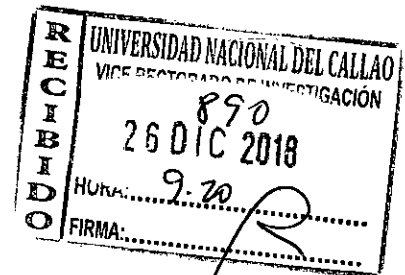


UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

**FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE
ALIMENTOS**



UNIDAD DE INVESTIGACION DE LA FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS ENE 2019'



INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“BIOTRANSFORMACIÓN DE ALMIDÓN A ETANOL POR
VÍA ENZIMÁTICA Y FERMENTATIVA DEL COTILEDÓN DE
LA PEPA DEL MANGO (Mangifera indica)”**

AUTOR: DOMINGO JAVIER NIETO FREIRE

**PERIODO DE EJECUCIÓN DEL 01 Octubre 2016 al 30 Setiembre
2018**

**Aprobado mediante resolución N° 868-2016–R del 28 de Octubre del
2016**

CALLAO, 2018

I ÍNDICE

	pág.
II RESUMEN Y ABSTRACT	7
2.1 Resumen	7
2.2 Abstract	8
III INTRODUCCIÓN	9
3.1 Objetivo	9
3.2 Importancia	9
3.3 Justificación	9
IV MARCO TEÓRICO	10
4.1 El Mango	10
4.2 El Almidón	15
4.3 De Almidón a Glucosa	20
4.4 Glucosa	21
4.5 Fermentación de la Glucosa	24
4.6 Etanol	27
4.6.1 Generalidades del Etanol	28
V MATERIALES Y METODOS	33
5.1 Materiales	33
5.1.1 Equipos	33
5.2 Métodos	33
5.2.1 Materia prima	34

	pág.
5.3 Determinación de tamaño de muestra	36
5.4 Identificación de variables	37
5.5 Operacionalización de las variables	38
VI RESULTADOS	42
6.1 Pruebas de obtención de almidón del cotiledón de la pepa de mango	42
6.2 De almidón a glucosa vía enzimática	43
6.3 Segunda etapa de glucosa a etanol	55
6.4 Relación de porcentajes obtenidos en todo el proceso	61
VII DISCUSION	62
VIII REFERENCIALES	63
IX APENDICE	66
X ANEXOS	71
10.1 Matriz de Consistencia	71

	pág.
1.1 TABLAS	
Tabla N° 5.1 Determinación del nivel de confianza	37
Tabla N° 6.1 Obtención del cotiledón de la pepa de mango	42
Tabla N° 6.2 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos	42
Tabla N° 6.3 Etapas de conversión de almidón a glucosa	
- Enzima A	44
Tabla N° 6.4 Datos de almidón a glucosa - enzima A	45
Tabla N° 6.5 Resultados de ANOVA de almidón a	
glucosa - enzima A	46
Tabla N° 6.6 Etapa de conversión de almidón	
a glucosa - enzima B	50
Tabla N° 6.7 Datos para ANOVA de conversión de almidón	
a glucosa - enzima B	51
Tabla N° 6.8 Resultados de ANOVA de almidón	
a glucosa - enzima B	52
Tabla N° 6.9 Etapa de conversión de Glucosa a Etanol	56
Tabla N° 6.10 Resultados de ANOVA para la conversión	
De Glucosa a Etanol	57

	pág.
1.2 CUADROS	
Cuadro N° 4.1 Clasificación Taxonómica	11
Cuadro N° 5.1 Definición de las variables	38
Cuadro N° 5.2 Operacionalización	39
Cuadro N° 6.1 Relación de conversión cotiledón- almidón-glucosa	61

	Pág.
1.3 FIGURAS	
Figura N° 4.1 Taxonomía del Mango	10
Figura N°4.2 El Mango	13
Figura N°4.3 Amilosa enlaces 1-4	16
Figura N°4.4 Amilo pectina	17
Figura N°4.5 Almidón	18
Figura N°4.6 Micrografía electrónica de gránulos de almidón de la almendra de mango variedad Alphonso (Mangifera indica L)	19
Figura N° 4.7 Molécula de Glucosa	23
Figura N° 4.8 Construcción de una Planta de Etanol (argentina)	30
Figura N° 4.9 Molécula de Etanol	32
Figura N° 5.1 Etapa I Flujo del Diseño Experimental	40
Figura N° 5.2 Etapa II Flujo del Diseño Experimental	41

	Pág.
1.4 Gráficas.	
Gráfica N° 5.1 Determinación del Universo Muestral	34
Gráfica N° 5.2 Exportaciones peruanas de mangos	35
Gráfica N° 5.3 Exportaciones peruanas de mangos por empresas en miles de dólares americanos años 2016-2017	36
Grafica N°6.1 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos	43
Gráfica N° 6.2 Superficie respuesta con resultados de Almidón a Glucosa con enzima A	47
Gráfica N° 6.3 Superficie respuesta Almidón a Glucosa con la enzima A con puntos centrales	48
Gráfica N° 6.4 Resultados superficie contorno de Almidón a Glucosa con enzima A	49
Gráfica N° 6.5 Superficie respuesta con resultados de Almidón a Glucosa con enzima B	53
Gráfica N° 6.6 Resultados Superficie Contorno respuesta con resultados de Almidón a Glucosa con enzima B	54
Gráfica N° 6.7 Relación Glucosa – Enzima B para 200 g Almidón	55
Grafica N° 6.8 Superficie de Respuesta de Glucosa – Etanol	58
Gráfica N° 6.9 Relación Glucosa Etanol	59
Gráfica N° 6.10 Superficie Contorno de Glucosa a Etanol	59
Gráfica N° 6.11 Diagrama Pareto de glucosa a etanol	60

II RESUMEN y ABSTRACT

Resumen

El objetivo de este trabajo fue la conversión del almidón de los cotiledones de la pepa de mango en etanol (C_2H_5OH) para ser utilizado como gasohol. Después de la obtención del almidón de los cotiledones por molienda húmeda, se realizaron dos etapas siendo la primera etapa la conversión de almidón a glucosa para lo cual se probaron dos enzimas A= α -amilasa; pH=7; 30°C ; 80 rpm y la B= Termamyl 120-L ; pH=7 ; 30 °C y 80 rpm dando mejores resultados la enzima B. La segunda etapa fue la conversión de glucosa a etanol que se desarrolló utilizando la enzima zimasa con control de temperatura 28-30°C con un pH entre 6-7 con una agitación de 20 rpm, para después realizar una separación por destilación. Como resultado de la de investigación de la conversión de almidón de pepa de mango por vía enzimática y fermentativa se obtuvieron 0,229 L etanol por 1k de cotiledón.

ABSTRACT

The objective of this work was the conversion of the starch of the cotyledons of the mango peel into ethanol (C_2H_5OH) to be used as gasohol. After obtaining the starch of the cotyledons by wet milling, two stages were carried out, the first stage being the conversion of starch to glucose for which two enzymes A = α -amylase were tested; pH = 7; 30 ° C; 80 rpm and B = Termamyl 120-L; pH = 7; 30 ° C and 80 rpm giving better results for enzyme B. The second stage was the conversion of glucose to ethanol that was developed using the zymase enzyme with temperature control 28-30°C with a pH between 6-7 with an agitation of 20 rpm, to then perform a separation by distillation. As a result of the investigation of the conversion of mango peel starch enzymatically and fermentatively, 0.299 L ethanol per 1k of cotyledon was obtained.

III. INTRODUCCIÓN

3.1 OBJETIVO

El empleo del etanol como combustible de automóvil data después de la Primera Guerra Mundial, en la actualidad se utiliza una mezcla gasolina alcohol (gasohol) en los servicentros de combustible en el Perú.

La investigación desarrollada trata sobre la obtención de etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) a partir de un desecho agroindustrial como lo es la pepa de mango. Siendo el cotiledón de la pepa de mango la fuente de almidón el cual fue convertido a etanol.

La investigación enfoca la conversión del almidón de la pepa de mango (*Mangifera indica*) a glucosa vía enzimática para luego efectuar la fermentación de glucosa a alcohol. Observando el rendimiento del proceso de estas etapas.

3.2 IMPORTANCIA

La importancia de aprovechar subproductos que son desechos de la industria alimentaria como lo es la pepa del mango, después de la obtención de concentrado de néctar de dicha fruta; se planteó la posibilidad de utilizar los cotiledones de dicha pepa con la finalidad de obtener un producto apreciado como lo es el etanol.

3.3 JUSTIFICACIÓN

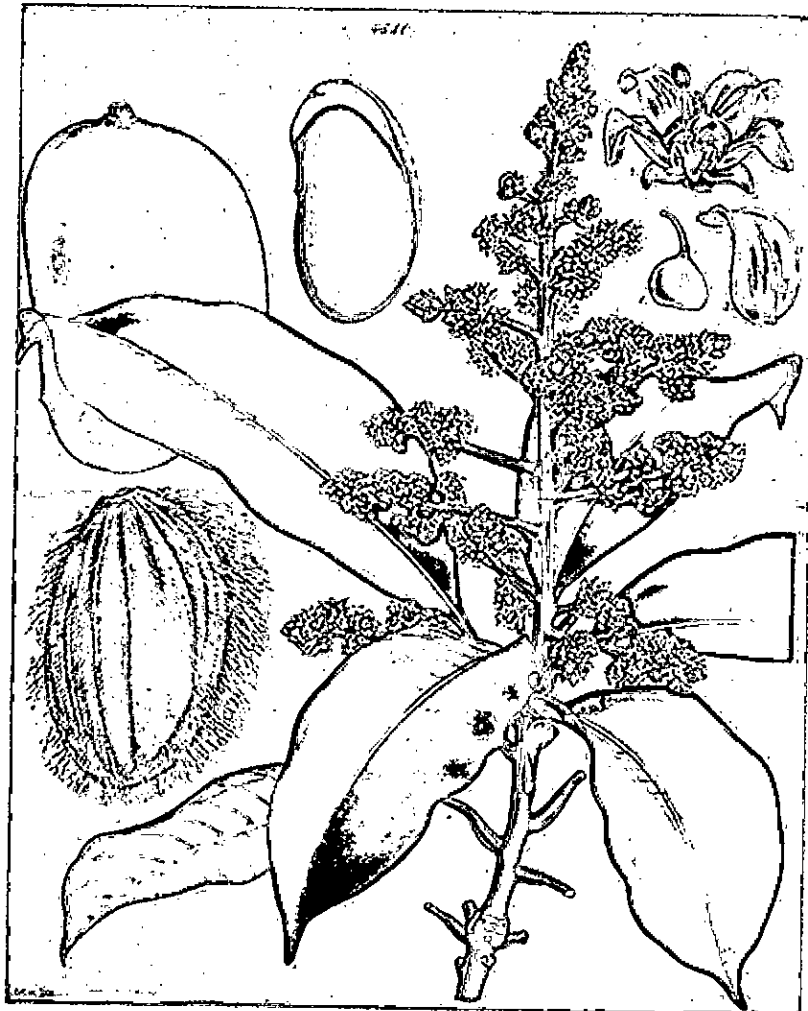
La incorporación del etanol como biocombustible permitió mejorar nuestra relación con el medio ambiente, al disminuir el consumo de gasolina proveniente del petróleo.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 El Mango

FIGURA N° 4.1

Taxonomía del Mango



Fuente: Botánica Magazine 1875

CUADRO N° 4.1
Clasificación Taxonómica

Reino:	Plantae
Filo:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Sapindales
Familia:	Anacardiaceae
Tribu:	Anacardieae
Género:	<i>Mangifera</i>
Especie:	<i>Mangifera indic</i>

Fuente: Botánica Magazine 1875

El árbol del mango típico es tamaño mediano, de 10-30 m de la altura el tronco es más o menos recto, cilíndrico y de 75- 100 cm de diámetro y la corona es densa y ampliamente oval o globular. La forma de su fruto es generalmente ovoide oblonga, notoriamente aplanada, redondeada, u obtusa a ambos extremos, de 4 a 25cm. de largo y de 1.5 a 10cm. de

grosor su color puede estar entre verde, amarillo y diferentes tonalidades de rosa, rojo y violeta la pulpa madura es de textura firme debido a la abundante cantidad de fibra fina.

Según (Agrobanco, 2007) "El mango siendo un cultivo aparentemente originario del noroeste de la India, llegando a occidente por intermedio de los portugueses, su cultivo en el Perú se inicia con la llegada de los españoles.

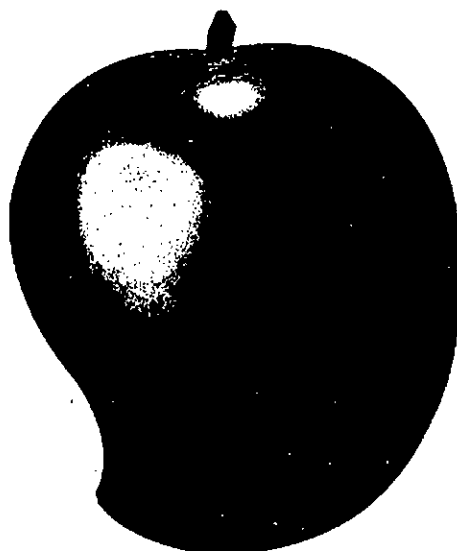
Las extensiones mundiales de siembra se han venido incrementando en la última década, llegando a ser en el año 2005 cercanas a las 3 870 070 hectáreas siendo el principal productor la India, seguido de otros países importantes como China, Tailandia, Pakistán, México, Indonesia, entre otros.

En la actualidad, los valles Piura (77.42 % de la producción nacional total pertenecen a este departamento) y Lambayeque son los que poseen el mayor porcentaje de producción de mangos en el Perú. Esto se debe a las condiciones favorables en cuanto a la naturaleza, la tecnología y la mayor capacidad empresarial. El principal productor mundial de mango es India quien junto a Cabo Verde son los países que poseen los mayores rendimientos de este cultivo a nivel mundial (45 TN /HA).



FIGURA N° 4.2

El Mango



Fuente: <https://3.bp.blogspot.com/>-

Las exportaciones peruanas de este cultivo se han convertido en la principal fruta fresca de exportación (fue valorizada en 63 millones de dólares FOB. Durante el año 2006.

Siendo sus principales competidores los países de Sudáfrica, Brasil y Ecuador. La principal forma de exportación de mango se da como fresco, representando el 82% del total de exportaciones y el principal destino es EE. UU. seguido de Holanda.”

De lo cual se deduce que el 8% es para consumo interno después veremos qué porcentaje se industrializa, en el Perú.

Sigue la misma fuente dándonos información importante sobre este fruto.

“Variedades: El mango es llamado en el hemisferio norte como “manzana de los trópicos” se considera actualmente como una de las frutas más

finas en el mundo, existiendo una gran variedad de este, entre las cuales se destacan las siguientes:

- a) Variedad de color Rojo
- b) Variedad Verde
- c) Variedad Amarilla
- a) Variedad Roja: Edward, Haden, Kent, Tommy Atkins, Zill.

