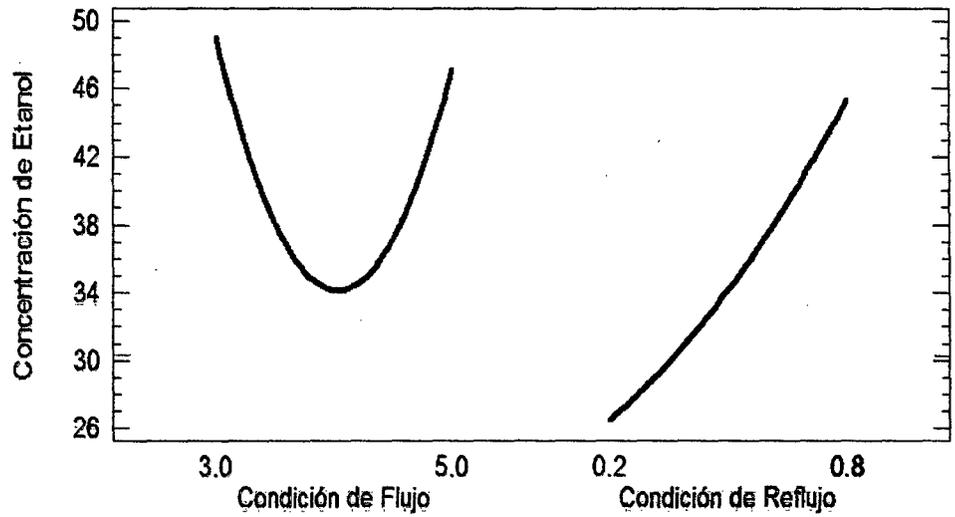


Grafico 11. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para la concentración.

Contornos de la Superficie de Respuesta Estimada

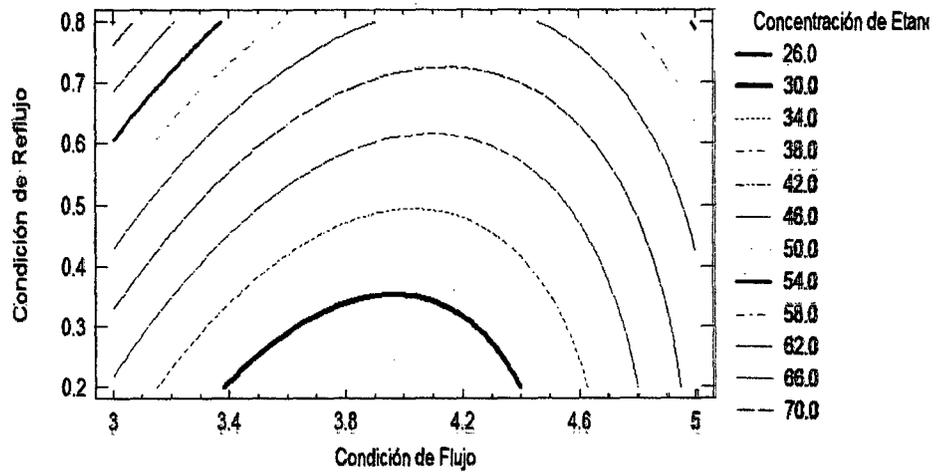


Grafico 12. Contorno de Superficie de Respuesta de la concentración de etanol en el Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

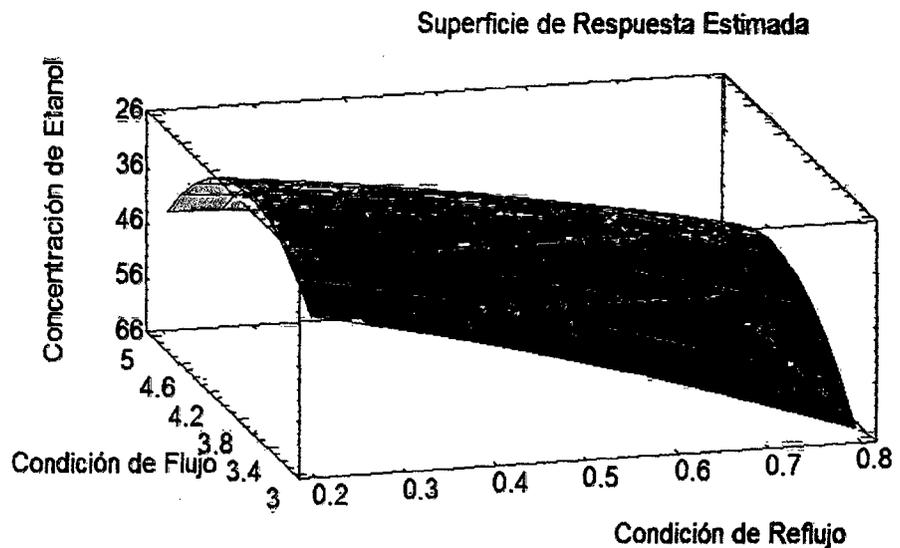


Grafico 13. Superficie de Respuesta de la concentración de etanol en el Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

En las figuras N° 11, 12 y 13 podemos apreciar la interacción y la superficie de respuestas de dichos parámetros y como el flujo de alimentación y el reflujo de destilado son parámetros muy significativos para la concentración de etanol porque muestras se aumentan el reflujo de la concentración de etanol también aumenta y es más significativa cuando menor es el flujo de alimentación, tal como puede observarse que por ejemplo: a 3 L/h a un reflujo de 0.2 la concentración es de 34.5793% Y a un reflujo de 0.8 la concentración varia hasta un 66.6452%, lo que también sucede cuando aumenta el flujo de alimentación pero de manera menos significativa.

Ibartz, A, 2005, manifiesta que para aumentar la concentración de componente más volátil en el vapor, y separara el menos volátil de ésta, el vapor se pone en contacto con una corriente

descendente de líquido hirviendo. Por la parte superior de la columna de destilación se introduce una corriente de líquido de alta concentración del componente volátil, se denomina reflujo. Los componentes más volátiles se concentran en la fase de vapor, y los menos volátiles en la fase líquida. De esta forma, la fase de vapor se va haciendo más rica en el componente más volátil a medida que va ascendiendo por la columna, mientras que la fase líquida es cada vez más rica en el componente más pesado conforme desciende.

Asimismo Reyes, J, 1998 manifiesta que la corriente de reflujo ayuda a la separación de la mezcla conforme va descendiendo piso a piso por columna.

En efecto, esta corriente absorbe los componentes más pesados de forma que en el vapor se concentran los más volátiles.

4.3.1.4. Optimización del Proceso en Función de la Concentración

Para optimizar el proceso en función de la concentración se buscó a los parámetros de flujo de alimentación y reflujo que nos dieran mayor concentración encontrando así un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de 0.8 dando como resultado 64.2508 % en concentración.

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Concentración de Etanol

Valor óptimo = 64.2508

Tabla 8. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Flujo de Alimentación	3.0	5.0	3.0
Reflujo	0.2	0.8	0.8

Fuente: Statgraphics Centurion

La Tabla N° 8, muestra los parámetros óptimos de flujo de alimentación y reflujo son 5 L/h y 0.8 respectivamente, siempre buscando un destilado con mayor grado alcohólico pues esto significara un mayor pureza del etanol (bioetanol), el cual será utilizado como biocombustible.

4.3.1.5. Evaluación del Efecto sobre el Volumen de Destilado en el Proceso de Destilación en Flujo Continuo

Los resultados obtenidos del volumen del destilado se muestran en el cuadro N° 12

Cuadro 12. Volumen de destilado obtenido de 4 litros de Fermentado de Mango.

MUESTRA	CONDICION DE REFLUJO	CONDICION DE FLUJO DE ALIMENTACION (L/h)	VOLUMEN (mL)
1	0.2	3	265
2	0.5	3	245
3	0.8	3	194
4	0.2	4	218
5	0.5	4	193
6	0.8	4	146
7	0.2	5	139.5
8	0.5	5	112
9	0.8	5	88

Cuadro 13. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evaluó el volumen de destilado.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Flujo de Alimentación	22143.4	1	22143.4	444.7	0.0002
B:Reflujo	6305.04	1	6305.04	126.62	0.0015
AA	292.014	1	292.014	5.86	0.094
AB	95.0625	1	95.0625	1.91	0.261
BB	147.347	1	147.347	2.96	0.1839
Error total	149.382	3	49.794		
<u>Total (corr.)</u>	<u>29132.2</u>	<u>8</u>			

Fuente: Statgraphics Centurion

En el Cuadro N°13, se observa que el valor F para las dos variables Flujo de Alimentación y Reflujo corresponde a un valor de F 444.7 y 126.63 respectivamente, lo que confirma que el modelo es significativo. Así mismo, el análisis es realizado considerando un error de significancia del 5%, se verifica los valores de P menores a 0.05 muestra que los términos son significativos, siendo los términos de A, B los significativos para el modelo.

Además de la significancia del modelo se ha determinado $R^2=99.4872$, valor muy cercano a 1, aceptable para determinar una respuesta de significancia.

De esta manera se ha definido la ecuación Final del Diseño Estadístico para Volumen de Destilado:

$$\text{Volumen} = 304.074 + 27.7917 \cdot \text{Condición de Flujo} - 77.6852 \cdot \text{Condición de Reflujo} - 12.0833 \cdot \text{Condición de Flujo}^2 + 16.25 \cdot \text{Condición de Flujo} \cdot \text{Condición de Reflujo} - 95.3704 \cdot \text{Condición de Reflujo}^2$$

Cuadro 14. Coeficiente de regresión para Volumen de Destilado

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
constante	304.074
A:Condición de Flujo	27.7917
B:Condición de Reflujo	-77.6852
AA	-12.0833
AB	16.25
BB	-95.3704

Gráfica de Efectos Principales para Volumen

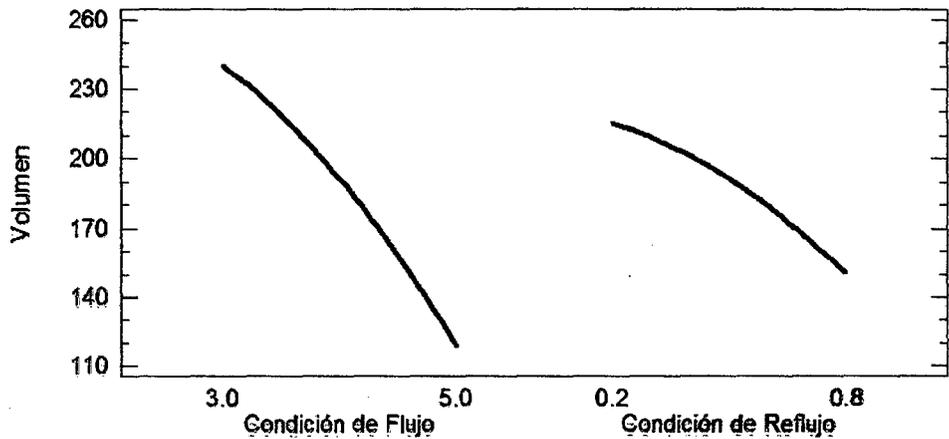


Grafico 14. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para el Volumen de Destilado.

En el Grafico N° 15, se puede apreciar el efecto de la Condición de Flujo y Reflujo sobre el Volumen de Destilado, hallándose una relación directamente proporcional.

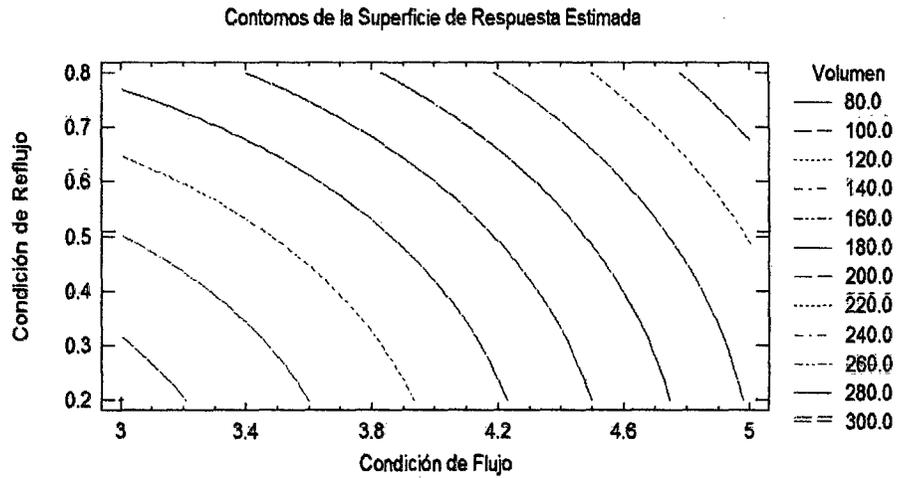


Grafico 15. Contornos de Superficie de Respuesta para el Volumen de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

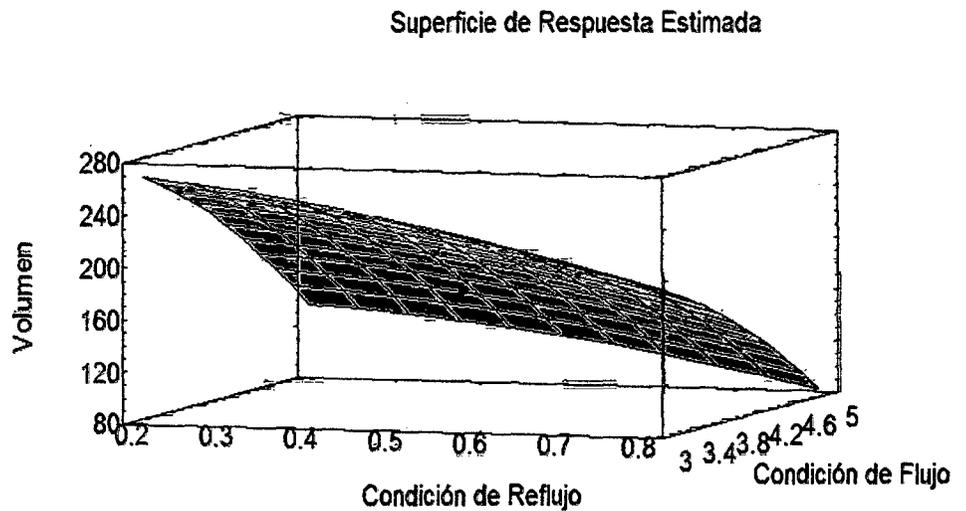


Grafico 16. Superficie de Respuesta para el Volumen de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

Del análisis de varianza y de las Figuras N° 15 y 16, resulta que para el volumen de destilado los dos parámetros son significativos y que la interacción de ambos también lo es y resultan más significativos mientras menores valores se les asigna a dichos parámetros ya que cuando menor es el reflujo mayor es el volumen lo mismo ocurre cuando menor es el flujo de alimentación.

Ibarz, A, 2005, nos dice que la relación de reflujo se define como el cociente entre la cantidad de reflujo que se devuelve a la columna por su cabeza en forma líquida y la cantidad de producto destilado obtenido, resultando siempre que a menor reflujo mayor volumen de destilado.

4.3.1.6. Optimización del Proceso en Función del Volumen.

Para optimizar el proceso en función del volumen se buscó los parámetros flujo de alimentación y reflujo que maximizaron el volumen encontrando así un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de 0.2 dando como resultado 269.097 mL.

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Volumen de Destilado

Valor óptimo = 269.097 mL

Tabla 9. Parámetros de optimización y resultados óptimos de concentración de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Flujo de Alimentación	3.0	5.0	3.0
Reflujo	0.2	0.8	0.2

Fuente: Statgraphics Centurion

En la tabla N° 9, se aprecia que un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de 0.2 se obtienen el mayor volumen de destilado (269.097 mL) cumpliéndose lo manifestado por Ibarz, A, 2005; siendo estos parámetros los óptimos. Pero también el análisis de optimización nos indica cómo ir encontrando otros resultados de reflujo para siempre encontrar el volumen óptimo, resultados que siempre se mantienen cercanos al reflujo 0.80.

4.3.1.7. Evaluación del efecto sobre el Rendimiento del Proceso de Destilación en Flujo Continuo.

Los resultados para el efecto sobre el rendimiento se presentan en el siguiente cuadro:

Cuadro 15. Rendimiento de Volumen de Destilado Obtenido de 4 litros de Fermentado de Mango.

MUESTRA	CONDICION DE REFLUJO	CONDICION DE FLUJO (L/h)	Rendimiento (%)
1	0.2	3	44
2	0.5	3	58
3	0.8	3	62
4	0.2	4	35
5	0.5	4	33
6	0.8	4	30
7	0.2	5	27.5
8	0.5	5	27
9	0.8	5	25

Cuadro 16. Análisis de Varianza (ANOVA) para el modelo matemático que evaluó el Rendimiento en Destilado.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Flujo de Alimentación	1190.04	1	1190.04	56.93	0.0048
B:Reflujo	18.375	1	18.375	0.88	0.4176
AA	125.347	1	125.347	6	0.0918
AB	105.063	1	105.063	5.03	0.1108
BB	8.68056	1	8.68056	0.42	0.5652
Error total	62.7153	3	20.9051		
Total (corr.)	1510.22	8			

Fuente: Statgraphics Centurion

En el Cuadro N°16, se observa que el valor F del flujo de Alimentación corresponde a un valor de 56.93 lo que confirma que esta variable es significativa, dado que este análisis es realizado considerando un error de significancia del 5%, asimismo, los valores de P menores a 0.05 muestra que los términos son significativos, siendo los términos de A.

Además de la significancia del modelo se ha determinado $R^2=95.8473$, valor muy cercano a 1, aceptable para determinar una respuesta de significancia.

De esta manera se ha definido la ecuación Final del Diseño Estadístico para Rendimiento de Destilado:

$$\text{Rendimiento} = 174.185 - 68.875 \cdot \text{Condición de Flujo} + 97.3148 \cdot \text{Condición de Reflujo} + 7.91667 \cdot \text{Condición de Flujo}^2 - 17.0833 \cdot \text{Condición de Flujo} \cdot \text{Condición de Reflujo} + 23.1481 \cdot \text{Condición de Reflujo}^2$$

Cuadro 17. Coeficiente de regresión para Rendimiento de Proceso de Destilado

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
constante	174.185
A:Condición de Flujo	-68.875
B:Condición de Reflujo	97.3148
AA	7.91667
AB	-17.0833
BB	-23.1481

Fuente: Statgraphics Centurion

Gráfica de Efectos Principales para Rendimiento

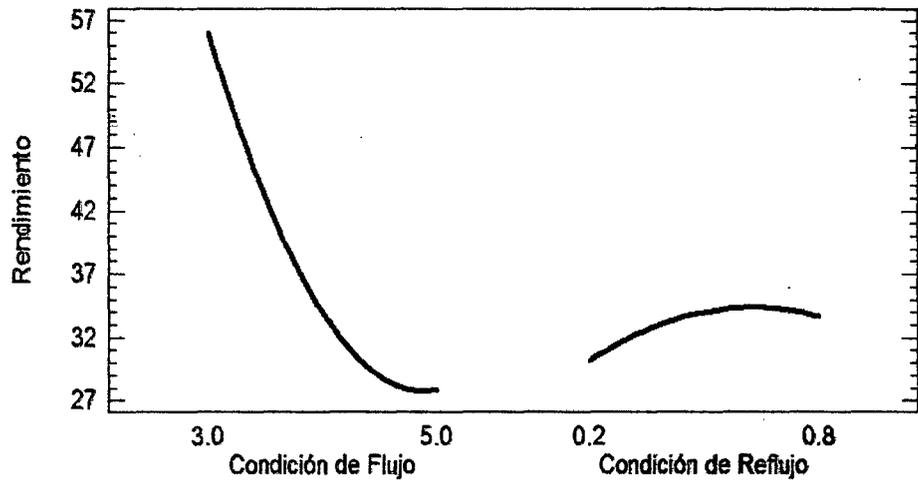


Grafico 17. Efecto de la interacción del flujo de alimentación y el reflujo para el Rendimiento de Destilado.

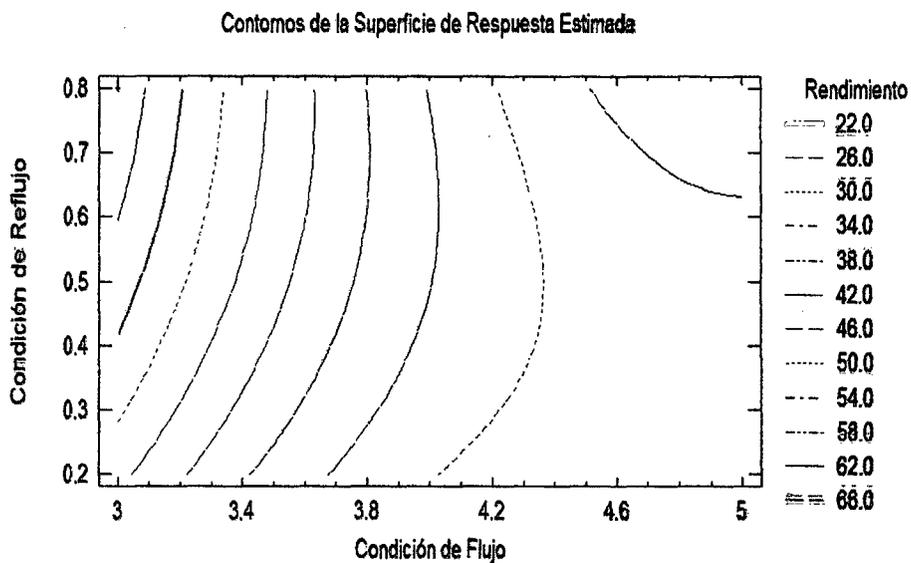


Grafico 18. Contornos de Superficie de Respuesta para el Rendimiento de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

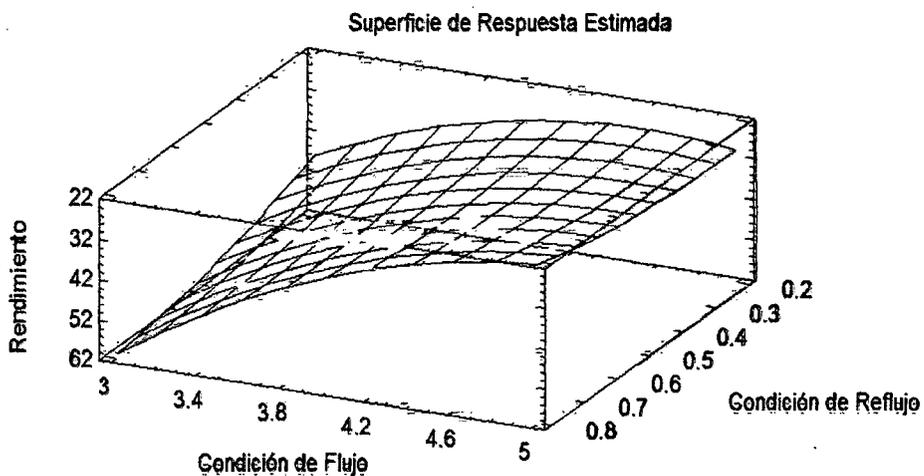


Grafico 19. Superficie de Respuesta para el Rendimiento de Destilado a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

En el análisis de varianza y de las figuras N° 18 y 19 se aprecia que para el rendimiento de destilado el parámetro flujo de alimentación es significativo y resulta más significativos mientras menores valores se les asigna a dicho parámetro ya que cuando menor es el reflujo mayor es el volumen lo mismo ocurre cuando menor es el flujo de alimentación.