Luego describe a cada una de las variedades mencionadas:

a.1.- Kent: Esta variedad es de tamaño grande, pesando aproximadamente de 500 a 800 gr. , posee un color amarillo anaranjado adquiriendo en la madurez una chapa rojiza, es de forma ovalada orbicular, de agradable sabor, jugoso de poca fibrosidad y de alto contenido de azúcares (variedad semi- tardía).

a.2.- Haden: Es de tamaño medio grande, pesando aproximadamente de 380 a 700 gramos, adquiriendo en la madurez un color rojo – amarillo también con capa rojiza. Posee forma ovalada, de pulpa firme y de color y sabor agradable (variedad de media estación).

a.3.- Tommy Atkins: Posee un tamaño grande, pesando aproximadamente 600 gr. posee una forma oblonga, oval, resistente a daños mecánicos y con mayor periodo de conservación pero no posee las mejores características en cuanto a sabor y aroma (variedad tardía).

b) Variedad Verde: Keitt, Amelia, Julie, Alphonse

b.1.- Keitt: Posee un tamaño mediano grande, pesando aproximadamente 600 gr. es de forma ovalada y posee una pulpa de poca fibrosidad, jugosa y muy firme

b.2.- Amelia: Posee poco contenido de fibra.

c) Variedad Amarilla: Ataulfo, Manila súper, Nam Doc Mai.

De estas variedades se utilizó para este trabajo de investigación la variedad Haden.

4.2 El Almidón

Por lo señalado por (Calvo, 2018) con respecto a la estructura del almidón nos señala "El almidón es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de los vegetales, y la principal fuente de calorías de la mayoría de la Humanidad. Es importante como constituyente de los alimentos en los que está presente, tanto desde el punto de vista nutricional como tecnológico. Gran parte de las propiedades de la harina y de los productos de panadería y repostería pueden explicarse conociendo el comportamiento del almidón.

Además el almidón, aislado, es un material importante en diversas industrias, entre ellas la alimentaria. La técnica para su preparación se conocía ya en el antiguo Egipto, y está descrita por diversos autores clásicos romanos. En esas épocas se utilizaba especialmente para dar resistencia la papiro, y como apresto de tejidos. Actualmente la industria alimentaria es un gran consumidor, al ser el más barato de los materiales gelificantes.

A nivel mundial, son importantes fuentes de almidón el maíz, trigo, patata y mandioca. A escala local, o para aplicaciones especiales, se obtiene también almidón de la cebada, avena, centeno, sorgo, sagú, guisante, batata y arrurruz.

El almidón más importante desde el punto de vista industrial es el de maíz. Al año se utilizan unos 60 millones de toneladas de maíz para fabricar almidón, bien para su uso como tal o como materia prima para la obtención de glucosa y fructosa.

Polisacáridos constituyentes del almidón

Lo que llamamos almidón no es realmente un polisacárido, sino la mezcla de dos, la amilosa y la amilopectina. Ambos están formados por unidades de glucosa, en el caso de la amilosa unidas entre ellas por enlaces a 1-4

lo que da lugar a una cadena lineal. En el caso de la amilopectina, aparecen ramificaciones debidas a enlaces a 1-6.

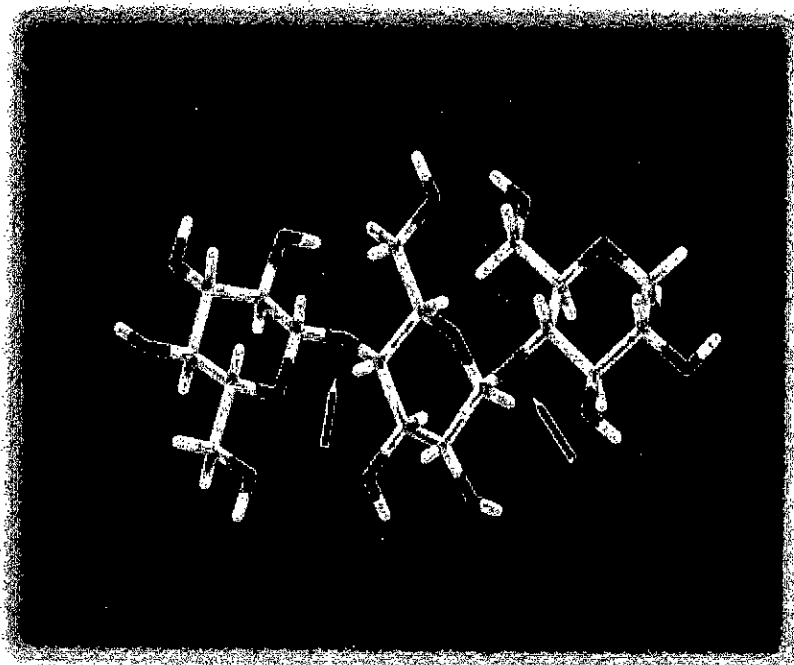
La amilosa es una cadena teóricamente lineal, pero en la práctica existen algunas sustituciones iguales a las de la amilopectina, una cada varios centenares de moléculas, que no modifican sus propiedades. El peso molecular de las cadenas de amilosa es del orden de un millón.

Como se observa en la figura 4.3

FIGURA N° 4.3

AMILOSA

ENLACES 1-4 GLUCOSA



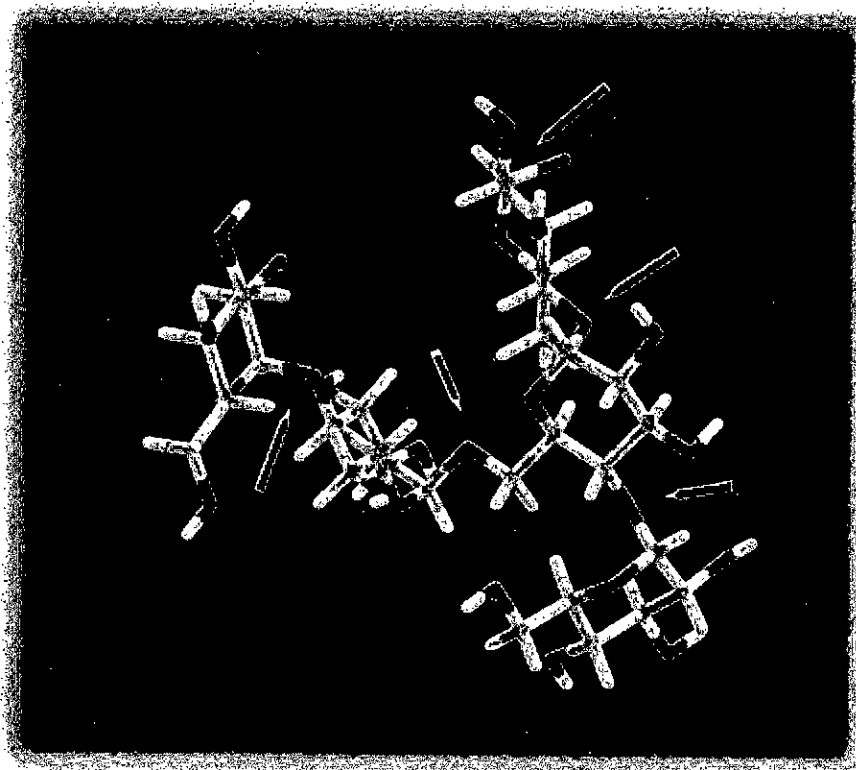
Fuente: Calvo 2018



En la amilopectina se encuentran dos tipos de enlace entre las unidades de glucosa, los a 1-4 como en la amilosa, y los a 1-6 que dan lugar a las ramificaciones. Como se observa en la figura 4.4

FIGURA N° 4.4

AMILOPECTINA



Fuente: Calvo 2018

Enlaces en la amilopectina. Las flechas de color rojo señalan los enlaces a 1-4, la de color verde un enlace a 1-6 y la de color azul el extremo reductor terminal.

(Calvo, 2018) "En la amilopectina, las ramificaciones aparecen cada 20 o 30 glucosás. Las cadenas de las ramificaciones se ramifican a su vez, y aunque la estructura no está totalmente aclarada, parece probable que se encuentren no ramificadas al azar, sino formando una estructura que

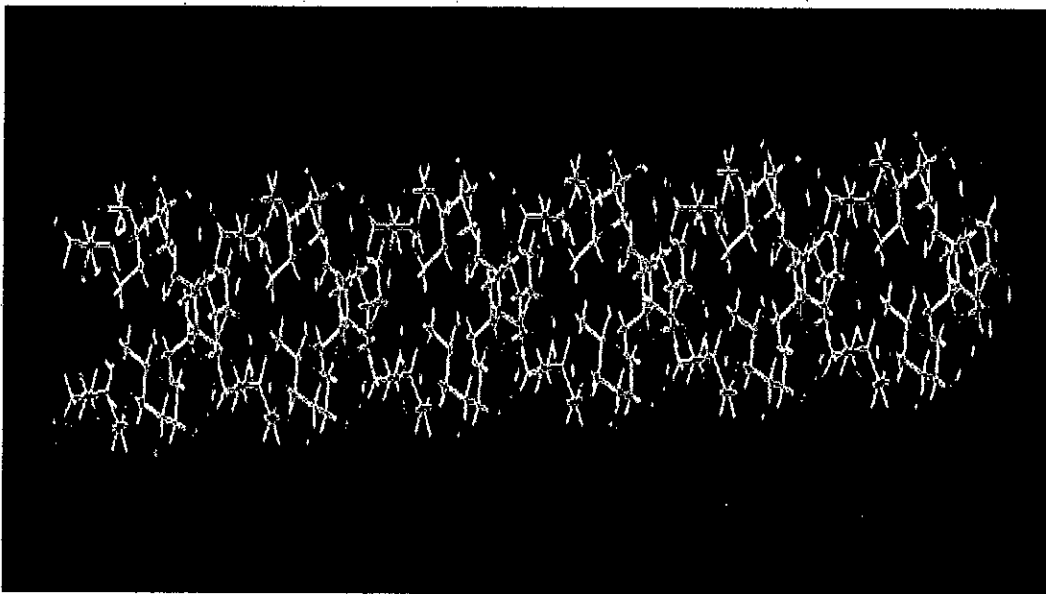
podríamos llamar "fractal", alrededor de una cadena central, que es la única que tiene un extremo reductor. El resultado son moléculas enormes de un peso molecular entre 10 millones y 500 millones. En algunos almidones, como el de patata, la amilopectina tiene también algunos ésteres de fosfato". Como se ve a continuación.

Las cadenas de almidón se asocian mediante puentes de hidrógeno, formando una hélice doble.

Esta asociación se produce a lo largo de tramos de cadenas de amilosa y entre las ramificaciones de las cadenas de amilopectina. Las zonas de doble hélice son responsables de los dominios cristalinos que se observan dentro de los gránulos de almidón.

FÍGURA N°4.5

ALMIDÓN

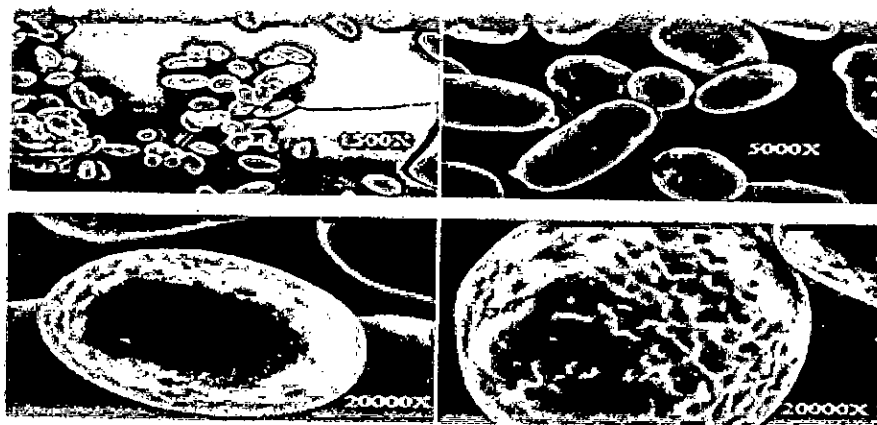


Fuente: Calvo 2018

Si nos preguntamos que es el almidón, encontramos como respuesta lo que nos dicen (Agama Acevedo, 2013) . "Que el almidón es un polímero de glucosa que constituye el principal producto de almacenamiento en las semillas de las plantas". A la pregunta sobre qué factores permiten que el almidón de las plantas sean hidrolizados, los autores (Bernal & Martínez Barajas, 2006) establecen ante este cuestionamiento que es fundamental la estructura del granulo del mismo, dentro de esta estructura, y la presencia de la β -amilasa es fundamental para su relación hidrolítica con las proteínas que propician su degradación. El estudio de los gránulos de almidón de almendra de mango de la variedad criolla, (*Mangifera indica* L.) realizado por (Saavedra Garcia, repositoio.unsm.edu.pe, 2000) quien nos indica que presenta un porcentaje de amilosa (39.67%) y un rendimiento de almidón del 12.32% con respecto a la semilla de mango. Lo interesante de este trabajo es la presentación de la micrografía electrónica de gránulos del almidón del cotiledón de la pepa de mango.

FÍGURA N°4.6

MICROGRAFIA ELECTRÓNICA DE GRÁNULOS DE ALMIDON DE LA ALMENDRA DE MANGO VARIEDAD Alphonso (*Mangifera indica* L).



Fuente: <https://www.researchgate.net/figure/Analisis-proximal-aplicado-a-la-almendra-del-mango-de-la-variedad-Alphonso-Mangifera>.

12

4.3 De Almidón a Glucosa.

Esta operación se realizó efectuando una hidrólisis enzimática. Existen varios trabajos de investigación donde describen como obtener glucosa del almidón a partir de otras fuentes como materia prima de almidones como por ejemplo el realizado a partir del almidón de yuca realizado por (Cataño & Ingrid, 2005) quienes utilizaron enzimas a partir del *aspergillus niger* a diferentes temperaturas pH.

Los autores (Aldave & Novo) cuyo estudio comprendió la determinación de velocidades iniciales, así como estudios del efecto de los siguientes factores; concentración de la enzima, control pH, temperatura y el coeficiente en la actividad enzimática.

O lo señalado por (Borneo, 2013) El almidón está constituido esencialmente por glucosa. Una hidrólisis del almidón resultaría en una solución de glucosa, o lo que es lo mismo un jarabe de glucosa. Existen grandes operaciones industriales para transformar almidón en jarabes de glucosa que serán utilizado posteriormente como agentes edulcorantes (para dar sabor dulce) en diversos tipos de alimentos. Aunque parece un proceso simple la conversión de almidón a jarabes es bastante elaborado y tal vez complejo ya que involucra varias reacciones y procesos químicos. En primer lugar el almidón es mezclado con agua para hacer una suspensión de almidón. Esta suspensión es calentada (y el almidón por tanto gelatinizado) en presencia de ácidos. Esto produce una disminución de la viscosidad de la suspensión de almidón. Después de esta operación diversas enzimas son usadas para convertir el almidón en jarabes de azúcares. Mezclas de alfa y beta amilasas pueden ser usadas para obtener jarabes de alto contenido en maltosa.

La glucoamilasa puede ser usada para producir jarabes de glucosa ya que esta enzima ataca al almidón desde el sitio no reductor e hidroliza los enlaces alfa 1-4 y alfa 1-6.