4.3.1.8. Optimización en Función al Rendimiento.

Para poder optimizar el proceso en función al rendimiento se buscó los parámetros de flujo de alimentación y reflujo que maximizaran el rendimiento encontrando así un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de 0.8 dando como resultado 60.8472%.

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Rendimiento

Valor óptimo = 60.8472

Tabla 10. Parámetros de optimización y resultados óptimos de Rendimiento de Etanol en Proceso de Destilación en Continuo.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Flujo de Alimentación	3.0	5.0	3.0
Reflujo	0.2	0.8	0.8

Fuente: Statgraphics Centurion

En la Tabla N° 10, se muestra la optimización del proceso en función del rendimiento y encontramos que el menor flujo de alimentación es el mejor, resaltándose también que el flujo no es significativo ya que cuando se cambia el reflujo la variación en el rendimiento no es significativo, así por ejemplo, a un flujo de alimentación 3 L/h y un reflujo de 0.8 el rendimiento es de 60.8472 poco significativo en análisis estadístico.

4.3.1.9. Optimización del Proceso interactuando la concentración, el volumen y el rendimiento.

Para poder optimizar el proceso interactuando la concentración, el volumen y el rendimiento se buscó los parámetros de flujo de alimentación y reflujo que maximizaran la concentración, maximizaran el volumen y maximizaran el rendimiento encontrando así un flujo de alimentación de 3 L/h y un reflujo de 0.8 dando como resultado 0.8160.

Optimizar Deseabilidad

Valor óptimo = 0.816073

Tabla 11. Parámetros de optimización de Condición de Flujo de Alimentación y Condición de Reflujo.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Condición de Flujo Alimentación	3.0	5.0	3.0
Condición de Reflujo	0.2	0.8	0.8

Fuente: Statgraphics Centurion

Tabla 12. Resultados óptimos de Rendimiento, Concentración y Volumen de Destilado en Proceso de Destilación en Continuo.

Respuesta	Óptimo
Concentración de Etanol	64.2508
Rendimiento	60.8472
Volumen	194.625

Fuente: Statgraphics Centurion

De los resultados podemos apreciar que cuando evaluamos cada parámetro de respuesta por separados como son la concentración, el volumen y el rendimiento y lo comparamos con la interacción de los tres al mismo tiempo los resultados son iguales para el caso de Concentración de Etanol y Rendimiento cuyos valores son los que se muestran en la Tabla N° 12, no importándonos el Volumen porque no tiene efecto significativo en las variables, entonces son los mejores parámetros para encontrar la respuesta esperada que es un mayor volumen de destilado la mayor concentración y el mejor rendimiento.

Superficie de Respuesta Estimada

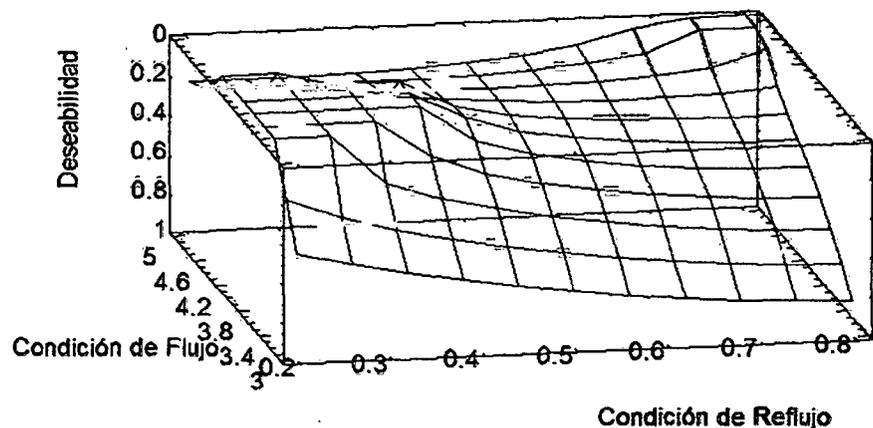


Grafico 20. Superficie de Respuesta interactuando la concentración, el volumen y el rendimiento, a distintas condiciones de flujo de alimentación y reflujo.

Tabla 13. Valores mínimos y máximos en el Proceso de Destilación en Continuo

	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
<i>Respuesta</i>	<i>Observado</i>	<i>Observado</i>
Concentración de Etanol	31.8385	66.6452
Rendimiento	25.0	62.0
Volumen	88.0	265.0

Fuente: Statgraphics Centurion

V. CONCLUSIONES

- Se obtuvo etanol por medio de la fermentación alcohólica de los residuos fermentables del Mango, usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en un periodo de una semana, alcanzando una concentración de etanol de 5.25% (p/v).
- La caracterización fisicoquímica de los residuos fermentables del Mango, dio como resultados valores adecuados: 17°Brix, Humedad =79%, pH = 4.02 y Densidad (kg/cm³)= 1.02, % Recuperación = 7.8% que permitieron obtener bioetanol de calidad.
- Los resultados Fermentativos obtenidos en este trabajo demuestran que a una concentración de Levadura de 0.2% y una Relación Agua: Mosto de 0.5 (35:65) se obtiene una mayor Concentración de Etanol de 5.25%.
- Del presente trabajo se puede observar que la cantidad aproximada de azúcares va disminuyendo lentamente en las 12 primeras horas, esto se debe a que los microorganismos, en ese tiempo comienzan a reproducirse. Mientras que de las 16 a 34 horas, la disminución fue más rápido, y es directamente proporcional a la cantidad de solidos solubles (° Brix).
- Se observó el comportamiento del pH es forma descendente debido al aumento de los ácidos producto de proceso de fermentación.
- Los parámetros óptimos determinados a partir del presente trabajo para la obtención de Bioetanol mediante destilación rectificadora en continuo en una UDCA/EV son: 3L/h de flujo y 0.8 de reflujo de destilado, obteniendo 994.625 mL de Destilado a 64.25°G.L, con un rendimiento de 60.85% de Etanol.
- Se cuantificó la Cantidad de Etanol presentes en los diversos tratamientos de trabajo de Destilación, cuyo valor óptimo fue 64.25%.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda Intentar la fermentación de una mayor porción del mango, incluyendo la cascara y semilla y determinar si la obtención de etanol aumenta.
- Se recomienda realizar estudios para la obtención de bioetanol a partir de residuos orgánicos de otras Frutas usando catalizadores ácidos y enzimáticos. De esta manera comparar sus rendimientos.
- Realizar un estudio de la vida útil y características fisicoquímicas del bioetanol obtenido refiriéndose a su estabilidad en el tiempo.
- Realizar un estudio microbiológico de los Residuos Fermentables del Mango, a fin de verificar la posible contaminación con microorganismos que puedan afectar el proceso fermentativo.
- Se recomienda realizar pruebas del bioetanol obtenido en motores a largo plazo, para verificar su comportamiento.
- Implementar los laboratorios con equipos que permitan realizar los análisis convenientes para asegurar que el bioetanol obtenido cumple con las normas establecidas lo que permitiría un mejor estudio de este tipo de investigación.
- Se recomienda realizar un estudio de costos de producción para la obtención de bioetanol a partir de los residuos fermentables del Mango, a fin de implementarse industrialmente como alternativa energética.
- Utilizar los subproductos de la fermentación ricos en proteínas (Levadura y Sólidos) como alimento balanceado para animales u otros fines.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ocrospoma Ramírez Lorena, 2008. Situación y perspectiva de los biocombustibles en el Perú. Lima – Perú.

Donato L.; Huerga L. 2008. Balance energético de los cultivos potenciales para la producción de biocombustibles. Instituto de Ingeniería rural.

León Castro, 2009. Valoración del potencial de frutos de tres musáceas para la producción de alcohol a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agropecuario Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil – Ecuador.

Ligero L. E, 1999. Proceso alternativo para la producción de Etanol anhidro usando una sal como agente de separación. Tesis doctoral. Universidad estatal de Campinas, Facultad de Ing. Química, Departamento de Ing. de Sistemas Químicos. Campinas - Brasil.

Norma UNIT 184-70, BEBIDAS ALCOHÓLICAS, Método usual, por picnometría, para determinar la densidad y la densidad relativa.

Salinas Fernández M. R, 2003. La destilación a presión reducida como método de separación de componentes aromáticos mayoritarios de mostos y vinos. Área de Edafología y Química Agrícola de la Escuela Universitaria Politécnica de Albacete. Universidad de Castilla - La Mancha.

Valdés-Duque B. E., Castaño-Castrillón J. J. y Arias-Zabala M. 2002. Obtención de etanol y una bebida alcohólica tipo aperitivo por fermentación de plátano maduro. Cenicafé

Valiente-Barderas, Antonio, (1990). Diccionario de Ingeniería Química, Alhambra, México.

Vázquez H. J. y. Dacosta O, 2007. Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas, INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII. 4. 249-259, 2007 (artículo arbitrado).

Warren L. McCabe, Julian C. Smith, Peter Harriot. Operaciones Unitarias en Ingeniería Química. Ed. Mc Graw Hill. 2007.

OCÓN, J. y TOJO, G. 1982. Problemas de Ingeniería Química Operaciones Básicas. Tomo I. Tercera Edición. Editorial Aguilar S.A. Madrid. España.

IBARZ, A. y BARBOZA – CANOVAS, 2009. Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos. Segunda Edición. Ediciones Mundi – Prensa. Barcelona – España.

GEANKOPLIS, C. 1995. Procesos de transporte y Operaciones Unitarias. Segunda Edición. Editorial Continental S.A. México.

Gutiérrez, S. 2009. Tesis: Obtención de Bioetanol a partir del Mango Criollo del Istmo de Tehuantepec. Santo Domingo Tehuantepec Oaxaca.

OWEN, Wourd. 1991. Biotecnología de las Fermentaciones. Editorial Acribia, Zaragoza. Pp.186-211

FELDER, Richard. 1991. Principios Elementales de los Procesos Químicos. 2da. Edición. Addison Wesley Iberoamericana. pp. 205-236.

MORRISON, Robert. 1992. Química Orgánica. 5ta. Edición. México: Addison. Wesley Iberoamericana.

HANSEN, Albert. 2000. Microbiología de las Fermentaciones Industriales. Editorial Acribia, Zaragoza. pp. 98-359

MURRAY, K, 2009. y Colaboradores. Bioquímica de Harper. 21va. Edición. México: El Manual Moderno.

Cenzano I. 2003. Elaboración, Análisis y Control de Calidad, Editorial Acribia. ISBN (AMVE): 84-89922-90-X

Garay-Arroyo y colaboradores, 2004. La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Revista latinoamericana de Microbiología Vol.46

Alvarado, Rina. Silva, Nancy. 2005. "Efecto del tratamiento Térmico del Mosto en la Oxidación de Vinos Blancos". Maracaibo. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Trabajo Especial de Grado.

GALAN, V.1999. El cultivo del mango. Madrid: Mundi-Prensa. España, 1999.

CEDRÓN CASTILLO, Rosa. 2008. "El Mango Peruano y su Producción". Universidad de San Martín de Porres – Lima.

QUIZHPI LÓPEZ, Luis Fernando. 2008. "Obtención de etanol a partir de los residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista de Riobamba". Riobamba, Ecuador. Tesis Ingeniero en Biotecnología Ambiental.

HASSAN AL-HAJ, Ibrahim. 2011. Pretreatment of straw for bioethanol production Al-Baath University, Homs, Syria.

RABELO, S.C. CARRERE, H. MACIEL FILHO, A.C. COSTA, 2011. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas.

SARAVANAKUMAR, K. SENTHILRAJA, P. KATHIRESAN, K. 2013. Bioethanol production by mangrove-derived marine yeast, *Sacchromyces cerevisiae*. Centre of Advanced Study in Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Annamalai University. Department of Zoology, Annamalai University, Chidambaram, India.

DULARI HANSDAH, A. MURUGAN A, DAS, L. 2013. Experimental studies on a DI diesel engine fueled with bioethanol-diesel emulsions. Centre for Energy Studies, Indian Institute of Technology, Delhi, India.

SUDIYAN, STYARINIA, TRIWAHYUNI, SUDIYARMANTOA, KIKY C. SEMBIRINGA, ARISTIAWANA, HAZNAN ABIMANYUA AND MIN HEE HAN, 2012. Utilization of biomass waste empty fruit bunch fiber of palm oil for bioethanol production using pilot – scale unit. Changhae Institute of Cassava and Ethanol Research, Changhae Ethanol Co, Ltd, Jeonju, Korea

GARCIA M., MACHIMURA T, MATSUI T. 2013. A Nation-wide Planning of Agro-residue Utility for Bioethanol Production and Power Generation in Ecuador. Published by Elsevier

Sánchez Cano, Julieta. 2009. Universidad Juárez del Estado de Durango, Durango, México. Producción de etanol a partir de basura orgánica. El programa PERSEO aplicado a México

Peynaud, Emile; Blouin, Jacques. "Enologia Practica". Conocimiento y elaboración de vino. Madrid, 2004. Editorial Mundi-Prensa

D.VGuebel , A Cordenons , sobre "La influencia de la tasa de transferencia de oxígeno (OTR) y media composición sobre la fermentación de D-xilosa por Pichiastipitis NRRL Y – 7124 . 1990

Koch,A.L(1975). "The kinetics of mycelial grown".J.Gen.Microbiol.89,209

Leveau, J. Y. y Bouix, M. (2000). Microbiología Industrial. Los Microorganismos de Interés Industrial. Editorial Acribia S. A. Zaragoza. Pag. 20-63

Páginas Web

- **USDA. United States Department of Agriculture.**
[http:// http://www.usdaperu.org.pe/](http://www.usdaperu.org.pe/)
- **Página Web de la Asociación Peruana de Exportadores de Mango (APEM)**
<http://www.apem.org.pe/>
- **Página Web del Ministerio de Agricultura**
<http://www.minag.gob.pe>
- **Página Web de Prompex. Perú. TradeMap. Sistema de Bases de datos. Comtrade.**
<http://www.prompex.go.pe>
- **Página de Aduanas del Perú.**
<http://www.aduanet.go.pe/aduanas/informai/>
- **Cultivo del mango. Disponible en:**
http://www.agrobanco.com.pe/cultivo_del_mango.pdf
- **GAIA: Grupo de Aviacion, Ingenieria y Arquitecturas**
<http://www.grupogaia.com>

ANEXOS

ANEXO 1: Procedimiento para la obtención de Bioetanol

a. Recepción de los Residuos Orgánicos del Mango variedad "Kent"

Se recepcionó los residuos fermentables (cascara y pepas) y las mermas de proceso (pulpa de mango) obtenidos directamente de la Industria de Mango Congelado "IQF", proporcionados por la Empresa Agrícola y Ganadería Chavín de Huántar S.A.

b. Pesado

Se pesó la cantidad total de residuos orgánicos del Mango (cascara y pepa), así como la pulpa de las mermas del proceso, cuyo valor obtenido de residuos fue de 150kg, mientras que la pulpa de las mermas fue aproximadamente 6kg. Esto se obtuvo de 270 kg de Mango.

c. Extracción de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Se realizó la extracción de la residuo fermentable (pulpa) adherida a la cascara y pepa con un cuchillo, retirándose así la cantidad posible de Residuos Fermentables del Mango cuyo valor obtenido fue 12 kg, que representa el 8% aproximadamente de los residuos orgánicos del Mango. Esta pulpa se mezcló con los 6 kg de pulpa (obtenido de la merma de proceso del Mango Congelado IQF), obteniéndose en total 18kg de Residuo Fermentable (Pulpa) de Mango. A nivel industrial este proceso se podrá realizar con la ayuda de un Pulpeadora.

d. Licuado de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Se realizó el mezclado de la pulpa con la ayuda de una licuadora, obteniéndose los residuos fermentables en forma líquida, dándonos un total de 18 Litros.

e. Separación de Fibra de los Residuos Fermentables del Mango variedad "Kent"

Esta etapa se realizó con la ayuda de un colador, con la finalidad de eliminar las fibras que contenía y así obtener un mosto homogéneo; a fin de que estas no influyan negativamente en la obtención de bioetanol; estas operaciones se realizaron manualmente.

f. Pasteurizado de los Residuos Fermentados del Mango variedad "Kent"

Una vez extraído el jugo se depositaron en envases plásticos con una capacidad de 20 litros, los cuales se encontraron previamente lavados con agua caliente. Para garantizar la esterilidad del mosto se llevó el mosto a una temperatura de 70°C por 5 minutos, luego se le bajara a 30°C, de tal modo de realizar un choque térmico. Al mosto obtenido se realizó los análisis fisicoquímicos anteriormente mencionados.

g. Almacenamiento de los Residuos Fermentados del Mango variedad "Kent"

Una vez obtenido el Mosto, se le almacenó en una refrigeradora a T°= 5°C, a fin de poder utilizar posteriormente en la Fermentación.

h. Activación de Levadura

Se pesó 3 gr de Levadura *Sacharomyces Cerevisiae* en una placa Petri, previamente esterilizada, y se le inoculo en 100ml de Mosto, y se le llevó a una incubadora por espacio de 30 a 45 minutos.

i. Inoculación de Levadura

Enseguida cada mezcla se transfirió al Bioreactor de fermentación (recipiente de plástico), donde se le agregó el inculo de levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*), según las diferentes concentraciones de trabajo: 0.1 y 0.2%.

Posteriormente la mezcla mosto-agua-microorganismo de cada uno de los sistemas fue aireada (la aireación se llevó a cabo mediante adición de O₂) durante dos horas, esto con la finalidad de aumentar la concentración de oxígeno disuelto en el medio, la cual es esencial para el desenvolvimiento de las levaduras.

j. Fermentación del mosto.

Por último, se inició la fermentación del mosto utilizando la cantidad de levadura estimada (0.1 y 0.2%) y trabajando en base a tres proporciones de agua con respecto al mosto (0, 0.5 y 1). La temperatura se mantuvo en el intervalo de 29 a 31 °C, ya que en el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* se tiene un desarrollo óptimo entre 28 a 35°C, recomendable 30 °C. A lo largo de la fermentación del mosto, se tomaran muestras a ciertos intervalos de tiempo, a las que se les determinó la cantidad de azúcares reductores totales. La determinación de azúcares reductores totales se realizara con el objetivo de saber en qué momento detener la fermentación y por lo tanto proceder a la destilación del mosto, es decir cuando el contenido de azúcares en el mosto se ha agotado; ya que los azúcares son la fuente de alimentación de los microorganismos y por lo tanto, determinan el rendimiento de etanol.

k. Centrifugación

Concluida la fermentación el mosto obtenido es purificado por centrifugación, para esto se colocó volúmenes de 10 ml del fermentado en tubos de plástico (24 tubos) para centrifugar a 3500 ppm por un tiempo de 60 minutos de tal manera que cualquier elemento sólido presente (principalmente levadura y solidos) en el fermentado obtenido sean removidos; de la separación solido-liquida se procedió a obtener solo el líquido sobrenadante, con lo cual se garantizó una mejor eficiencia en el proceso de destilación.

I. Destilación

Una vez detenida la fermentación del mosto se determinará la concentración final de etanol en cada una de los tratamientos estudiados, así como el rendimiento de etanol, con la finalidad de determinar los parámetros óptimos de destilación rectificada en continuo, en la UDCA/EV; teniendo como variables independientes: flujo de alimentación (3, 4 y 5 L/h), razón de reflujo (0.2, 0.5 y 0.8); variable dependiente: concentración de alcohol del destilado.

Una vez seleccionado el mejor tratamiento, se llevara a cabo la filtración y posteriormente la destilación del misma. Las muestras obtenidas de las destilaciones del mosto se guardaron en refrigeración hasta su posterior análisis por cromatografía de gases.

**ANEXO 2: Repeticiones de los análisis realizados para la caracterización
de Residuos Fermentables**

	Resultados	Promedio
	79%	
Humedad (%)	80%	79%
	78%	

	Resultados	Promedio
	3.45%	
Ceniza (%)	3.46%	3.45%
	3.47%	

	Resultados	Promedio
	0.52	
Índice de Acidez (%)	0.54	0.52%
	0.50	

	Resultados	Promedio
	17.5	
° Brix	17	17
	16.5	

ANEXO 3: Análisis Cromatográfico de Etanol Puro para la Determinación de Curva Patrón