Un factor importante en la producción de estos jarabes es lo que se conoce como los grados de conversión dextrosa equivalente (DE). El grado de conversión dextrosa equivalente (DE) es una medida del porcentaje de enlaces glicosídicos (entre glucosas) que han sido hidrolizados (rotos). Después del tratamiento de una suspensión con ácidos el jarabe resultante tiene un grado DE de 40. Después de tratar ésta suspensión con alfa y beta amilasas se obtiene jarabes de maltosa de grados DE de 70 aproximadamente y con la glucoamilasa de 92-95. Mientras más alto es el DE mayor es el dulzor del jarabe ya que el mismo tiene mayor contenido de glucosa libre.

Si se quiere jarabes de mayor dulzor parte de la glucosa tiene que ser convertida en fructosa, un azúcar simple mucho más dulce que la glucosa (la glucosa tiene un dulzor relativo a sacarosa (el estándar 100) de 70, mientras que la fructosa de 180, es decir la fructosa es 1,8 veces mas dulce que la sacarosa). Esta conversión se logra enzimáticamente usando una enzima denominada glucosa isomerasa. Se puede producir un jarabe de alto grado DE a partir de maíz que es más barato que la sacarosa (azúcar común). Este (50% de glucosa, 42% de fructosa y 8% de otros azúcares) tiene el mismo dulzor relativo que el azúcar común. Se pueden producir jarabes de alto contenido de fructosa (60 y 90%) con técnicas que separan (intercambio iónico) la fructosa de la mezcla.

4.4 Glucosa

De (Molecules, 2016) "La glucosa ($C_6H_{12}O_6$) es una hexosa, un monosacárido que contiene seis átomos de carbono. La glucosa es un aldehído (contiene un grupo -CHO). Cinco de los carbonos más un átomo de oxígeno forman un bucle llamado "anillo de piranosa", la forma más estable para las aldosas de seis carbonos. En este anillo, cada carbono está vinculado a los grupos laterales hidroxilo e hidrógeno, con la excepción del quinto átomo, que se une a un sexto átomo de carbono

fuera del anillo, formando un grupo CH₂OH. Esta estructura de anillo existe en equilibrio con una forma acíclica más reactiva, que representa 0,0026% a pH 7.

La glucosa es un combustible ubicuo en la biología. Podemos especular sobre las razones por las cuales la glucosa, y no otro monosacárido como la fructosa, es tan ampliamente utilizado. La glucosa se puede formar a partir de formaldehído en condiciones abióticas, por lo que bien podría haber estado disponible para los sistemas bioquímicos primitivos. Probablemente, más importante para la vida avanzada es la baja tendencia de la glucosa, en comparación con otros azúcares de hexosa, a reaccionar de forma no específica con los grupos amino de las proteínas. Esta reacción (glicosilación) reduce o destruye la función de muchas enzimas. La baja tasa de glicosilación se debe a la preferencia de la glucosa por el isómero cíclico menos reactivo. En la respiración, a través de una serie de reacciones catalizadas por enzimas, la glucosa se oxida eventualmente para formar dióxido de carbono y agua, produciendo energía, principalmente en forma de ATP.

Químicamente unidos, la glucosa y la fructosa forman sacarosa. El almidón, la celulosa y el glucógeno son polímeros comunes de la glucosa (polisacáridos).

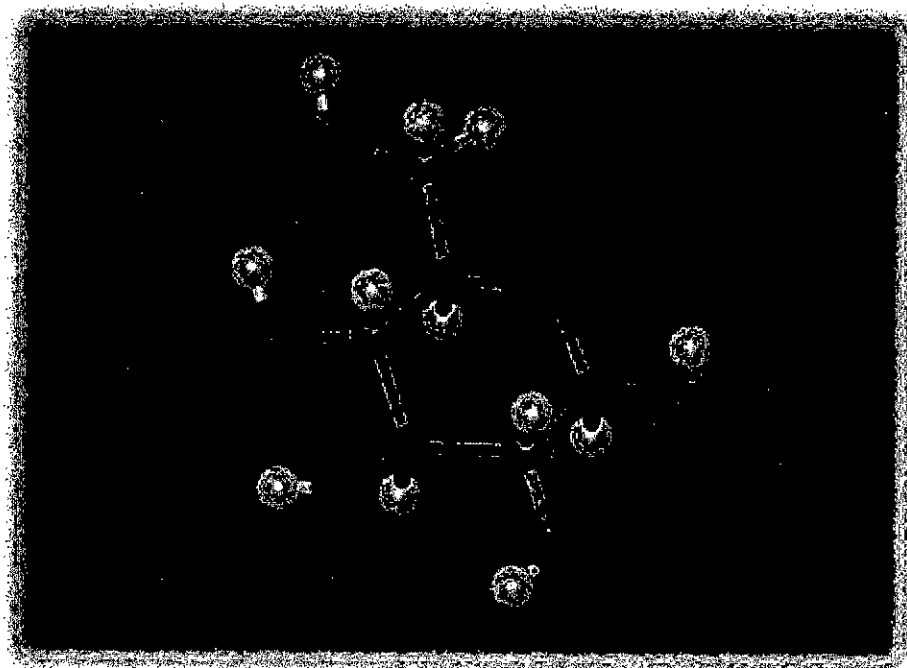
El nombre anterior de dextrosa surgió porque una solución de D-glucosa gira la luz polarizada hacia la derecha. En la misma vena, la D-fructosa se llamó "levulosa" porque una solución de levulosa rota la luz polarizada hacia la izquierda.

Isomería.- Hay dos enantiómeros (isómeros de imagen especular) del azúcar: D-glucosa y L-glucosa, pero en los organismos vivos solo se encuentra el isómero D. La estructura del anillo puede formarse de dos maneras diferentes, lo que produce α (alfa) glucosa y β (beta) (Rafael Borneo, 2013) glucosa. Estructuralmente, difieren en la orientación del

grupo hidroxilo unido al primer carbono en el anillo. La forma α tiene el grupo hidroxilo "debajo" del hidrógeno (como la molécula se dibuja convencionalmente, como en la figura anterior), mientras que la forma β tiene el grupo hidroxilo "arriba" del hidrógeno. Estas dos formas se inter convierten en una escala temporal de horas en solución acuosa, en una proporción de α : β 36:64, en un proceso llamado mutorrotación".

Es el azúcar más simple proveniente de la sacarosa. Cuya fórmula es $C_6H_{12}O_6$

FÍGURA N°4.7
MOLECULA DE GLUCOSA



Fuente: <https://static.vix.com/es/sites/default/files/styles/large>.

1/1

4.5 La Fermentación de la Glucosa

Si nos preguntamos que es la fermentación podemos tener como

Respuesta (Pérez & Merino, 2014) “Fermentación Para encontrar los orígenes del concepto de fermentación, tenemos que remontarnos al vocablo latino fermentatio. El término está asociado al verbo fermentar que, según el contexto, puede tratarse de un procedimiento del metabolismo para lograr la degradación de una sustancia, o de la acción de perturbarse o conmovirse.

La fermentación implica un proceso anaeróbico propio del catabolismo (una parte del metabolismo) que ofrece como resultado la conformación de un compuesto orgánico. Se dice que este procedimiento es anaeróbico ya que no requiere de oxígeno.

Es importante establecer que este proceso fue descubierto por el químico francés Louis Pasteur (1822 – 1895), conocido también por haber llevado a cabo importantes avances en el ámbito de la química y la microbiología tales como la pasteurización o la teoría germinal de lo que son las enfermedades infecciosas.

Al producirse la fermentación, el compuesto resultante obtiene energía pese a la falta de oxígeno (por eso se califica al proceso como anaeróbico). El pan, el vino y la cerveza son algunos de los productos de consumo cotidiano que son creados a partir de la fermentación.

Un protagonista clave en el desarrollo de la fermentación es la levadura. Esta denominación se otorga a hongos unicelulares que, a través de la fermentación, logran descomponer hidratos de carbono, azúcares y otras sustancias para generar diversos compuestos.

Además de todo lo expuesto, tenemos que dejar patente que existen diversos tipos de fermentación, igualmente importantes:

- Fermentación alcohólica. Bajo dicha denominación se encuentra el proceso consistente en otorgar a las levaduras energía anaeróbica en ausencia de oxígeno y a partir de la glucosa. El vino, el arroz, la cerveza o incluso la leche se pueden obtener mediante este procedimiento que puede ser, a su vez, de dos clases: natural o industrial.
- Fermentación láctica. En este caso, hay que exponer que en ella juegan un papel fundamental las bacterias y la glucosa. Y es que las primeras son las que llevan a cabo este proceso en el que se oxida la lactosa de manera parcial para obtener energía. Un claro ejemplo de dicha iniciativa es la acidificación de la leche.
- Fermentación acética. En este otro caso, lo que sucede es que unas bacterias de tipo aeróbico se encargan de transformar el llamado alcohol etílico en lo que es ácido acético.
- Fermentación ferroláica pcb.
- Fermentación butírica. Este otro proceso hay que destacar que se define por ser aquel en el que, ante la ausencia de oxígeno, las bacterias "Clostridium butyricum", las amilobacterias, convierten lo que son los glúcidos en ácido butírico.

Tomemos el caso de la fermentación del vino. Este proceso se conoce desde hace miles de años: los griegos, por ejemplo, creían que el dios Dionisio era el responsable de la sorprendente transformación de los azúcares presentes en el mosto (el zumo o jugo de la uva) en alcohol. La fermentación alcohólica, en definitiva,

libera energía al producir dióxido de carbono, que termina desplazando al oxígeno de los receptáculos destinados al proceso.

(Merino., 2014) Las enzimas.- Alrededor de los años 1890 la idea aceptada era que existía una fuerza vital en las células y no fue hasta la llegada de la bioquímica que cambió este concepto. Siendo el científico alemán M. Mahn quien en 1896 llevó a cabo un experimento que dio origen a la Bioquímica y derribó las teorías de la generación espontánea dicho experimento fue una casualidad que tuvo un resultado muy revelador. La casualidad de su descubrimiento, fue otorgado a su colega Eduard Buchner a quien se le confirió el Premio Nobel por su descubrimiento de las enzimas. Donde la enzima zimasa fue aislada por primera vez en células de levadura en 1897. Antoine Béchamp pudo haber sido el descubridor real de la zimasa 30 años antes, en su investigación sobre las microzimas, pero hoy se le atribuye este descubrimiento a Buchner, porque estudió la fermentación alcohólica con células de levadura y sin ellas, mientras Béchamp había expresado que sólo obtuvo la inversión del azúcar y no la fermentación alcohólica. (<http://www.wikiwand.com/es/Zimasa>)

Eficiencia de conversión considerando los datos teóricos el peso molecular de la glucosa es de 180 g y cada molécula de glucosa dando origen a dos moléculas de etanol (peso molecular 46 g/mol) y dos moléculas de CO₂ de peso molecular 44 g/mol; con lo que la glucosa se transforma en etanol con una eficiencia teórica del $(2 \times 46) / 180 = 0.51$.

Según lo planificado en el presente trabajo de investigación se utilizó la enzima zimasa con control de temperatura 28-30°C con un pH entre 6-7 con una agitación de 20 rpm, para después realizar una separación por destilación.

4.6 El Etanol

ETANOL

(Agricultura, 2018) "El etanol se puede producir a partir de las mieles, mediante la fermentación por acción de las levaduras. El etanol se mezcla con la gasolina para aumentar el octanaje y reducir la emisión de gases de efecto invernadero.

En el Perú aún no se extrae etanol a partir de la caña de azúcar, no obstante, existe amplia experiencia en la producción de alcohol farmacéutico, alcohol rectificado, ron y huarapo.

Actualmente existe un proyecto para producir etanol para la región de San Martín. La meta de inversión es de US\$ 560 millones divididos en dos fases: agrícola (US\$ 320 millones) e industrial (US\$ 240 millones). Para su ejecución se ha firmado un convenio entre Petroperú y una corporación de empresas integrada por Coler&Colantonio (USA), Naturel (USA) y Coimex (Brasil) para la producción de etanol anhidro. El proyecto está dividido en tres etapas: (i) desarrollar un semillero de 1,080 ha; (ii) sembrar 32,000 ha para atender el mercado nacional e instalar 4 destilerías; (iii) cultivar 128,000 ha e instalar 12 destilerías. El objetivo es atender el mercado nacional (Petroperú) e internacional (Estados Unidos y Japón). Se construirá un alco ducto desde la zona de producción hasta Bayovar (Piura) para su distribución en el ámbito nacional. Además, se planea el tendido de fibra óptica en el ducto para interconectar todo el sistema de comunicaciones del Huallaga.

Por otra parte, las empresas agroindustriales de la costa, vienen implementándose para abastecer de etanol al mercado internacional debido a la gran demanda que tiene este producto en el mundo y cuyas proyecciones de crecimiento son alentadoras.

(Biotecnología) “Esta molécula es un excelente biocombustible que se puede obtener a partir de biomasa como lo son; los granos de maíz, trigo, papa, la caña de azúcar, sus melazas y los almidones” (F.W Bai, 2006).

Siendo este un compuesto químico conocido como alcohol etílico, que es un alcohol que se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78,4°C. (Saavedra Garcia, repositorio.unsm.edu.pe, 2000)

“La importancia de la fabricación de etanol radica en que por su costo ya que está reemplazando a la gasolina como se verifica en las inversiones que se están efectuando en Sudamérica. Como la Planta de El Chaco (Argentina) que obtendrá etanol a partir del (Grano seco de destilería con solubles) o comúnmente conocido como burlanda de maíz.” (C<https://www.ecured.cu/Etanol>).

Hoja de Seguridad del Etanol

4.6.1. GENERALIDADES DEL ETANOL

FORMULA: C_2H_6O ,

PESO MOLECULAR:

46.07 g/mol.

COMPOSICION:

C: 52.24 %; H: 13.13 % y O: 34.73 %.

El etanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico y sabor picante.

También se conoce como alcohol etílico. Sus vapores son más pesados que el aire.

Se obtiene, principalmente, al tratar etileno con ácido sulfúrico concentrado y posterior hidrólisis. Algunas alternativas de síntesis son: hidratación directa de etileno en presencia de ácido fosfórico a temperaturas y presiones altas y por el método Fischer-Tropsch, el cual consiste en la hidrogenación catalítica de monóxido de carbono, también a temperaturas y presiones altas. De manera natural, se obtiene a través de fermentación, por medio de levaduras a partir de frutas, caña de azúcar, maíz, cebada, sorgo, papas y arroz entre otros, generando las variadas bebidas alcohólicas que existen en el mundo. Después de la fermentación puede llevarse a cabo una destilación para obtener un producto con una mayor cantidad de alcohol.

El etanol se utiliza industrialmente para la obtención de acetaldehído, vinagre, butadieno, cloruro de etilo y nitrocelulosa, entre otros. Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc.

También se utiliza en mezclas anticongelantes, como combustible, como antiséptico en cirugía, como materia prima en síntesis y en la preservación de especímenes fisiológicos y patológicos.

El llamado alcohol desnaturalizado consiste en etanol al que se le agregan sustancias como metanol, isopropanol o, incluso, piridinas y benceno. Estos compuestos desnaturalizantes son altamente tóxicos por lo que, este tipo de etanol, no debe de ingerirse.