a. Análisis Cromatográfico para la Concentración de Etanol al 0.2%

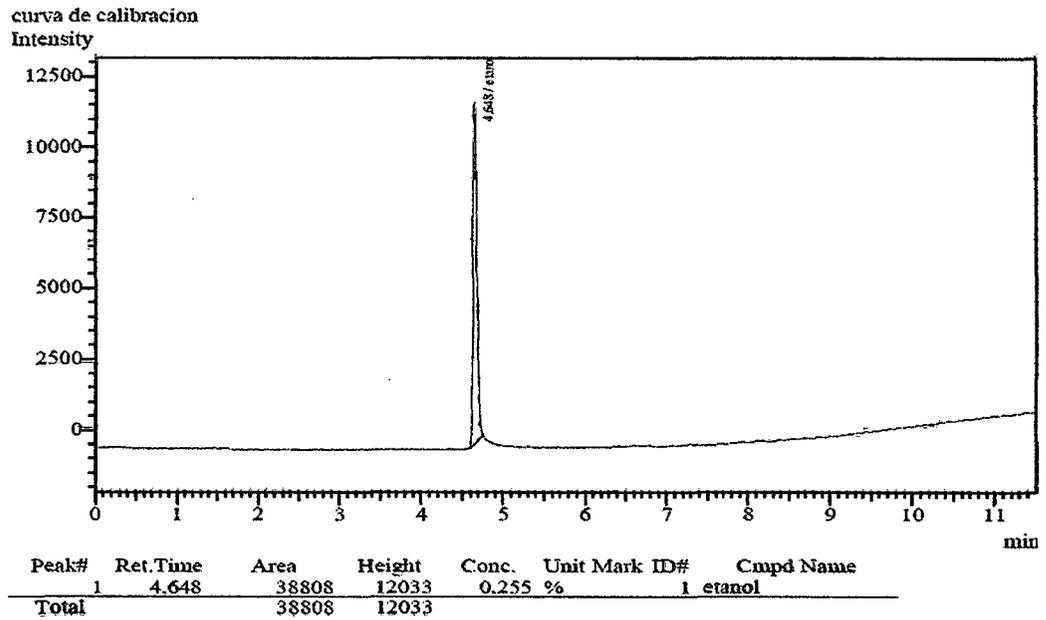


Figura 36. Cromatograma de Etanol al 0.2%

b. Análisis Cromatográfico para la Concentración de Etanol al 0.6%

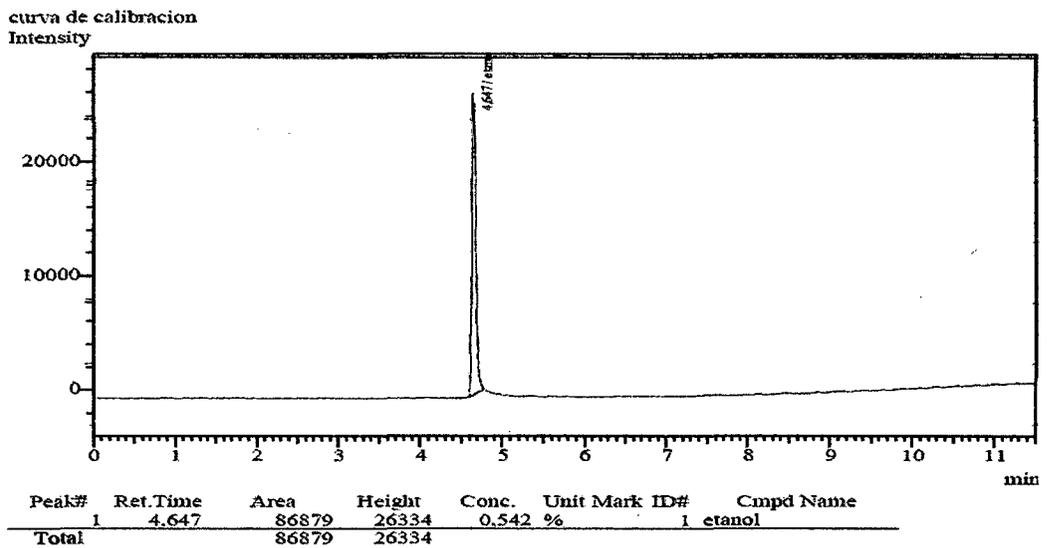


Figura 37. Cromatograma de Etanol al 0.6%

c. Análisis Cromatográfico para la Concentración de Etanol al 1%

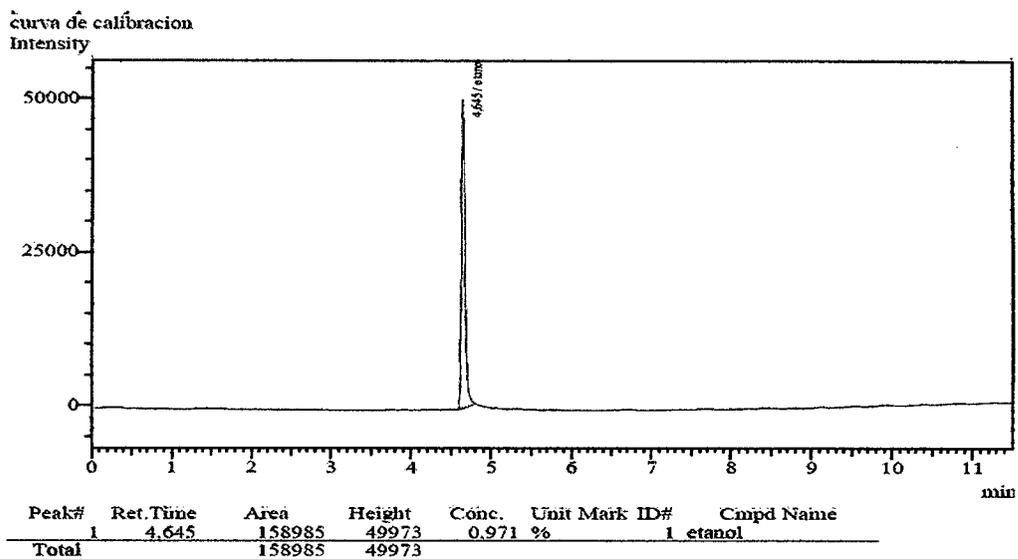


Figura 38. Cromatograma de Etanol al 1%

d. Análisis Cromatográfico para la Concentración de Etanol al 1.4%

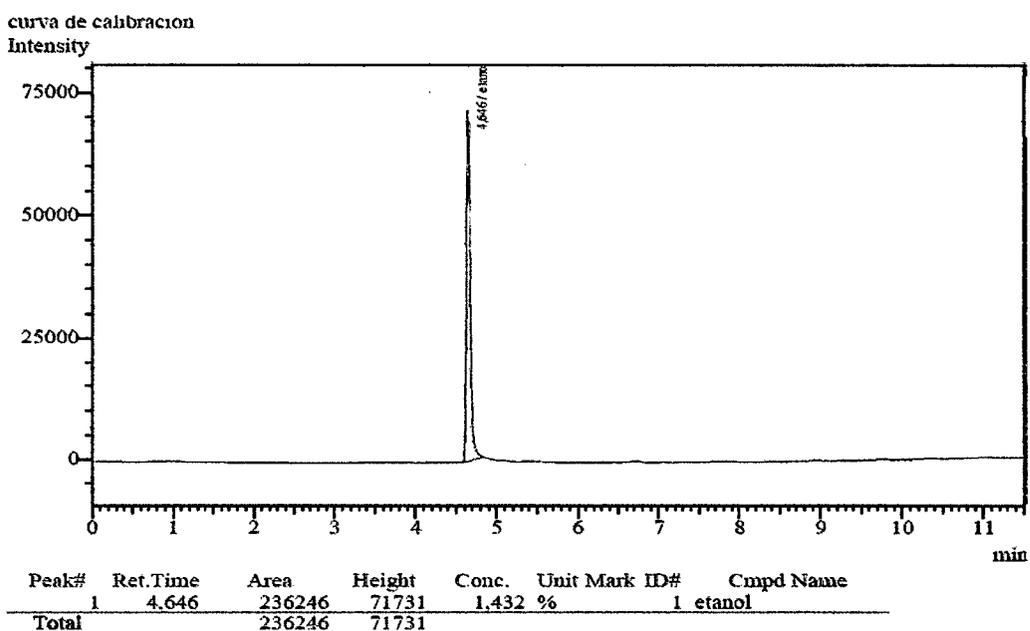
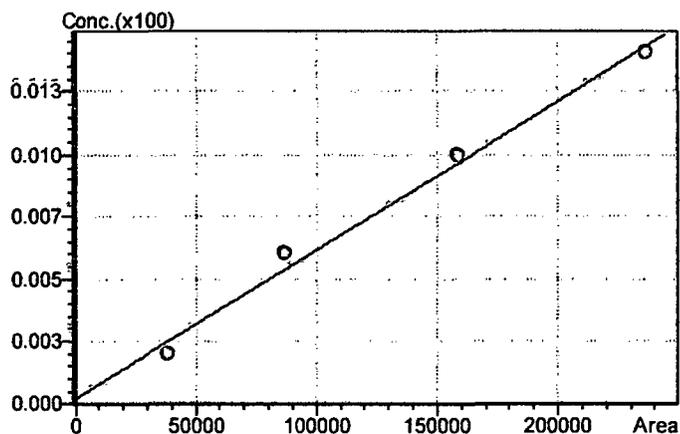
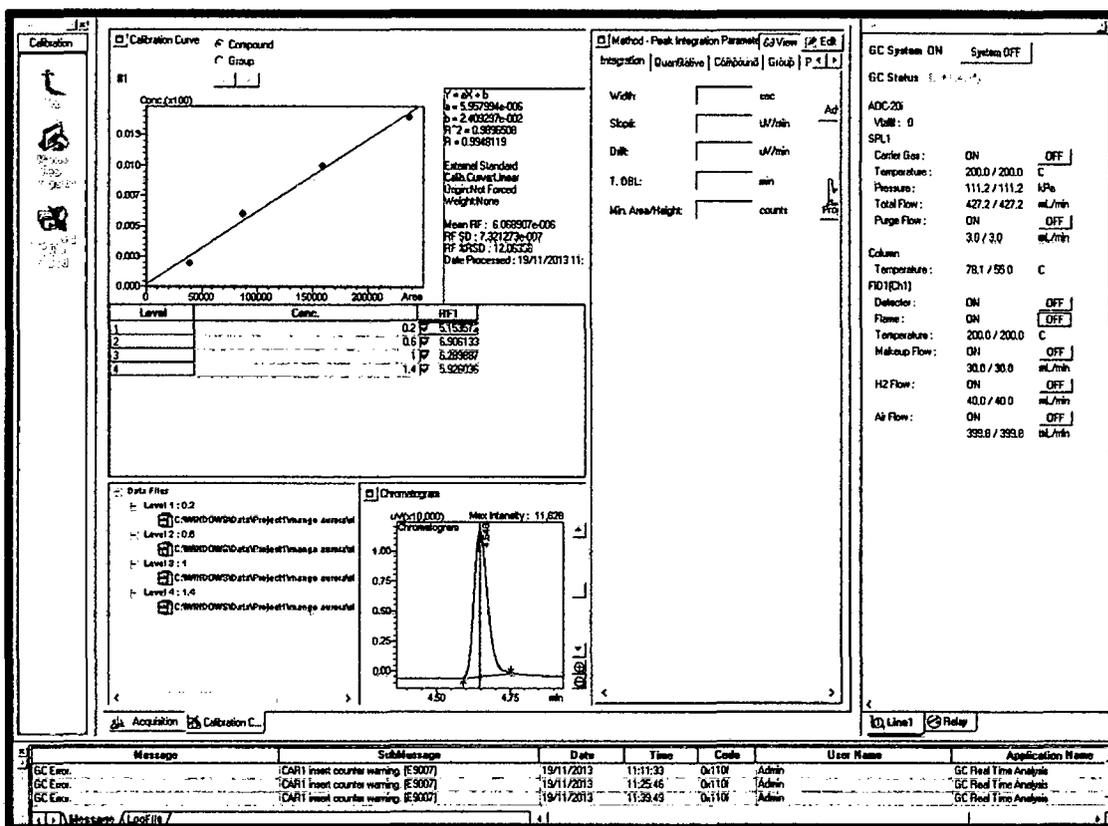


Figura 39. Cromatograma de Etanol al 1.4%

ANEXO 4: Curva Patrón de Etanol



Ecuación de la Recta

$$Y = Ax + B$$

$$A = 5.957994e-006$$

$$B = 2.409297e-002$$

$$R^2 = 0.9896508$$

$$R = 0.9948119$$

Figura 40. Curva Patrón de Bioetanol Determinado por el GC.

ANEXO 5: Análisis Cromatográfico del Fermentado de Mango

En las figuras mostradas a continuación, se presenta el resultado del análisis cromatográfico del bioetanol obtenido a partir de los Brix, en los cuales podemos apreciar en su totalidad la presencia de solo un alcohol que es el etanol.