NUMEROS DE IDENTIFICACION:

CAS: 64-17-5 (Mexico, 2016)

STCC: 4909146

UN: 1170

RTECS: KQ 6300000

NIOSH: KQ 6300000

NFPA: Salud: 0

Reactividad: 0 Fuego: 3 NOAA : 667 HAZCHEM CODE: 2 SE

MARCAJE: LIQUIDO INFLAMABLE SINONIMOS: En inglés:

JAYSOL ETANOL ABSOLUTO ETHYL ALCOHOL JAYSOL S

FÍGURA N°4.8

Construcción de Planta de Etanol



Fuente: Diario La Nación de Argentina (2018)

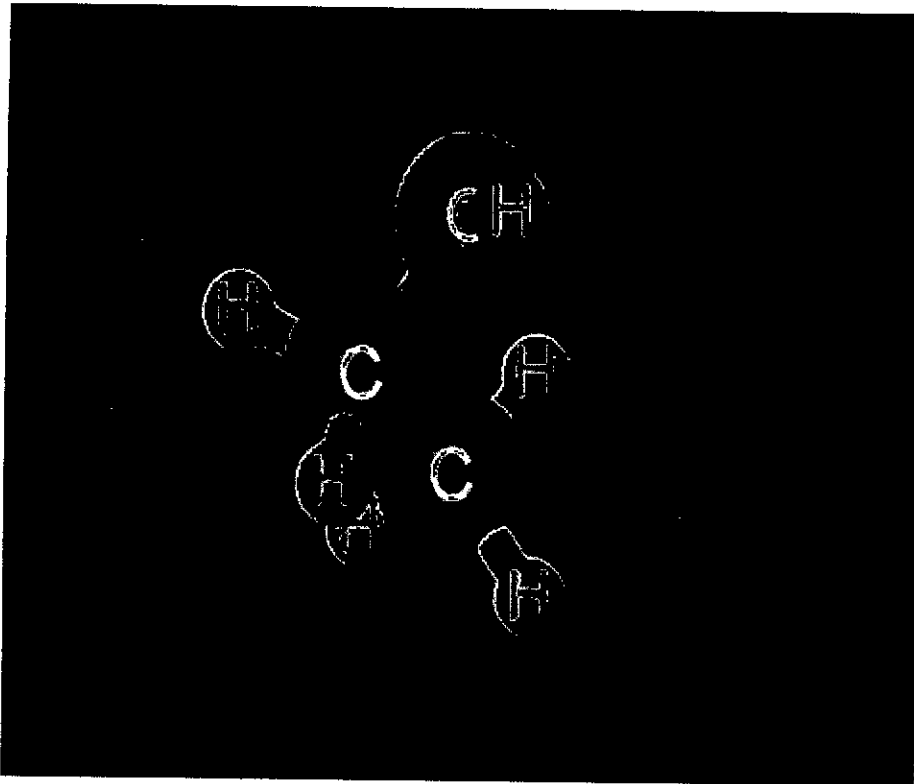
(Yeunyaw & Yuwa-amornpitak, 2008).“Estos investigadores enfocaron la obtención de etanol utilizando dos tipos de hongos amilo líticos, seleccionando el que produciría mayores

concentraciones de azúcares a partir del almidón para luego utilizar *S. cerevisiae* TISTR 5088 para convertir el azúcar en etanol. Teniendo como resultado que el *Amylomyces rouxii* YTH3 (número de acceso al B.G. KM215272) que se envió al banco genético, logro fermentar al almidón entre 20 a 25 % para la obtención de azúcar. Y que en dicha investigación de los sistemas estudiados, se pudo observar que existe una correlación la acción de las concentraciones de almidón y la levadura siendo esta una relación directamente proporcional al tiempo de acción de los mismos. Dando un rendimiento teórico de aproximadamente un 85%".

Químicamente la glucosa se convierte en etanol de la siguiente forma:



FÍGURA N°4.9
MOLÉCULA DE ETANOL



Fuente: <https://youtu.be/FmAEJ0W1aMI>

10

V.- MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

Mango (pepa)

Cuchillo

Pelador

Tamiz

5.1.1 Equipos

Licadora

Equipo de digestión

Destilador simple

5.2 Método

Esta investigación se desarrolló en forma secuencial y probatoria, siguiendo un orden riguroso experimental, consecuente con el planteamiento del problema, revisando la literatura, visualizando el estudio, elaborando la hipótesis, desarrollando el diseño, definiendo y seleccionando la muestra, recolectando datos experimentales, analizándolos efectuando el reporte de resultados, efectuando los cálculos para cada prueba, con la finalidad de encontrar la optimización de la investigación. Por lo tanto es una investigación experimental aplicada.

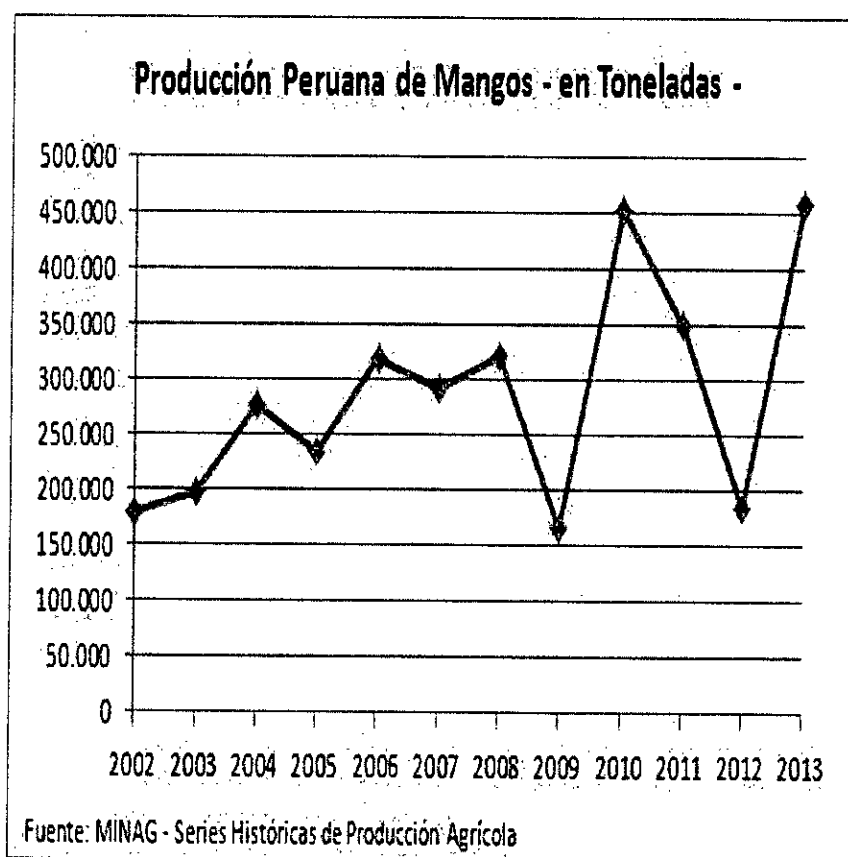
5.2.1 Materia Prima

Producción de mango

En el año 2015 se registró la producción de mango alrededor de 350 000 TM con una exportación de 97 500 TM hacia USA. Por lo que se estima en 200 000 TM para la fabricación de néctares y consumo directo por lo que se considera que en cotiledón se tendrá una disposición mínima de 20 000 TM/año. Como no sabemos la disponibilidad de la pepa de mango por ser un desecho industrial trabajamos con un tamaño maestra sin conocer la población de pepa de mango.

GRAFICA N° 5.1

DETERMINACIÓN DEL UNIVERSO MUESTRAL



Fuente: MINAG

GRAFICA N° 5.2

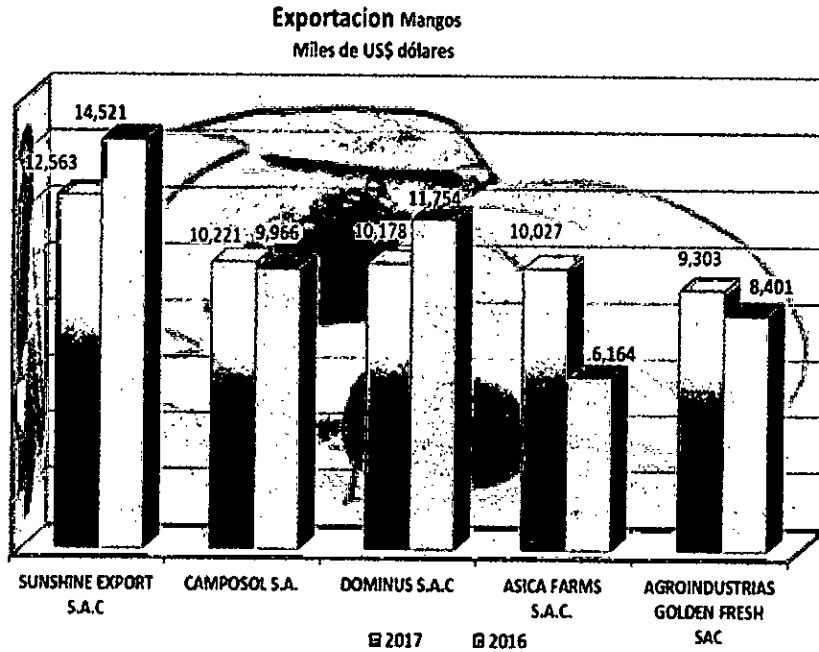
EXPORTACIONES PERUANAS DE MANGOS EN MILES DE
DOLARES AMERICANOS



Fuente: SUNAT

GRAFICA N° 5.3

EXPORTACIONES PERUANAS DE MANGOS POR EMPRESAS EN MILES DE DOLARES AMERICANOS AÑOS 2016-2017



Fuente: <https://www.agrodataperu.com/2018/02/mangos-peru-exportacion-2017-diciembre.html>

5.3 Determinación de tamaño de muestra sin conocer la población.

Para determinar tamaño de muestra tenemos la formula

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{d^2} \quad (F2)$$

Dónde:

n= tamaño de muestra

p= probabilidad de éxito

q= probabilidad de fracaso

d= margen de error

Z_{α} = valor obtenido mediante niveles de confianza

Para determinar Z_{α} que depende del nivel de confianza

TABLA N° 5.1
DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE CONFIANZA

Valor de Z_{α}	1,15	1,28	1,44	1,65	1,96	2,24	2,58
% del Nivel de confianza	75	80	85	90	95	97,5	99

Fuente: Tabla estadística

Calculando el tamaño de gramos muestra de cotiledón con un nivel de confianza del 95%.

Según (F2)

$$n = \frac{1.96 \cdot 0.95 \cdot 0.05}{0.02^2} = \frac{0.0931}{4.00E-4} = 233 \text{ g de cotiledon}$$

5.4 Identificación de variables

El siguiente cuadro identifico las variables que se utilizaron en el enfoque del trabajo de investigación.

CUADRO N° 5.1
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
ETAPA I	
CANTIDAD DE ALMIDÓN	CANTIDAD DE GLUCOSA
CANTIDAD DE ENZIMA	
ETAPA II	
CANTIDAD DE GLUCOSA	CANTIDAD DE ETANOL
CANTIDAD DE Enzima (LEVADURA)	

Fuente: Elaboración Propia

5.5 Operacionalización de las variables

Esta investigación se desarrolló en forma secuencial y probatoria, siguiendo un orden riguroso experimental, consecuente con el planteamiento del problema, revisando la literatura, visualizando el estudio, elaborando la hipótesis, desarrollando el diseño, definiendo y seleccionando la muestra, recolectando datos experimentales, analizándolos efectuando el reporte de resultados, efectuando los cálculos para cada prueba, con la

/r

finalidad de encontrar la optimización de la investigación. Por lo tanto es una investigación experimental aplicada.

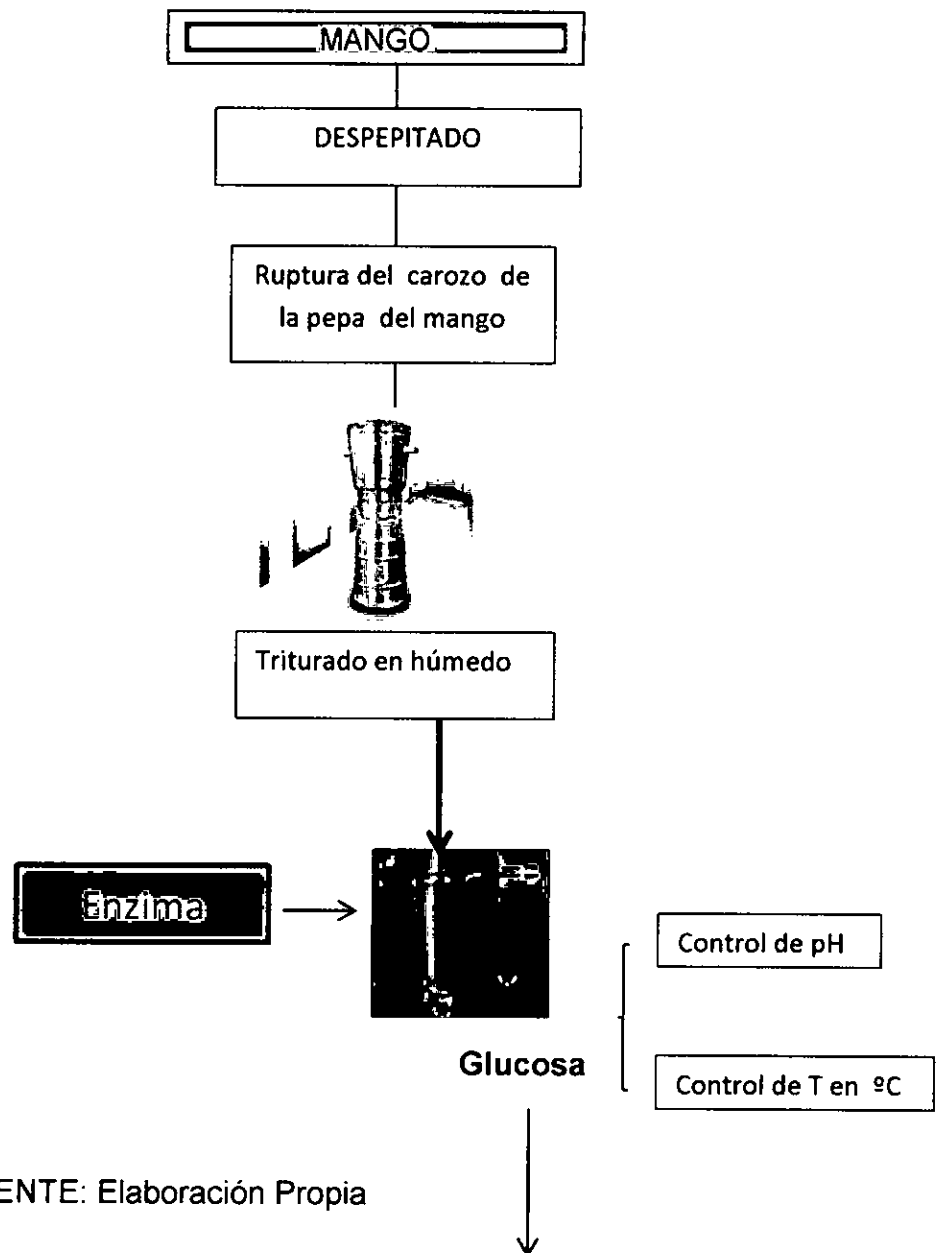
**CUADRO N°5.2
OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES**

	Variable		Tipo	Dimensión	Indicador	Escala
ETAPA I	Independiente	Almidón	Cuantitativa discreta	Masa	%	g
		Enzima	Cuantitativa discreta	Masa	%	g
	Dependiente	Glucosa	Cuantitativa discreta	Masa	%	g
ETAPA II	Independiente	Glucosa	Cuantitativa discreta	Masa	%	g
		Levadura	Cuantitativa discreta	Masa	%	g
	Dependiente	Etanol	Cuantitativa discreta	Densidad	m/V	g/ml

Fuente: Elaboración Propia

FIGURA N°5.1
FLUJO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

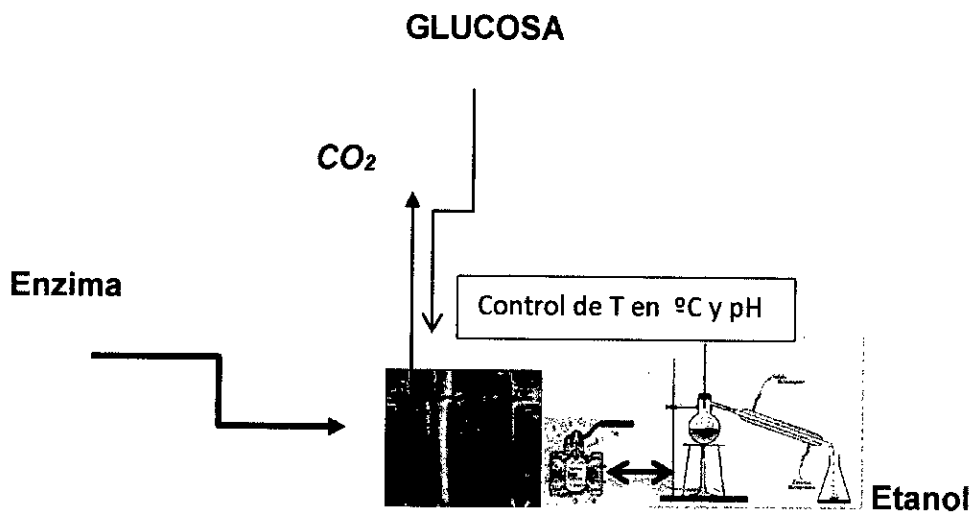
ETAPA I



FUENTE: Elaboración Propia

FIGURA N° 5.2

Etapa II
FLUJO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL



Fuente: Elaboración Propia

VI. RESULTADOS

Se obtuvieron los siguientes resultados al haber trabajado con diez muestras iniciales que luego se trabajaron por triplicado.

6.1 Pruebas de obtención del cotiledón de la pepa de mango

TABLA N° 6.1
OBTENCIÓN DE COTILEDÓN DE LA PEPA DE MANGO

Unidad	Dimensiones (cm)		Mango				Cotiledón
	Largo	Ancho	Masa Total	Cascara	Masa (g) Pulpa	Semilla	
1	134	90	600	80	492	18	10
2	129	89	560	90	370	60	40
3	122	85	540	80	358	60	42
4	122	86	580	100	340	80	60
5	112	83	480	80	290	60	50
6	120	79	480	60	292	68	60
7	112	76	380	62	218	60	40
8	112	83	440	70	268	60	42
9	116	81	460	70	310	60	20
10	111	82	420	70	235	60	55
			4940	762	3173	586	419

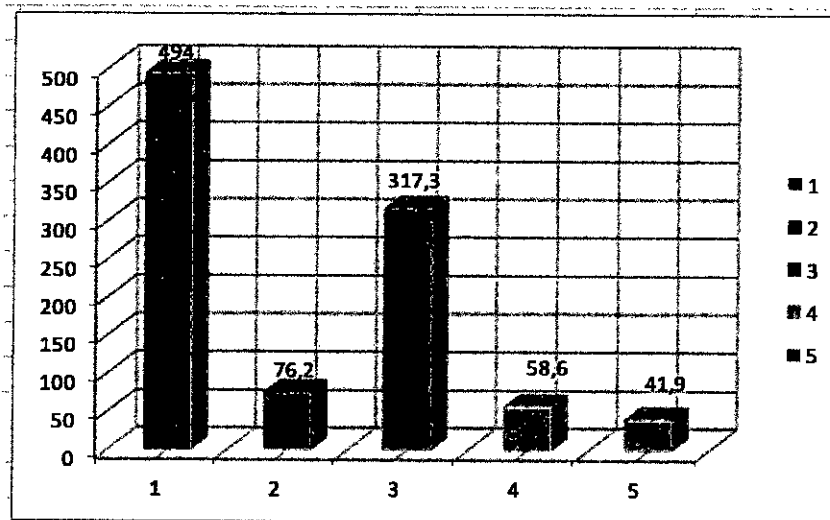
Fuente: Elaboración propia

TABLA N°6.2
TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS

Unidades	Promedio	494	76,2	317,3	58,6	41,9
10	Desv. Estand	73,06	12,38	78,86	15,66	16,32

Fuente: Elaboración propia

GRAFICA N°6.1
TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN
BARRAS



Fuente: Elaboración propia

6.2 De Almidón a Glucosa vía enzimática

Las pruebas iniciales de conversión de almidón del cotiledón de la pepa de mango a glucosa para lo cual se implementó un tanque con agitador a 80 rpm, con control de temperatura 30°C considerando que se utilizó la **enzima A= Alfa-amilasa** a un pH de 7, para estas pruebas iniciales.

TABLA N° 6.3

ETAPA DE CONVERSIÓN DE ALMIDÓN A GLUCOSA- Enzima A

N° PRUEBA	MASA (g) ALMIDON	% ENZIMA	MASA (g) ENZIMA	pH	T° C	TIEMPO Horas	MASA (g) GLUCOSA OBTENIDA
1	200	0,0001	0,02	7	30,5	2	0,34
2	200	0,0001	0,02	7	30,3	2,3	0,32
3	200	0,0001	0,02	7	30,1	2,23	0,33
4	200	0,0001	0,02	7	30,1	2,3	0,35
5	200	0,0001	0,02	7	30,2	2,25	0,33
6	200	0,00005	0,01	7	30,2	3,1	0,32
7	200	0,00005	0,01	7	30,2	3,15	0,35
8	200	0,00005	0,01	7	30,1	3,1	0,33
9	200	0,00005	0,01	7	30,1	3,2	0,35
10	200	0,00005	0,01	7	30,1	3,1	0,33
11	200	0,00015	0,03	7	30,4	1,8	0,55
12	200	0,00015	0,03	7	30,4	1,15	0,54
13	200	0,00015	0,03	7	30,4	1,8	0,53
14	200	0,00015	0,03	7	30,4	1,2	0,55
15	200	0,00015	0,03	7	30,4	1,9	0,53
16	200	0,00015	0,03	7	30,3	1,8	0,58
17	200	0,00015	0,03	7	30,3	1,5	0,58
18	200	0,00015	0,03	7	30,3	1,5	0,55
19	200	0,00015	0,03	7	30,3	1,5	0,55
20	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,5	0,58
21	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,5	0,55
22	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,5	0,58
23	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,5	0,58
24	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,8	0,55
25	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,8	0,58
26	200	0,00015	0,03	7	30,1	1,8	0,58

Fuente: Elaboración propia

Los datos obtenidos experimentalmente de cada tabla se trataron estadísticamente en cada caso y etapa; utilizando el software versión Statistica 10. Aplicando el Análisis de Varianza (ANOVA) para hallar la correlación de los mismos, para luego aplicar la gráfica de superficie respuesta en cada caso y por etapas.

TABLA N°6.4

Datos de Almidón a Glucosa con la enzima A

Aplicando ANOVA.

STATISTICA - Spreadsheet1

Graphs Tools Data Enterprise Window Help

Add to Workbook Add to Report Add to MS Word

Data: Spreadsheet1* (3v by 28c)

	1 Masa de enzima (g)	2 Tiempo (hr)	3 Glucosa (g)				
1	0,02	2	0,34				
2	0,02	2,3	0,32				
3	0,02	2,23	0,33				
4	0,02	2,3	0,35				
5	0,02	2,25	0,33				
6	0,01	3,1	0,32				
7	0,01	3,15	0,35				
8	0,01	3,1	0,33				
9	0,01	3,2	0,35				
10	0,01	3,1	0,33				
11	0,03	1,8	0,55				
12	0,03	1,15	0,54				
13	0,03	1,8	0,53				
14	0,03	1,2	0,55				
15	0,03	1,9	0,53				
16	0,03	1,8	0,58				
17	0,03	1,5	0,58				

Fuente: Elaboración Propia

TABLA N°6.5

Resultados de ANOVA. De Almidón a Glucosa con la enzima A

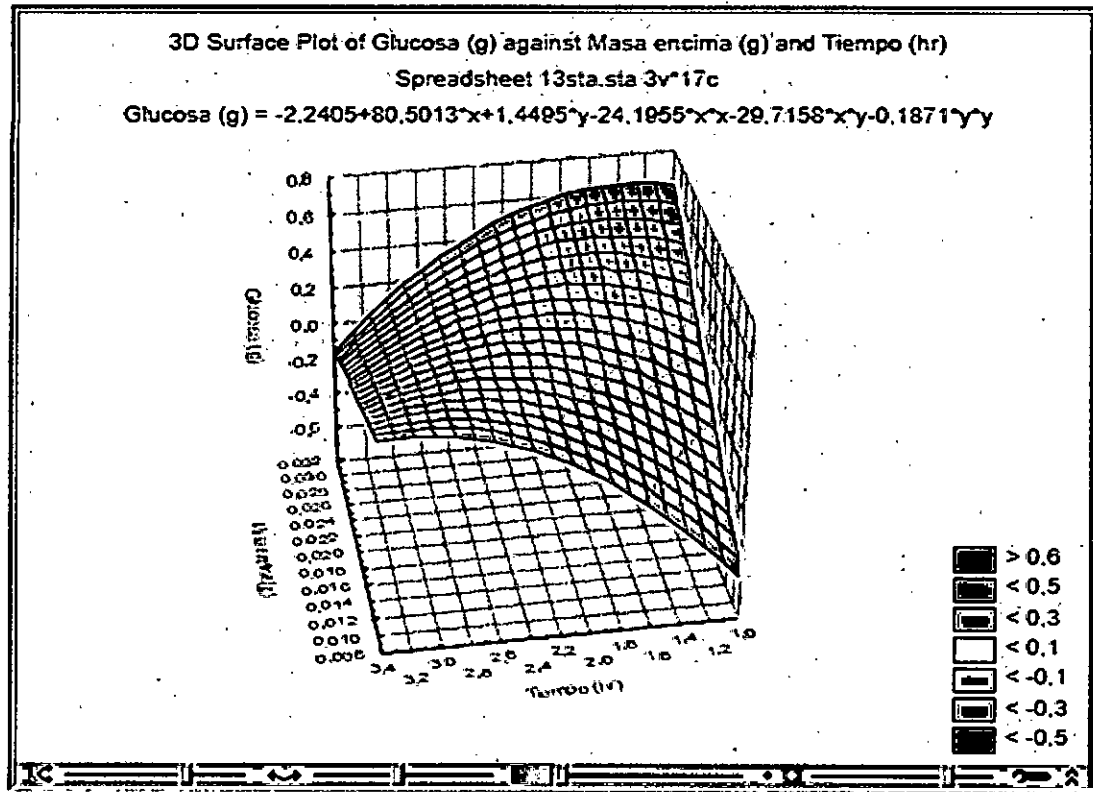
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Masa de enzima (g)(L)	0,002216	1	0,002216	7,562565	0,018890
Masa de enzima (g)(Q)	0,000000	1	0,000000	0,000965	0,975780
(2)Tiempo (hr)(L)	0,000158	1	0,000158	0,537499	0,478804
Tiempo (hr)(Q)	0,000586	1	0,000586	1,999560	0,185018
1L by 2L	0,000690	1	0,000690	2,355569	0,153083
Error	0,003224	11	0,000293		
Total SS	0,196812	16			

Fuente: Elaboración Propia

Como se pudo observar de la correlación de Glucosa obtenida con la masa de enzima utilizada en forma lineal y el tiempo se tiene un $R^2 = 0,98$ y un R ajustado de 0,976; del valor de probabilidad (p) obtenido de 0.0186 que es menor a 0.05 indica que la masa de enzima presenta correlación significativa con el almidón en la obtención de glucosa.

GRAFICA N°6.2

Superficie Respuesta con resultados de Almidón a Glucosa con la enzima A



Fuente: Elaboración Propia

De la Superficie respuesta se obtuvo la ecuación de obtención de glucosa

Masa glucosa (g) =

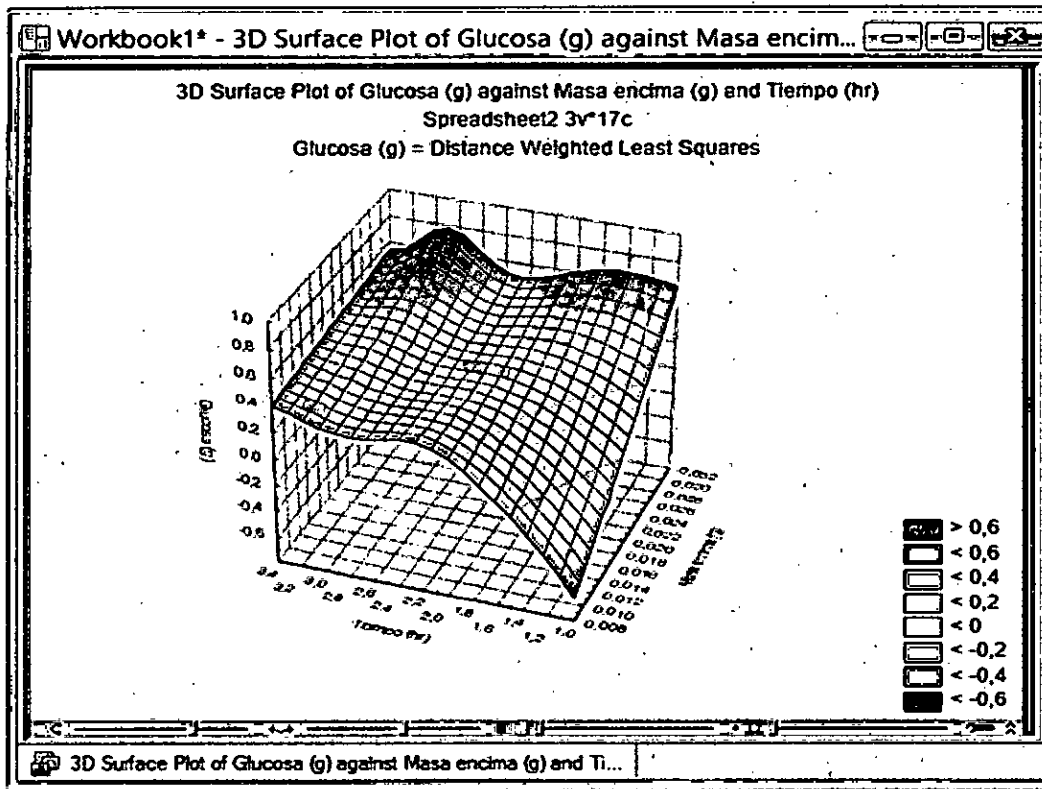
$$-2.2405+80.5013*X+1.4495*Y-24.1955*X^2-29.7158*X*Y-0.1871*Y^2$$