MUESTRA 1: Concentración de Levadura 0.1%, Relación Agua: Mosto: 0

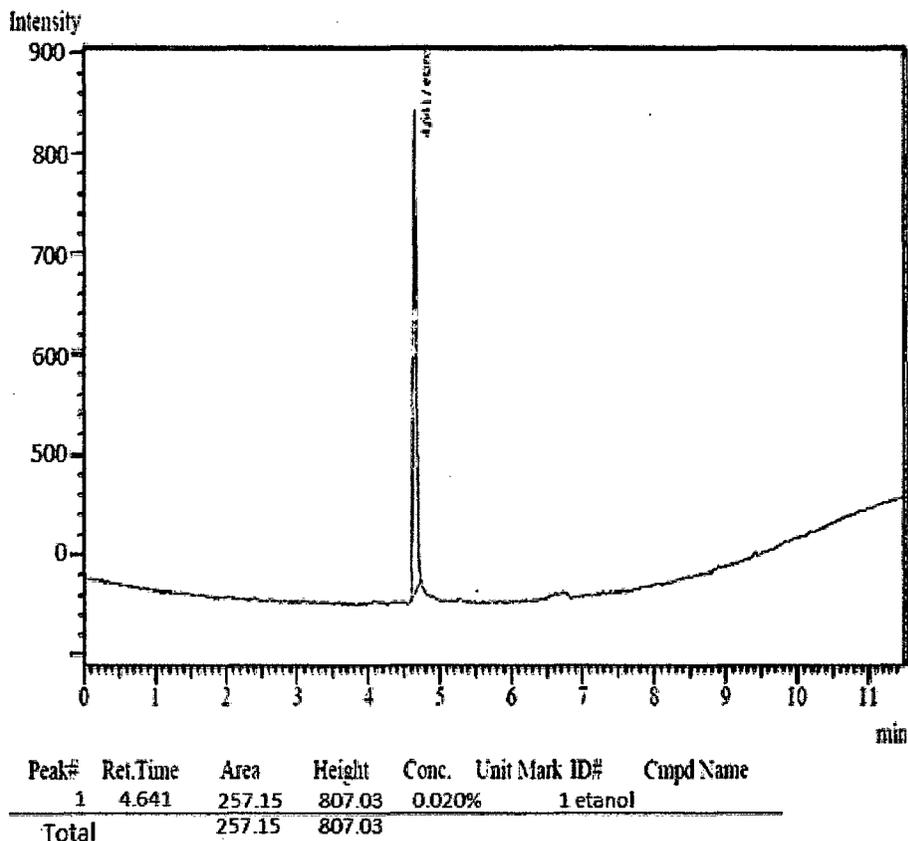


Figura 41. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 1) por cromatografía de gases.

MUESTRA 2: Concentración de Levadura 0.1%, Relación Agua: Mosto: 0.5

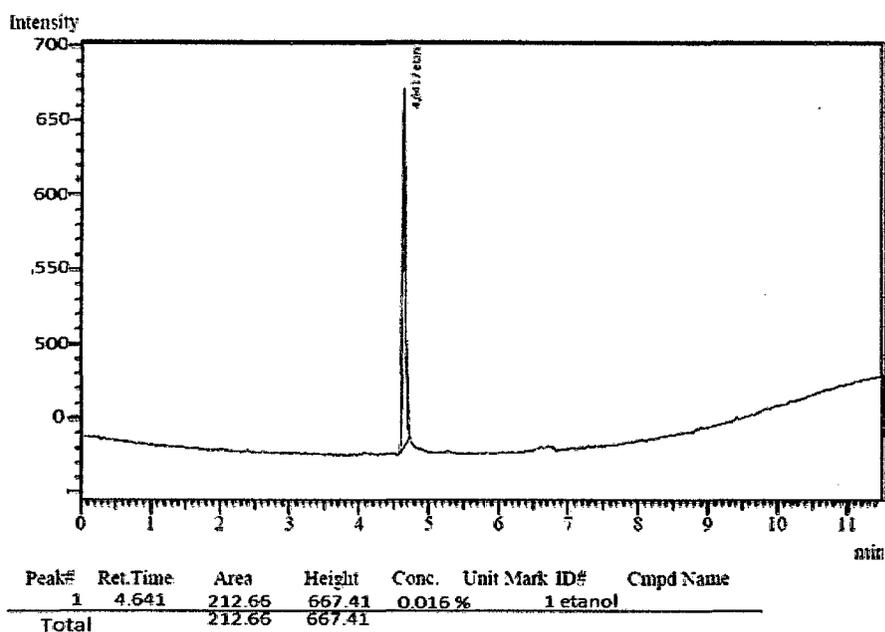


Figura 42. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 2) por cromatografía de gases.

MUESTRA 3: Concentración de Levadura 0.1%, Relación Agua: Mosto: 1

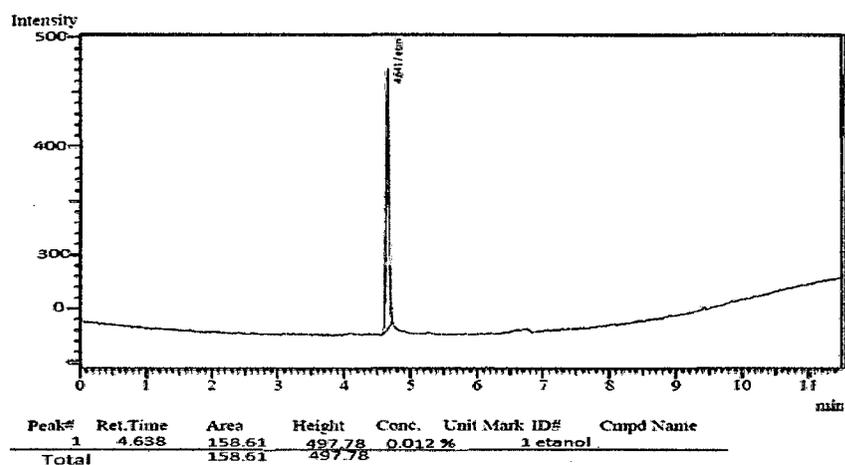


Figura 43. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 3) por cromatografía de gases.

MUESTRA 4: Concentración de Levadura 0.2%, Relación Agua: Mosto: 0.

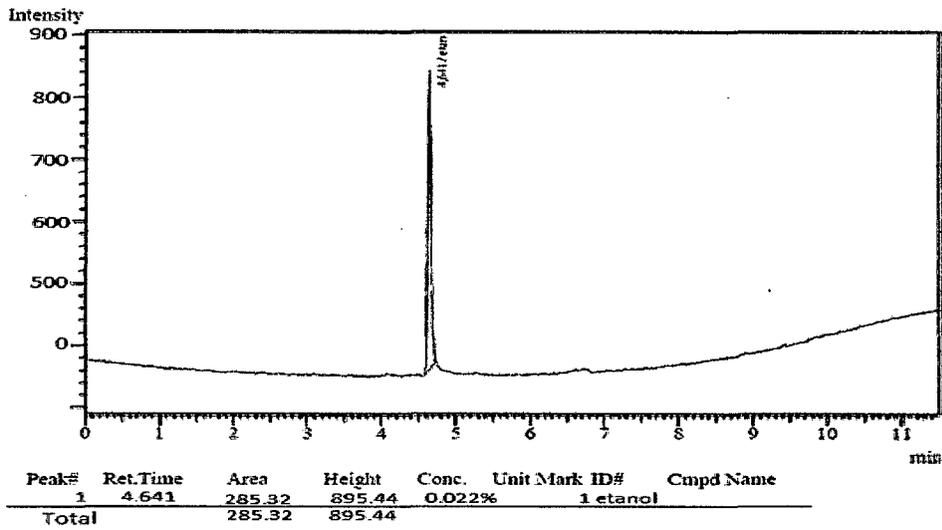


Figura 44. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 4) por cromatografía de gases.

MUESTRA 5: Concentración de Levadura 0.2%, Relación Agua: Mosto: 0.5.

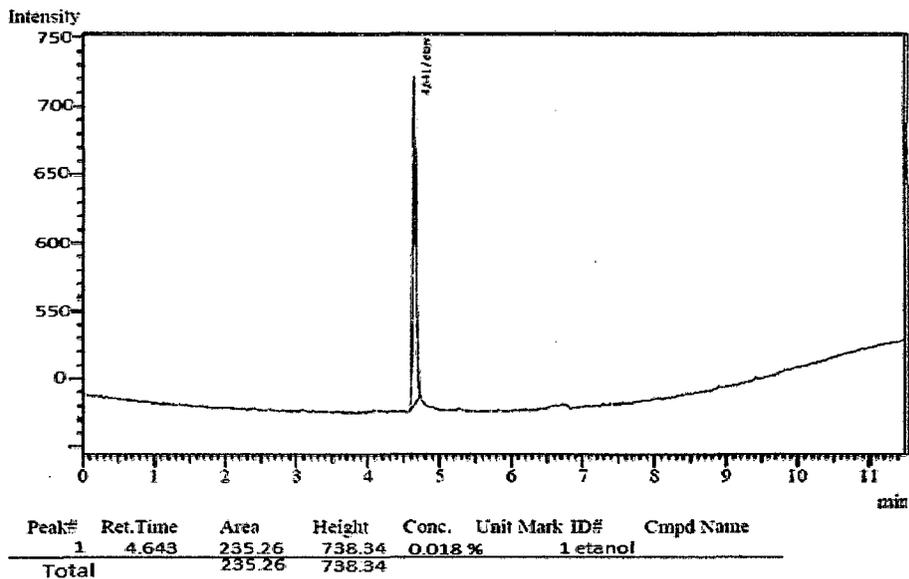


Figura 45. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 5) por cromatografía.

MUESTRA 6: Concentración de Levadura 0.2%, Relación Agua: Mosto: 1

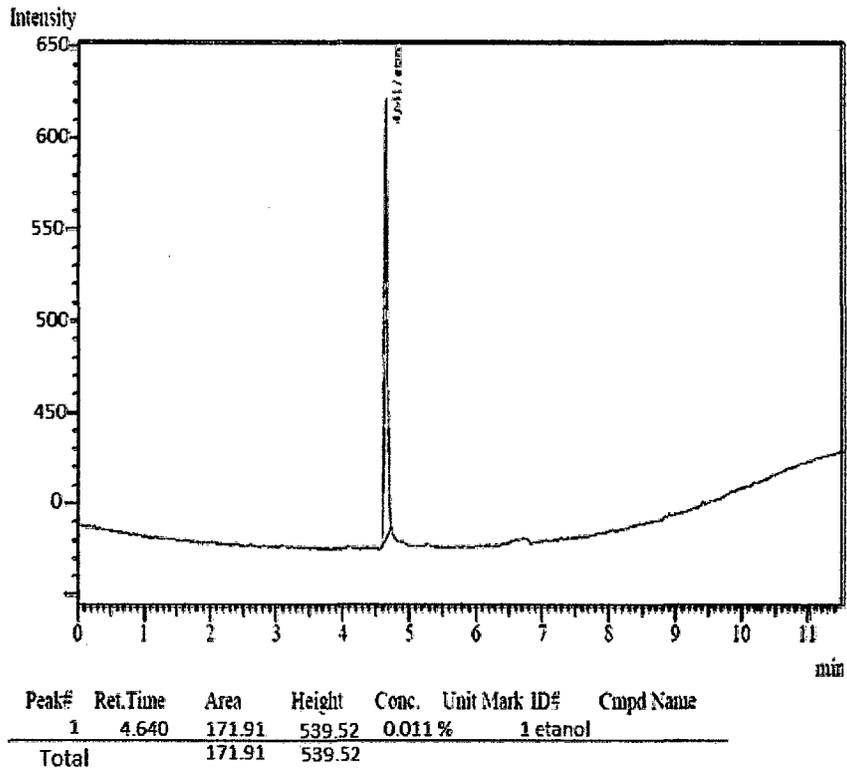
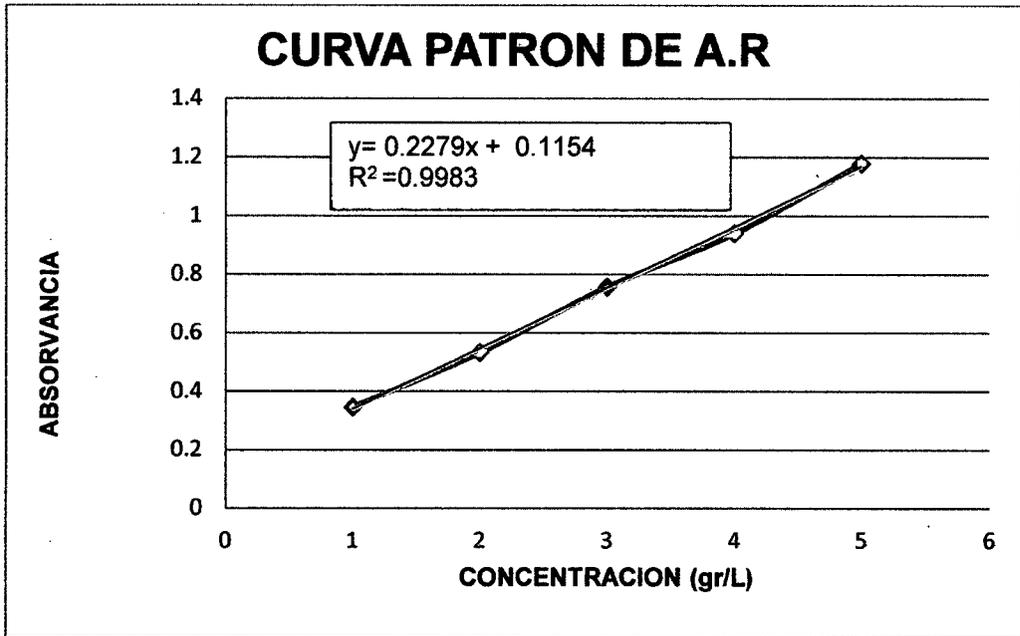


Figura 46. Determinación de etanol del fermentado de mango (ensayo 6) por cromatografía de gases.

ANEXO 6: Curva Patrón de Azúcares Reductores



Ecuación de la Recta

$Y = Ax + B$

$a = 0.2279$

$b = 0.1154$

$R^2 = 0.9983$

$R = 0.9991$

Figura 47. Curva Patrón de Azúcares Reductores Determinado por espectrofotometría.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



I. DATOS GENERALES (PRE GRADO):

1.1. UNIVERSIDAD:

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

1.2. ESCUELA O CARRERA PROFESIONAL:

INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

1.3. TITULO DE TRABAJO:

"OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS
FERMENTABLES DE MANGO Y DETERMINACIÓN DE
PARÁMETROS ÓPTIMOS DE DESTILACIÓN"

1.4. AREA DE INVESTIGACION:

EXPERIMENTAL Y APLICADO

1.5. AUTORES:

DNI: 47153998, AURORA VIGO EDWARD FLORENCIO

DNI: 46523973, BARRERA CHIROQUE EDUARDO DANIEL

1.6. TITULO PROFESIONAL AL QUE CONDUCE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

1.7. AÑO DE APROBACION DE LA SUSTENTACION:

2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



II. CONTENIDO DEL RESUMEN:

2.1. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO:

2.1.1. Objetivo de la Investigación:

- **Social:**

Uno de los objetivos fundamentales de la mayor parte de los países es la conservación del medio ambiente, por la importancia que esto tiene para garantizar a la humanidad una mejor calidad de vida en todos los sentidos, tanto en el presente como en el futuro. Una fuente importante de contaminación es el transporte, debido a los gases de escape de los vehículos. Por eso, se realizan esfuerzos para disminuir estos efectos, entre los que está el uso de Bioetanol directamente como combustible o en mezclas con gasolina como elemento oxigenador. Asimismo, se buscará dar un mayor uso a todos los residuos fermentables del mango provenientes de la Industria de Mango Congelado "IQF", con lo que buscaremos por una parte aprovechar la disponibilidad y por otra parte disminuir sus efectos en el medio ambiente.

El uso de etanol como oxigenante de la gasolina representa varias ventajas: mayor contenido de O₂, lo que permite una mayor combustión de la misma disminuyendo las emisiones contaminantes de hidrocarburos no oxidados completamente, no es tóxico y no contamina las fuentes de agua. Además el etanol también se utiliza cada vez más como agregado para oxigenar la gasolina estándar, como reemplazo para el metil tert-butil éter (MTBE), siendo este último uno de los responsables de una considerable contaminación del suelo y del agua subterránea.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



- **Económico:**

Las reservas de petróleo del planeta son recursos no renovables y es muy probable que antes que se agoten la tierra haya alcanzado un colapso climático desastroso. Asimismo, Los incrementos en el precio del petróleo crudo en los últimos 20 años han estimulado considerablemente el interés en la producción de combustibles a partir de recursos renovables usando procesos biotecnológicos (los precios están aumentando y son muy volátiles). Un importante ejemplo de esta tendencia es el crecimiento de la demanda de bioetanol (o simplemente etanol, EtOH), el cual se espera se incremente dramáticamente en los siguientes años. Actualmente, la producción de etanol por medio de la fermentación proporciona una alternativa energética; rápida, limpia y altamente aceptada, pudiendo ser una alternativa adecuada para reemplazar los combustibles fósiles, reduciendo los precios y contribuyendo a resolver una porción importante del problema energético global.

- **Científico:**

El bioetanol es por mucho la forma más usada de biocombustible para el transporte en el mundo. Entre las materias primas agrícolas que comúnmente se han utilizado a nivel mundial para la obtención de bioetanol se encuentran: la caña de azúcar, melazas de remolacha azucarera y el maíz. Sin embargo, es preciso mencionar que además de estas materias primas, existen todavía una gran variedad, dentro de las cuales se encuentran los residuos



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



agroindustriales: por su alto contenido en azúcares (ya sea como fruta fresca o desecho).

El desarrollo de esta investigación buscará obtener etanol a partir de los residuos fermentables del Mango, provenientes de la Industria de Mango Congelado "IQF". Los residuos agroindustriales producidos por las industrias de Mango Congelado "IQF" es una materia prima rica en carbohidratos de bajo costo, y fuente abundante de azúcares fermentables, las cuales son susceptibles de someterse a un proceso de fermentación por la levadura "*Sacharomyces Cerevisiae*" para la obtención de etanol. En el Perú contamos aproximadamente con 30 empresas dedicadas a la exportación de Mango Congelado IQF, donde sus principales desechos fermentables suman aproximadamente 3000TM/día, siendo actualmente utilizadas como abonos para campos.

2.1.2. Formulación del Problema:

¿Cuáles son las mejores condiciones para obtener etanol a partir de la fermentación alcohólica de los residuos fermentables del mango (*Mangifera Indica*) variedad "Kent"?

¿Cuáles son los parámetros óptimos de destilación rectificadora en flujo continuo para la obtención de etanol a partir del Fermentado de los residuos de mango (*Mangifera Indica*) variedad "Kent"?



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



2.2. OBJETIVOS:

2.2.1. Objetivo General:

- Obtener bioetanol a partir de los residuos fermentables de mango (*Mangifera Indica*), variedad Kent.
- Determinar los parámetros óptimos de destilación rectificada en flujo continuo del Fermentado de los residuos del mango (*Mangifera Indica*) variedad "Kent para la Obtención de Etanol.

2.2.2. Objetivos Específicos:

- Caracterizar físico-químicamente los residuos fermentables del Mango (*Mangifera Indica*) variedad "Kent".
- Determinar los parámetros óptimos de fermentación del mosto de Mango (concentración de la levadura, proporción agua- mosto).
- Evaluar la concentración de glucosa (azúcares reductores, °Brix) presentes en el mosto a lo largo de la fermentación.
- Evaluar el pH a lo largo de la fermentación del mosto.
- Cuantificar el bioetanol obtenido por cromatografía de gases.

2.3. HIPOTESIS:

La mejor condición para la obtención de bioetanol por fermentación es la formulación que tiene una concentración de Levadura de 0.2% y una menor relación agua: mosto (0:100), pues se obtiene una mayor concentración de Etanol de 8 gr/L para su posterior destilación.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



Los parámetros óptimos para la obtención de etanol son: caudal de alimentación (3) y reflujo (0.8), pues se obtendrá una mayor concentración de Etanol. Según S. Gutierrez, (2011); Estudió la obtención de etanol, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo fermentador a partir de la fermentación del jugo de mango (mosto) "criollo"; muestran que los resultados obtenidos durante la determinación de las condiciones óptimas, demostraron que tanto la cantidad de levadura como la proporción de agua adicionada al mosto, no son tan determinantes en el consumo de los azúcares reductores; sin embargo, se encontró que la proporción de agua es un factor importante a considerar en la fermentación, ya que esta determina la facilidad con la que se realiza la filtración y posteriormente la destilación del producto final de la fermentación. L. Sansen et al., (2009) investigaron la obtención de etanol a partir de la fermentación alcohólica del mango; obteniéndose en la fermentación una concentración promedio de 25.000 mg/L de etanol y un rendimiento del 5,34 % en la destilación usando el rota-vapor. Los resultados obtenidos indican que mediante la fermentación alcohólica del mango se obtiene etanol en un periodo de una semana, partiendo de la materia prima caracterizada.

2.4. MARCO TEORICO:

2.4.1. Bioetanol:

El bioetanol se puede definir como aquel alcohol etílico o alcohol carburante, líquido, cuya fórmula química es C_2H_5OH , que se produce de la fermentación de cultivos agrícolas que contienen azúcares, almidones o celulosa,



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



según las tres vías actuales de obtención del bioetanol, esquematizadas en el siguiente gráfico. (GAIA, 2008).

El bioetanol o simplemente etanol (EtOH), corresponde a uno de los dos tipos de biocombustibles líquidos, este puede usarse directamente como combustible o como oxigenante de la gasolina. La gasolina necesita de aditivos que aumenten su octanaje y así disminuir su capacidad autodetonante, incrementando su resistencia a la compresión. (Gutiérrez S., 2011).

El uso de EtOH como oxigenante de la gasolina representa varias ventajas:

- Mayor contenido de O₂ (menor cantidad de aditivo requerido)
- No es tóxico
- Reduce más las emisiones de CO
- No contamina las fuentes de agua.
- Puede ser utilizado como materia prima en la producción de ETBE.

A nivel mundial, Brasil es el principal productor de EtOH obtenido a partir de la caña de azúcar, seguido por EE.UU. a partir del maíz. A través del programa Proalcohol en Brasil se ha utilizado el alcohol hidratado como combustible y el alcohol anhidro como oxigenante. En los EE.UU. hay también un programa de adición de EtOH a la gasolina que se vio impulsado especialmente por el Clean Air Act. Amendments en 1990. De igual manera Francia tiene un programa de obtención de EtOH a partir de remolacha azucarera; la



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



oxigenación de la gasolina se hace en este país a través de la síntesis de ETBE a partir de EtOH. (Gutiérrez. S, 2011).