Siendo: X= masa de enzima (g)

Y= Tiempo (hr)

GRAFICA N°6.3

Superficie Respuesta de Almidón a Glucosa enzima A con puntos Centrales

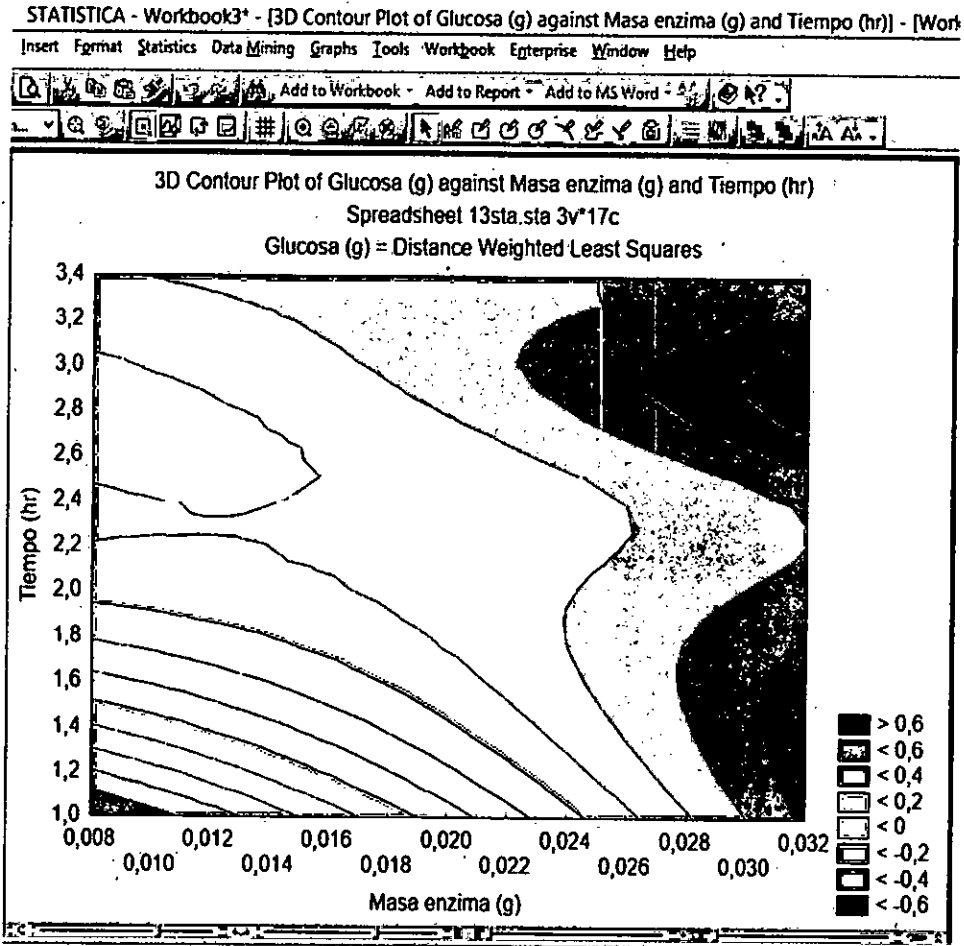


Fuente: Elaboración Propia

De la gráfica se obtuvieron los puntos medidos por mínimo cuadrado de la distancia entre los valores de masa de enzima (g) y el tiempo (hr) para los puntos más altos de la glucosa.

GRAFICA N°6.4

Resultados Superficie Contorno de Almidón a Glucosa con la enzima A



Fuente: Elaboración Propia

Luego se utilizó la enzima **B = Termamyl 120 L** donde el Termamyl® es una α -amilasa termoestable producida por una cepa genéticamente modificada de *Bacillus licheniformis*, para la conversión de almidón a glucosa. Teniendo los resultados que se expresan en la tabla siguiente.

TABLA N° 6.6

ETAPA DE CONVERSIÓN DE ALMIDÓN A GLUCOSA Enzima B

N° PRUEBA	MASA (g)	%	MASA (g)	pH	T° C	TIEMPO	MASA (g)
	ALMIDON	ENZIMA	ENZIMA			Horas	GLUCOSA OBTENIDA
1	200	0,004	0,8	7	30,5	2	120
2	200	0,004	0,8	7	30,3	2	120
3	200	0,004	0,8	7	30,1	2	120
4	200	0,004	0,8	7	30,1	2	120
5	200	0,004	0,8	7	30,2	2	120
6	200	0,0045	0,9	7	30,2	3	130
7	200	0,0045	0,9	7	30,2	3	130
8	200	0,0045	0,9	7	30,1	3	130
9	200	0,0045	0,9	7	30,1	3	130
10	200	0,0045	0,9	7	30,1	3	130
11	200	0,0045	0,9	7	30,4	1,5	130
12	200	0,0045	0,9	7	30,4	1,5	130
13	200	0,0045	0,9	7	30,4	1,5	130
14	200	0,0045	0,9	7	30,4	1,5	130
15	200	0,0045	0,9	7	30,4	1,5	130
16	200	0,0045	0,9	7	30,3	1,5	130
17	200	0,0045	0,9	7	30,3	1,5	130
18	200	0,00500	1	7	30,3	1,5	110
19	200	0,00500	1	7	30,3	1,5	110
20	200	0,00500	1	7	30,1	1,5	110
21	200	0,00500	1	7	30,1	1,5	110
22	200	0,00500	1	7	30,1	1,5	110
23	200	0,00500	1	7	30,1	1,5	110
24	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110
25	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110
25	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110
26	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110
27	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110
28	200	0,00500	1	7	30,1	1,8	110

Fuente: Elaboración propia

1/e

TABLA N°6.7**Datos para ANOVA de conversión de Almidón a Glucosa con la enzima B**

Datos	Masa Enzima B	Tiempo Horas	Masa Glucosa (g)
1	0,02	2	120
2	0,02	2	120
3	0,02	2	120
4	0,02	2	120
5	0,02	2	120
6	0,01	3	80
7	0,01	3	80
8	0,01	3	80
9	0,01	3	80
10	0,01	3	80
11	0,03	1.5	110
12	0,03	1.5	110
13	0,03	1.5	110
14	0,03	1.5	110
15	0,03	1.5	110
16	0,03	1.5	110
17	0,03	1.5	110
18	0,03	1.5	110
19	0,03	1.5	110
20	0,03	1.5	110
21	0,03	1.5	110
22	0,03	1.5	110
23	0,03	1.5	110
24	0,03	1.8	110
25	0,03	1.8	110
26	0,03	1.8	110
27	0,03	1.8	110
28	0,03	1.8	110

Fuente: Elaboración propia

TABLA N° 6.8

Resultados de ANOVA de Almidón a Glucosa con la enzima B

STATISTICA - Spreadsheet2

Window Help

Add to MS Word

Vars Cases

Workbook1* - ANOVA; Var.:Masa glucosa (g); R-sqr=1.; Adj:1, (Spreadsheet2)

Workbook1*

Experimental

Analysis of

Reduc

ANOVA

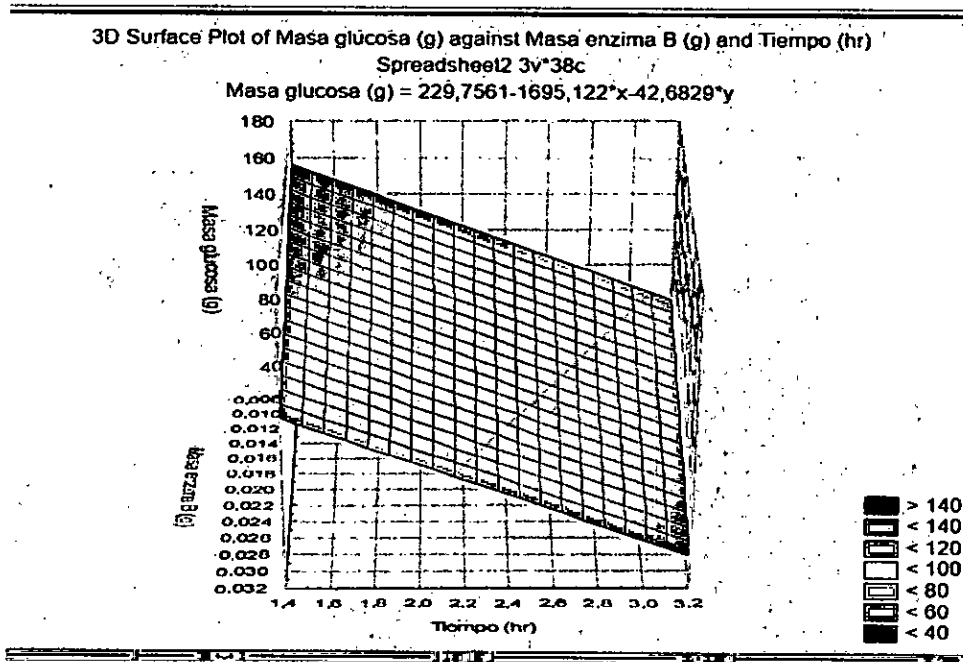
ANOVA; Var.:Masa glucosa (g); R-sqr=1.; Adj:1, (Spreadsheet2)					
2 factors, 1 Blocks, 28 Runs; MS Residual=0,					
DV: Masa glucosa (g)					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Masa enzima B (g)(L)	139,952	1	139,952		
Masa enzima B (g)(Q)	1189,024	1	1189,024		
(2)Tiempo (hr)(L)	0,000	1	0,000		
Error	0,000	24	0,000		
Total SS	4642,857	27			

Fuente: Elaboración Propia

Del ANOVA se observa que existe una correlación lineal y cuadrática entre masa de almidón y enzima.

GRAFICA N°6.5

Resultado de la Superficie Respuesta de Almidón a Glucosa con la enzima B



Fuente: Elaboración Propia

Ecuación Lineal para la obtención de glucosa

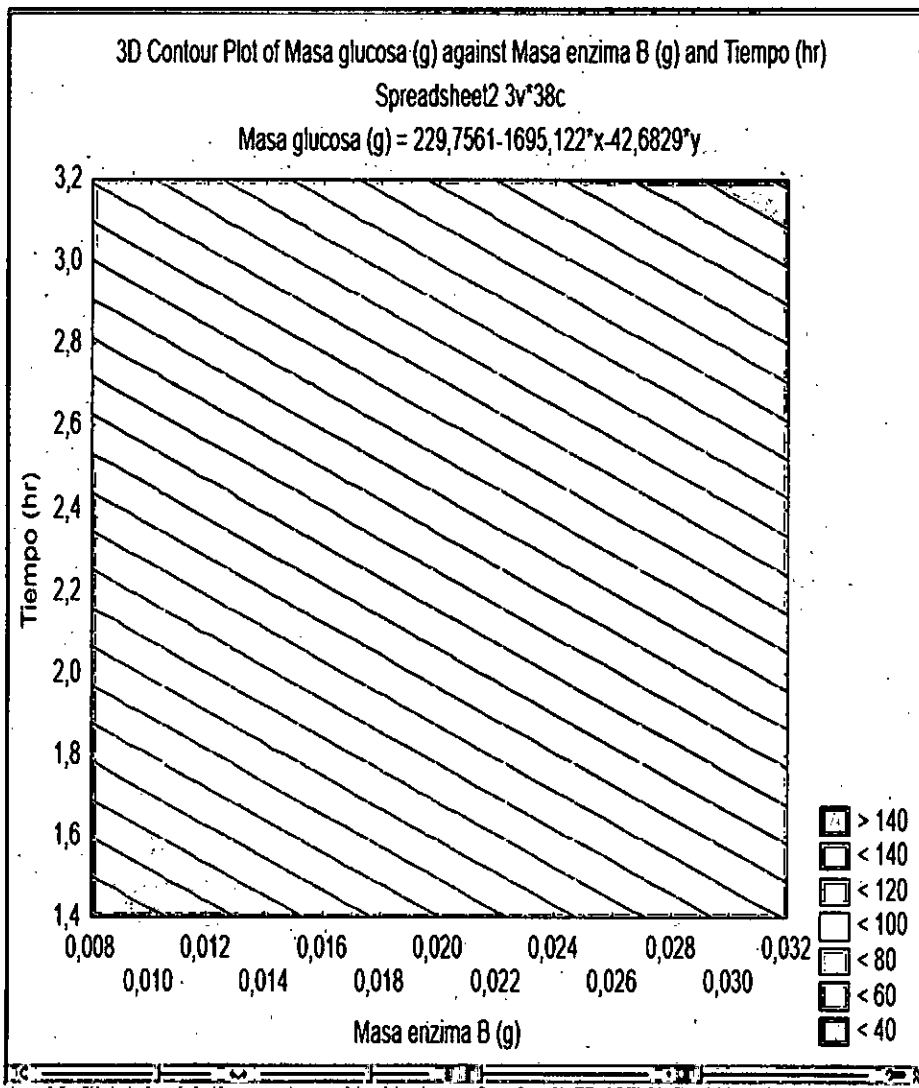
$$\text{Masa glucosa (g)} = 229.7561 - 1695.122 \cdot X - 42.6829 \cdot Y$$

Siendo X = masa de enzima B

Y = tiempo en (hr)

GRÁFICA N°6.6

Resultado de la Superficie Contorno de Almidón a Glucosa con la enzima B



Fuente: Elaboración Propia

Ecuación

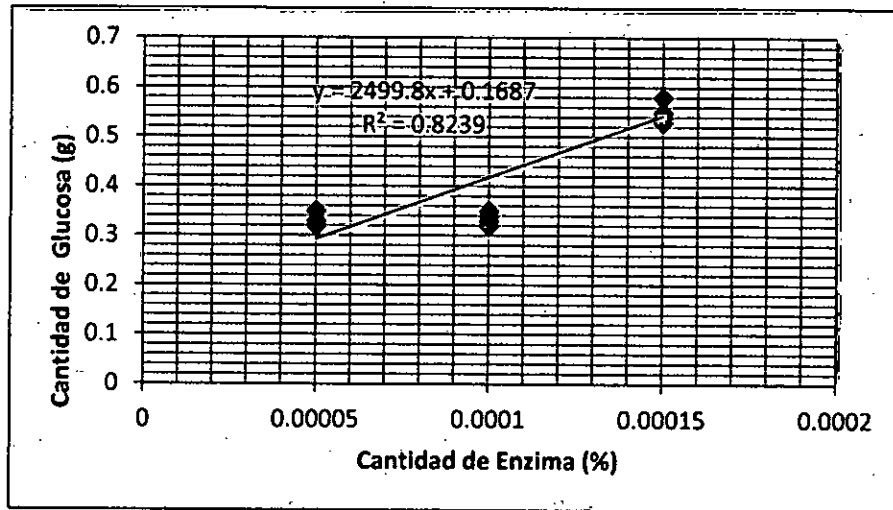
$$\text{Masa glucosa (g)} = 229.7561 - 1695.122 \cdot X - 42.6829 \cdot Y$$

Siendo X = masa de enzima B

Y = tiempo en (hr)

GRAFICA N°6.7

RELACIÓN GLUCOSA-ENZIMA B PARA 200 g DE ALMIDÓN



Fuente: Elaboración Propia

6.3 Segunda Etapa de Glucosa a Etanol

Vía fermentativa: Se utilizó la enzima (Zimasa) con control de temperatura 28-30°C con un pH entre 6-7 con una agitación de 20 rpm, para después realizar una separación por destilación., donde se obtuvieron los siguientes resultados que se expresan en la Tabla y grafica siguiente:

TABLA N°6.9

ETAPA DE CONVERSIÓN DE GLUCOSA-ETANOL (C₂H₅OH)

N°	MASA (g)	%	MASA (g)	TIEMPO	Volumen (ml) destilado	
PRUEBA	GLUCOSA	ENZIMA	ENZIMA	pH T° C	Horas	ETANOL OBTENIDO
1	12,2	0,01	0,122	7 30	72	7,5
2	12,1	0,01	0,121	7 30	72	7,45
3	12,30	0,01	0,123	7 30	72	7,55
4	18,42	0,01	0,1842	7 30	72	11,4
5	18,1	0,01	0,181	7 30	72	11,25
6	18,3	0,01	0,183	7 30,1	72	11,20
7	276,0	0,1	27,6	7 30,2	72	17,49
8	276,0	0,1	27,6	7 30,1	72	16,90
9	276,0	0,1	27,6	7 30,2	72	17,14

Fuente: Elaboración propia

Handwritten mark

TABLA N° 6.10

Resultados de ANOVA. Para la conversión de Glucosa a Etanol

Workbook1* - ANOVA; Var.:Etanol (ml); R-sqr=,99866; Adj:,99786 (Spr...)

ANOVA; Var.:Etanol (ml); R-sqr=,99866; Adj:,99786 (Spreadsheet3)
 2 factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=,0382882
 DV: Etanol (ml)

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Masa de enzima (g)(L)	0,0009	1	0,000877	0,022912	0,885605
Masa de enzima (g)(Q)	0,0011	1	0,001125	0,029387	0,870611
(2)Masa de glucosa (g)(L)	0,0009	1	0,000891	0,023270	0,884723
Error	0,1914	5	0,038288		
Total SS	142,8856	8			

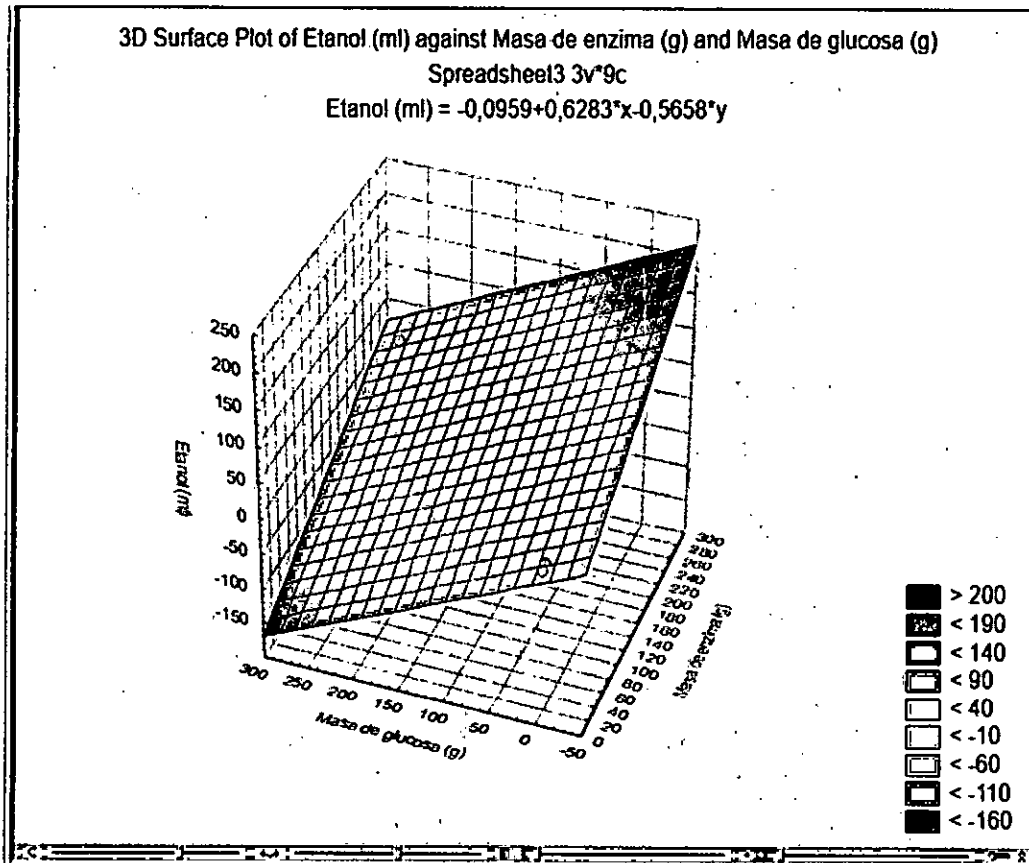
Redundant Effects (Spreadsheet3) ANOVA; Var.:Etanol (ml); R-sqr=,99866; Adj:,99786 (Spreadsheet3)

Fuente: Elaboración propia

Teniendo como correlación $R^2 = 0,9966$ y $R \text{ adj} = 0,9976$ y con valores de $p = 0,88 > 0,05$ la no correlación entre etanol y enzima por ser el sustrato el que crea una diferencia significativa para la relación masa de enzima a masa de glucosa en la obtención de etanol.

GRAFICA N°6.8

Superficie Respuesta de Glucosa a Etanol



Fuente: Elaboración propia

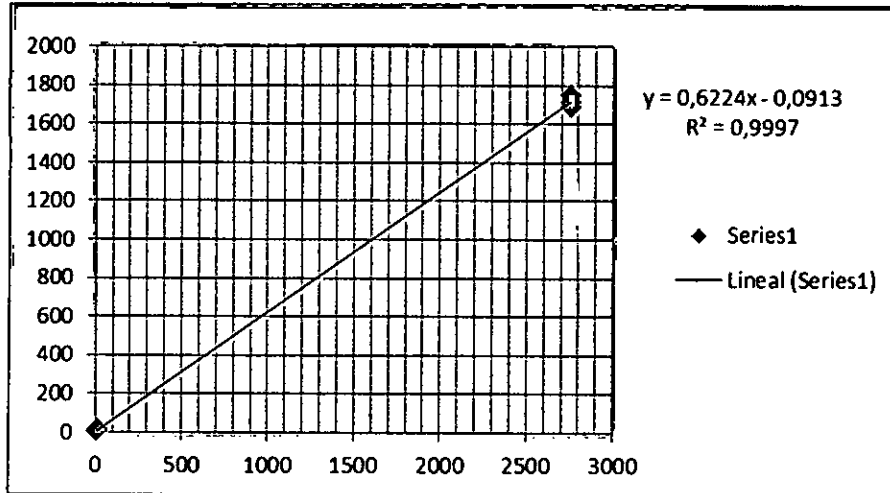
De la Grafica Superficie Respuesta se obtiene la ecuación de conversión

$$\text{Etanol (ml)} = -0,0959+0,6283*X-0,5658*Y$$

Siendo X= masa de enzima

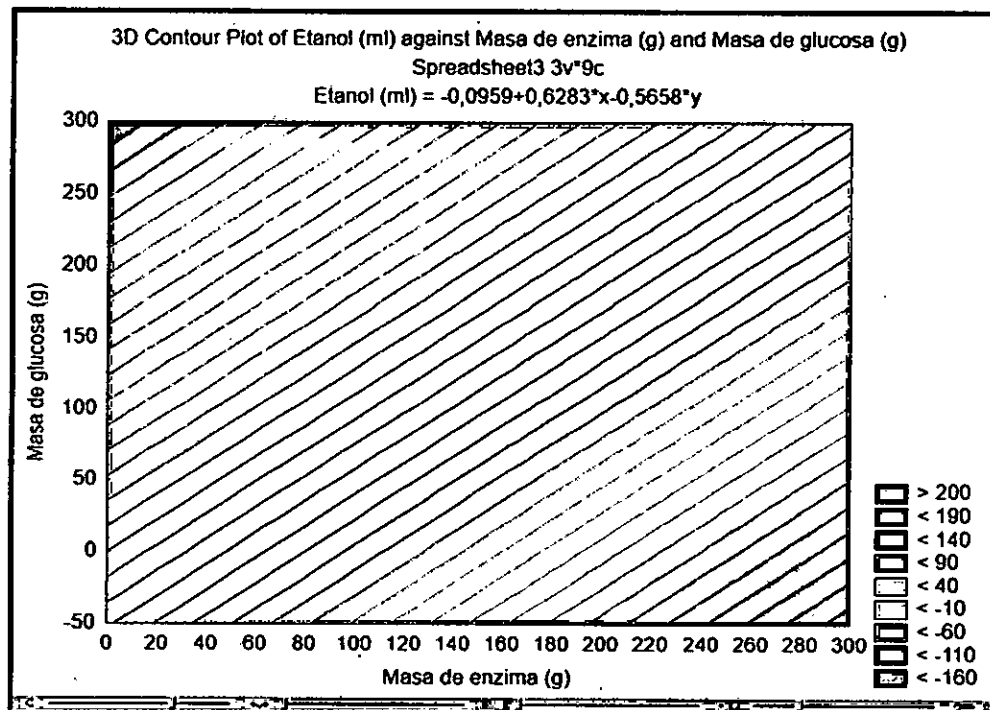
Y= masa de glucosa

GRAFICA N° 6.9
RELACIÓN GLUCOSA-ETANOL



Fuente: Elaboración propia

GRAFICA N° 6.10
Superficie Contorno de Glucosa a Etanol

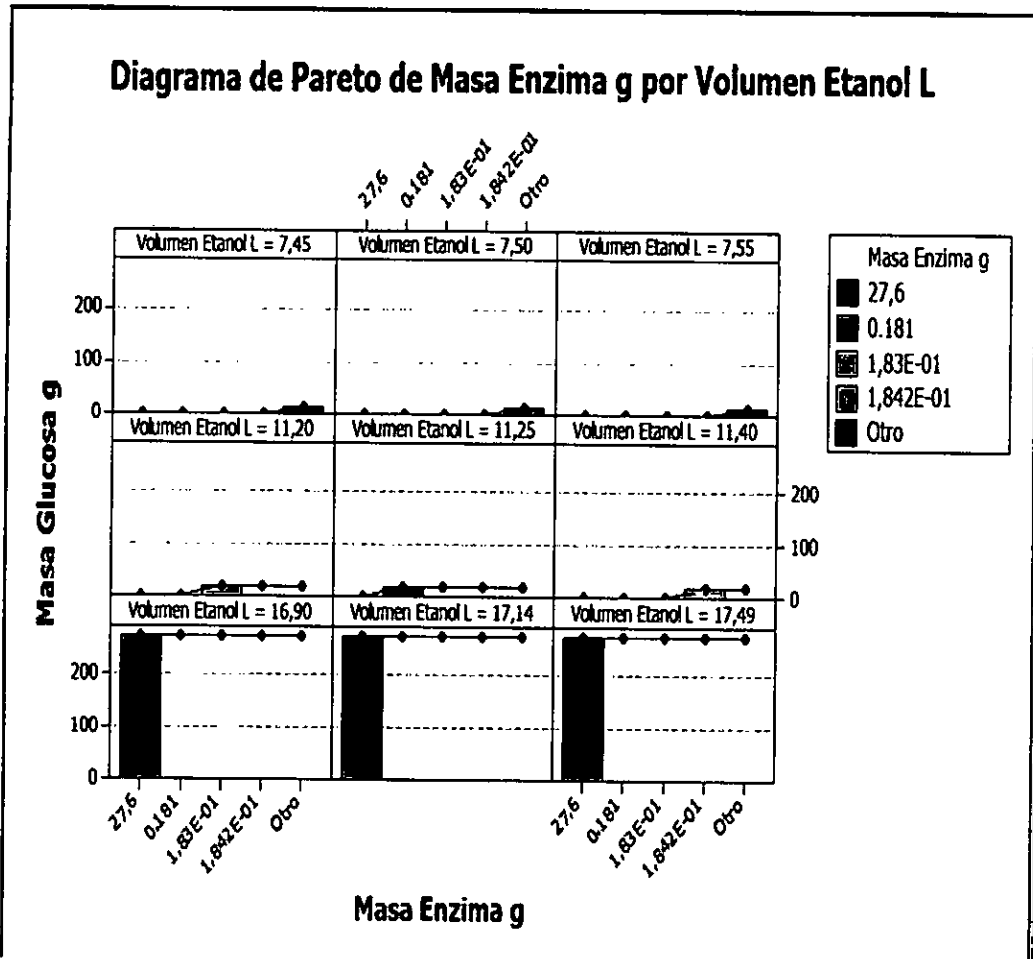


Fuente: Elaboración Propia

$\text{Etanol (ml)} = - 0.0959+0.6283*X-0.5658*Y$
 Siendo X= masa de enzima ; Y= masa de glucosa

GRAFICA N° 6.11

Diagrama de Pareto de Glucosa a Etanol



Fuente: Elaboración propia

Del diagrama de Pareto cuya relación masa glucosa a masa de glucosa para la obtención de etanol

Teniendo los siguientes cálculos resultados de todas las etapas que se expresan en el cuadro siguiente:

6.4 Relación de porcentajes obtenidos en todo el proceso

CUADRO N° 6.1
**CÁLCULOS DE RELACIÓN DE CONVERSIÓN COTILEDÓN-
ALMIDÓN-GLUCOSA**

Cotiledón(g)	Almidón(g)	% Conversión
210	200	95.2
Almidón(g)	Glucosa(g)	% Conversión
200	120	60
Glucosa (g)	Etanol (ml)	% Conversión
120	48,28	51

Fuente: Elaboración propia

VII DISCUSIÓN

Se efectuó la comparación con otros trabajos de investigación como por ejemplo (Afanador, 2005) en el trabajo realizado por la autora nos explica que con la metodología aplicada se obtuvo un promedio de 0.065 litros de etanol por kilogramo de banano.

Además, menciono que representaba las siguientes ventajas, tales como su bajo costo, por ser banano verde de rechazo, que fue de fácil operación y al ser una alternativa de solución ambientalmente compatible en el área del manejo de residuos de cosecha.

Si se compara con nuestro caso de investigación que fue la vía enzimática, fermentativa del cotiledón de la pepa de mango donde se obtuvo 0,229 L etanol por 1k de cotiledón. Podemos comparar rendimientos de procedimientos.

Si se comparan los procedimientos discutidos entre la obtención de etanol a partir del banano y el desarrollado en este trabajo de investigación en función a la cantidad de etanol producido tenemos la siguiente diferencia entre procedimientos

$$\Delta = 0.229 - 0.065 = 0.164 \frac{L \text{ etanol}}{K \text{ materia prima}}$$

Donde se observa que el mayor rendimiento desarrollado por la "BIOTRANSFORMACION DE ALMIDON A ETANOL POR VIA ENZIMATICA Y FERMENTATIVA DEL COTILEDON DE LA PEPA DEL MANGO (Mangifera indica)".