2.4.2. Residuos Fermentables de Mango:

Llamamos residuo a cualquier tipo de material que esté generado por la actividad humana y que está destinado a ser desechado. Hoy en día la sociedad tiende en gran medida hacia los productos descartables, generándose de esta manera una necesidad de producir más y más elementos de consumo. (Quizhpi. L, 2008).

Los residuos fermentables de Mango son los restos de pulpa que están adheridas a la cascara y pepa, así como de las mermas de proceso, provenientes de la Industria Agroexportadora, principalmente de Mango Congelado "IQF", siendo la misma, una materia prima rica en Azúcares Reductores, los cuales se pueden aprovechar para la obtención de Etanol. Los azúcares que se encuentran en mayor proporción en el mango son: glucosa, fructosa, sacarosa y xilosa. La sacarosa la responsable del sabor dulce, y no la fructosa como generalmente sucede. Todos estos azúcares son susceptibles de someterse a un proceso de fermentación alcohólica (Gutiérrez. S, 2011).

2.4.3. Levadura:

Las levaduras son organismos vivos. El nombre científico de la levadura que se utiliza para la fermentación del azúcar es *Saccharomyces cerevisiae*, que significa "m.o que fermenta el azúcar de un cereal para producir alcohol y dióxido de carbono". (Quizhpi. L, 2008).



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



La *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia, debido principalmente a su capacidad de convertir eficientemente azúcares, como los que se encuentran en mostos de uva, frutas, cebada y otros cereales y leche en alcohol y CO₂. La levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) es un microorganismo unicelular, es un tipo de levadura utilizado industrialmente en la fabricación de pan, cerveza y vino. Se divide por gemación, presenta un crecimiento exponencial y puede tener una reproducción asexual cuando se encuentra en su forma haploide o de manera sexual cuando a partir de un cigoto se forma un asca que contiene cuatro ascosporas haploides. (Gutierrez. S, 2009)

2.4.4. Fermentación:

La fermentación alcohólica es una bioreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono. La conversión se representa mediante la ecuación:



Las principales responsables de esta transformación son las levaduras. La *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia. Por supuesto que existen estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas Mobilis*, pero la explotación a nivel industrial es mínima. (Vázquez. H y Dacosta. O, 2007).



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO₂ por 1g de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque como se señaló anteriormente, la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. El rendimiento experimental varía entre 90% y 95% del teórico, es decir, de 0.469 a 0.485 g/g. Los rendimientos en la industria varían entre 87 y 93% del rendimiento teórico (Boudarel, 1984). Otro parámetro importante es la productividad (g/h/l), la cual se define como la cantidad de etanol producido por unidad de tiempo y de volumen. (Vázquez. H y Dacosta. O, 2007).

2.4.5. Destilación

La destilación es una de las operaciones básicas más importantes de la industria química y que permite separar los componentes de una mezcla líquida al estado de sustancias puras. (Geankoplis, 1995)

La destilación es una operación unitaria que tiene por objeto separar, mediante vaporización, una mezcla de líquidos miscibles y volátiles en sus componentes. Esta separación se basa en aprovechar las distintas presiones de vapor de los componentes de la mezcla a una cierta temperatura. Cuando existe interacción entre las fases líquido y vapor, la destilación recibe el nombre de rectificación. En caso de que no se presente esta interacción, se la denomina destilación simple. En la rectificación, al interaccionar las fases, la gaseosa va enriqueciéndose en el componente más volátil,



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



mientras que la líquida lo hace en el más pesado. Esta interacción entre las fases puede llevarse a cabo en etapas de equilibrio o mediante un contacto continuo. Otros tipos de destilación, distintos a los mencionados, son por arrastre de vapor, destilación azeotrópica y extractiva. (Ibarz, et al., 2009)

2.4.6. Definición de términos básicos:

- **Glucosa:**

Monosacárido que constituye la fuente de energía de los organismos vivos, se presenta libre en frutos, en la miel y en otras partes de vegetales. Es de sabor dulce, soluble en agua, pero poco soluble en disolventes orgánicos.

- **Grados Brix**

Los grados Brix (símbolo °Bx) miden el cociente total de sacarosadisuelta en un líquido; una solución de 25 °Bx tiene 25 g de azúcar (sacarosa) por 100 g de líquido o, dicho de otro modo, hay 25 g de sacarosa y 75 g de agua en los 100 g de la solución.

Los grados Brix se miden con un sacarímetro, que mide la gravedad específica de un líquido o más fácilmente, con un refractómetro.

- **pH:**

El pH es una medida de la acidez o basicidad de una solución, a través de este se determinan la concentración de iones o cationes hidrógeno [H⁺] presentes en una sustancia; la sigla significa "potencial de hidrógeno". Este



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



término fue acuñado por el químico danés Sorensen, quien lo definió como el logaritmo negativo de base 10 de la actividad de los iones hidrógeno. El valor del pH se puede medir de forma precisa mediante un potenciómetro, también conocido como pH-metro; este es un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos: un electrodo de referencia (generalmente de plata/cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ión hidrógeno.

- **Azúcares Reductores:**

Los azúcares reductores son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar como reductores con otras moléculas.

- **Inóculo:**

Pequeña cantidad de sustancia, que se inocula, es decir que se introduce en un organismo, sustancias extrañas como virus, bacterias, vitaminas, hormonas, sueros etc.

- **Cromatografía de Gases:**

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



2.5. CONCLUSIONES:

- Se obtuvo etanol por medio de la fermentación alcohólica de los residuos fermentables del Mango, usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en un periodo de una semana, alcanzando una concentración de etanol de 5.25% (p/v).
- La caracterización fisicoquímica de los residuos fermentables del Mango, dio como resultados valores adecuados: 17°Brix, Humedad = 79%, pH = 4.02 y Densidad (kg/cm³)= 1.02, % Recuperación = 7.8% que permitieron obtener bioetanol de calidad.
- Los resultados Fermentativos obtenidos en este trabajo demuestran que a una concentración de Levadura de 0.2% y una Relación Agua: Mosto de 0.5 (35:65) se obtiene una mayor Concentración de Etanol de 5.25%.
- Del presente trabajo se puede observar que la cantidad aproximada de azúcares va disminuyendo lentamente en las 12 primeras horas, esto se debe a que los microorganismos, en ese tiempo comienzan a reproducirse. Mientras que de las 16 a 34 horas, la disminución fue más rápido, y es directamente proporcional a la cantidad de solidos solubles (° Brix).
- Se observó el comportamiento del pH es forma descendente debido al aumento de los ácidos producto de proceso de fermentación.
- Los parámetros óptimos determinados a partir del presente trabajo para la obtención de Bioetanol mediante destilación rectificada en continuo en una UDCA/EV son: 3L/h de flujo y 0.8 de reflujo de



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



destilado, obteniendo 994.625 mL de Destilado a 64.25°G.L, con un rendimiento de 60.85% de Etanol.

- Se cuantificó la Cantidad de Etanol presentes en los diversos tratamientos de trabajo de Destilación, cuyo valor óptimo fue 64.25% (p/v)

2.6. RECOMENDACIONES:

- Se recomienda Intentar la fermentación de una mayor porción del mango, incluyendo la cascara y semilla y determinar si la obtención de etanol aumenta.
- Se recomienda realizar estudios para la obtención de bioetanol a partir de residuos orgánicos de otras Frutas usando catalizadores ácidos y enzimáticos. De esta manera comparar sus rendimientos.
- Realizar un estudio de la vida útil y características fisicoquímicas del bioetanol obtenido refiriéndose a su estabilidad en el tiempo.
- Realizar un estudio microbiológico de los Residuos Fermentables del Mango, a fin de verificar la posible contaminación con microorganismos que puedan afectar el proceso fermentativo.
- Se recomienda realizar pruebas del bioetanol obtenido en motores a largo plazo, para verificar su comportamiento.
- Implementar los laboratorios con equipos que permitan realizar los análisis convenientes para asegurar que el bioetanol obtenido



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



cumple con las normas establecidas lo que permitiría un mejor estudio de este tipo de investigación.

- Se recomienda realizar un estudio de costos de producción para la obtención de bioetanol a partir de los residuos fermentables del Mango, a fin de implementarse industrialmente como alternativa energética.
- Utilizar los subproductos de la fermentación ricos en proteínas (Levadura y Sólidos) como alimento balanceado para animales u otros fines.

2.7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- CERRO RUIZ S. (2005), Evaluación de parámetros influyentes en la caracterización de un pisco mosto verde de uva Italia (vitis vinífera l) de Magollo, Tacna, Ciencia & Desarrollo. Pag. 71 – 74.
- León Castro (2009). Valoración del potencial de frutos de tres musáceas para la producción de alcohol a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agropecuario Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil – Ecuador.
- Ligerio L. E. (1999), Proceso alternativo para la producción de Etanol anhidro usando una sal como agente de separación. Tesis doctoral. Universidad estatal de Campinas, Facultad de Ing. Química, Departamento de Ing. de Sistemas Químicos. Campinas - Brasil.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



- Norma UNIT 184-70, BEBIDAS ALCOHÓLICAS, Método usual, por picnometría, para determinar la densidad y la densidad relativa.

- Salinas Fernández M. R. (2003), La destilación a presión reducida como método de separación de componentes aromáticos mayoritarios de mostos y vinos. Área de Edafología y Química Agrícola de la Escuela Universitaria Politécnica de Albacete. Universidad de Castilla - La Mancha. Pág. 217 – 222.

- Valdés-Duque B. E., Castaño-Castrillón J. J. y Arias-Zabala M. (2002), Obtención de etanol y una bebida alcohólica tipo aperitivo por fermentación de plátano maduro. Cenicafé 53(3): 239-251.

- Valiente-Barderas, Antonio, (1990). Diccionario de Ingeniería Química, Alhambra, México,

- Vázquez H. J. y Dacosta O, 2007, Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas, INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII. 4. 249-259, 2007 (artículo arbitrado).

- Warren L. McCabe, Julian C. Smith, Peter Harriot. Operaciones Unitarias en Ingeniería Química. Ed. Mc Graw Hill. 2007.

- OCON, J. y TOJO, G. 1982. Problemas de Ingeniería Química Operaciones Básicas. Tomo I. Tercera Edición. Editorial Aguilar S.A. Madrid. España.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



- Gutiérrez, S. 2009. Tesis: Obtención de Bioetanol a partir del Mango Criollo del Itsmo de Tehuantepec. Santo Domingo Tehuantepec Oaxaca.
- OWEN, Wourd. 1991. Biotecnología de las Fermentaciones. Editorial Acribia, Zaragoza.
- QUIZHPI LÓPEZ, Luis Fernando. 2008. "Obtención de etanol a partir de los residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista de Riobamba". Riobamba, Ecuador. Tesis Ingeniero en Biotecnología Ambiental.
- IBARZ, A. y BARBOZA – CANOVAS, 2009. Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos. Segunda Edición. Ediciones Mundi – Prensa. Barcelona – España.
- GEANKOPLIS, C. 1995. Procesos de transporte y Operaciones Unitarias. Segunda Edición. Editorial Continental S.A. México.

Páginas web:

- Página Web de la Asociación Peruana de Exportadores de Māngo(<http://www.apem.org.pe/>)
- Cultivo del mango. Disponible en: (http://www.agrobanco.com.pe/cultivo_del_mango.pdf)
- GAIA: Grupo de Aviacion, Ingenieria y Arquitecturas (<http://www.grupogaia.com>)