VIII.- REFERENCIALES

- Afanador, A. (2005). El banano verde de rechazo en la producción de alcohol carburante.
- Agama Acevedo, J. G. (2013). Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis. *AGROCIENCIA*, 1-12.
- Agricultura, M. d. (2018). <http://minagri.gob.pe/portal/29-sector-agrario/azucar/249-etanol>.
- Agrobanco. (2007). Cultivo del mango. *Publicación e Agrobanco*, 19.
- Aldave, T., & Novo, J. (s.f.). *Estudio cinético de la actividad invertasa de la levadura de panadería*.
- Bello N, C. L. (02 de Octubre de 2006). <http://redalyc.uames.30230236204.pdf>. Recuperado el 20 de Julio de 2018, de <http://www.agrociencia>
- Bernal, L., & Martínez Barajas, E. (2006). Una nueva visión de la degradación del almidón. *Centro de Investigación de la Universidad La Salle*, Vol.7 núm 25, enero-junio, 2006, pp 77.
- Bij, V. D. (s.f.). The analysis of starch derivatives. Examination and Analysis of Starch. *Radley+*.
- Biliaderis, C. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 60-78.
- Biología. (s.f.). <https://biotecnologia.fundaciontelefonica.com/2011/03/14/la-fermentacion>. Obtenido de <https://biotecnologia.fundaciontelefonica.com/2011/03/14/la-fermentacion>
- Borneo, R. (2013). <http://cytcereales.blogspot.com/2009/07/conversion-de-almidon-en-jarabes.html>. Recuperado el 2017
- Calvo, M. (2018). *Bioquímica de los alimentos*. Recuperado el 15 de Abril de 2018, de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucres/almidon.html>

- Cataño, C., & Ingrid, M. (2005). Obtencion de glucosa a partir del almidon de yuca (manihot sculenta).
- Chttps://www.ecured.cu/Etanol. (s.f.). *www.ecured.cu*.
- D, F. (1984). ORGANIZATION OF STARC GRANULES. *CHEMESTRY AND TECHNOLOGY*, 183-247.
- Eastman J. Moore, C. (1984). *U.S. Patnt 4465702. USA*.
- Ellis, C., & Y, C. M. (1998). Starch production and industrial use. *Sci Food Agric.*, 77-289.
- F.W Bai, W. A. (2006). " Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks". *Biotechnology advances (2006). Biotechnology advances*.
- F.W, B., W.A, A., & Young, M. (2006). Ethanol fermentation technologies. *Biotechnology advances* , 20-30.
- G, F. (1985). Chemical modification and degradation In: Starch Conversion technology. *Academic Press*, 120-140.
- http://www.wikiwand.com/es/Zimasa . (s.f.)*.
- J, C., & Jane, J. (s.f.). *Preparation of granular cold water soluble starches prepared by alcoholic-alkaline treatment*. Recuperado el 06 de enero de 2018, de *http:// www.portalalimentos.com*
- Maria, A. A. (2005). *El banano verde de rechazo en la produccion de alcohol*.
- MENDOZA, G., & RICALDE, V. ,. (28 de 04 de 2017). *ESTRUCTURA DEL ALMIDON*. Recuperado el 15 de 01 de 2018, de *http://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/estructura-almidon-t4*
- Merino., J. P. (2014). Obtenido de (*https://definicion.de/fermentacion/*)
- Mexico, U. A. (2016). Obtenido de *https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2016/12/12etanol.pdf*
- Molecules, C. ©. (2016). *Copyright © World of Molecules 2016*. Obtenido de *Copyright © World of Molecules 2016: https://www.worldofmolecules.com/foods/glucose.htm*

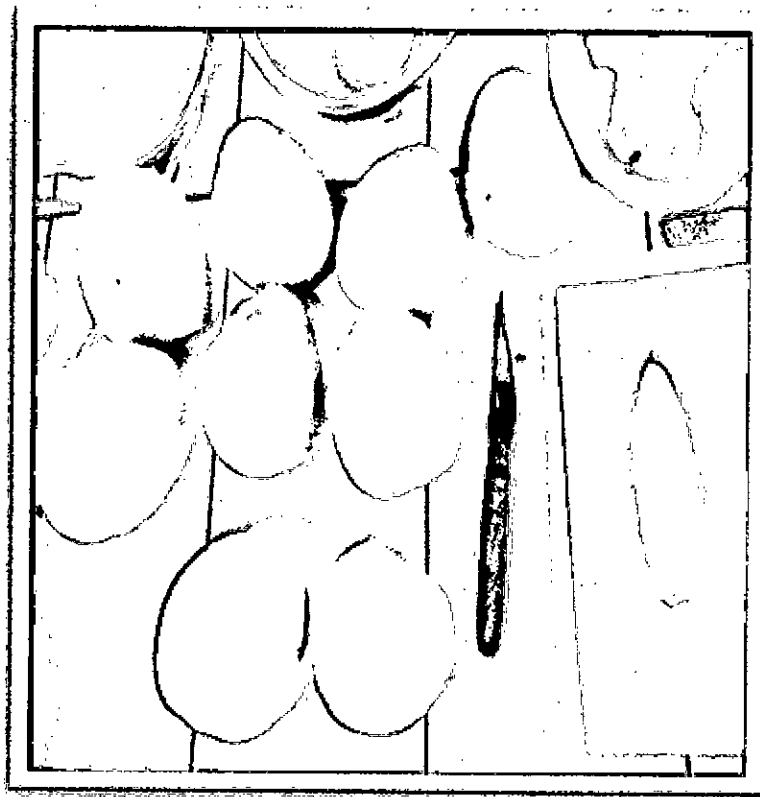
- Pérez, J., & Merino, M. (2014). Obtenido de (<https://definicion.de/fermentacion/>)
- Rafael Borneo, P. C. (2013). <http://cytcereales.blogspot.com/2009/07/conversion-de-almidon-en-jarabes.html>. Recuperado el 2017
- Rydings, M. (17 de Febrero de 2006). http://www.bsimagazine.com/Feature_Stories. Obtenido de <http://www.bsimagazine.com>
- Saavedra Garcia, J. K. (2000). repositorio.unsm.edu.pe. Obtenido de repositorio.unsm.edu.pe: <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/49>
- Saavedra Garcia, J. K. (05 de junio de 2017). <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/49>. Obtenido de <http://repositorio.unsm.edu.pe>
- VAN DER BIJ, J. (1976). THE ANALYSIS OF STARCH DERIVATIVES. *PUBLICACION RADLEY*, 189-213.
- Wikipedia. (13 de Octubre de 2016). http://es.wikipedia.org/wiki/Derivados_del_almidon. Obtenido de <http://es.wikipedia.org>.
- Yeunyaw, P.-n., & Yuwa-amornpitak, T. S. (2008). Bioconversion of cassava starch to bio-ethanol in a single step by co-cultures of *Amylomyces rouxii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Science & Technology*, 776-783.

APENDICE

La Investigación desarrollada se trató en lo posible de secuenciar mediante las siguientes figuras.

FÍGURA N°01

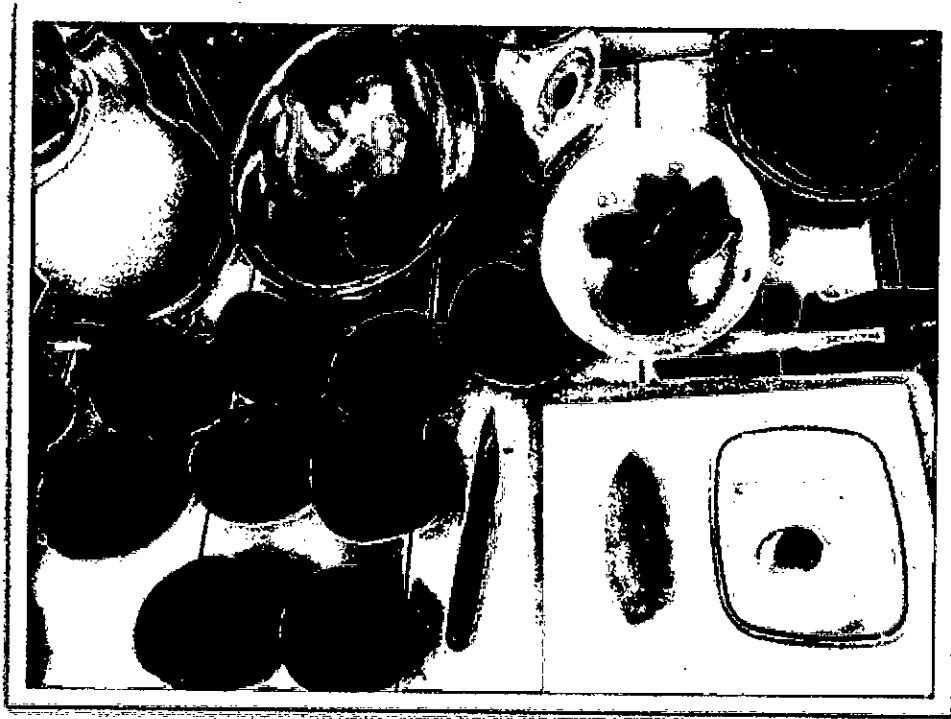
ELIMINACIÓN DE PULPA DE MANGO



FUENTE: Elaboración Propia

FIGURA N°02

EXTRACCIÓN DE COTILEDON

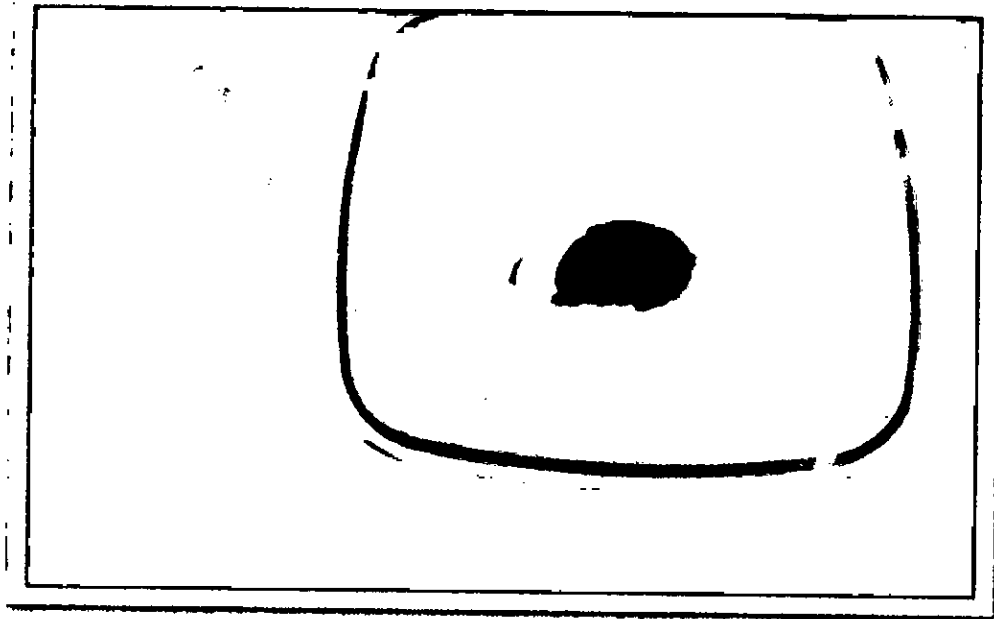


FUENTE: Elaboración Propia

25

FIGURA N°03

ELIMINACIÓN DEL TEGUMENTO



FUENTE: Elaboración Propia

FIGURA N°04

PRESENTACIÓN DE COTILEDON CON Y SIN TEGUMENTO



FUENTE: Elaboración Propia

Handwritten mark

FIGURA N°05
PRESENTACIÓN SIN TEGUMENTO



FUENTE: Elaboración Propia

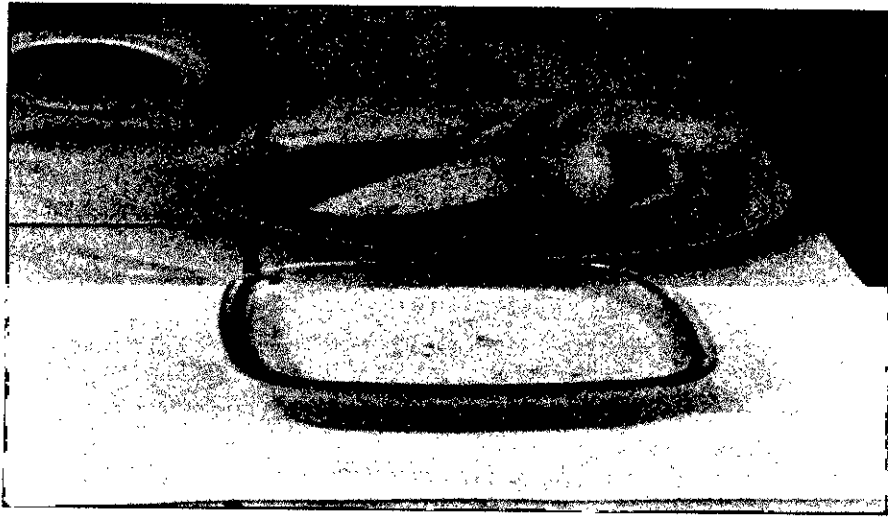
FIGURA N°06
TRITURADO EN HUMEDO



FUENTE: Elaboración Propia

FIGURA N°07

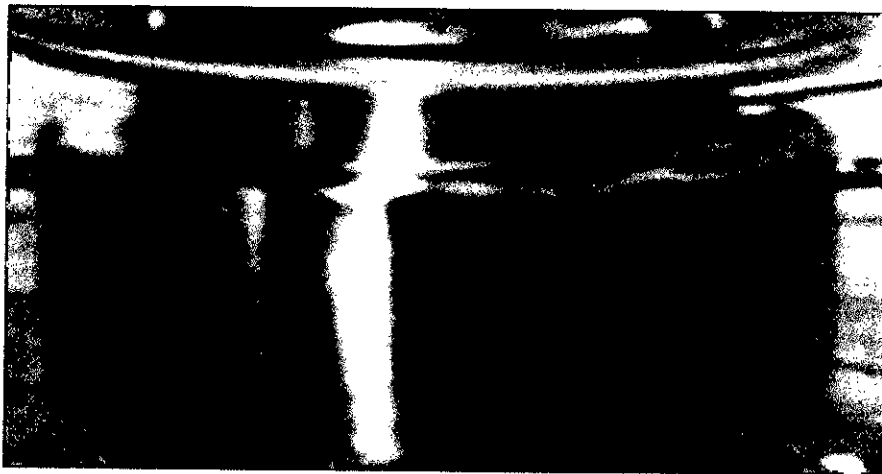
ALMIDON HUMEDO



FUENTE: Elaboración Propia

FIGURA N°08

EQUIPO DE DIGESTIÓN



FUENTE: Elaboración Propia



X ANEXOS

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables		Indicadores	Método
<p>General</p> <p>¿Se convertirá el almidón de la pepa de mango en Etanol?</p>	<p>General</p> <p>Convertir almidón de la pepa de mango en Etanol?</p>	<p>General</p> <p>Es factible convertir almidón de la pepa de mango en Etanol?</p>	Independientes		Gramos (g)	Experimental
			Etapa I	Almidón Enzima		
			Etapa II	Glucosa Levadura		
<p>Específicos</p> <p>¿Se convertirá almidón en glucosa por vía enzimática?</p> <p>¿Se convertirá glucosa en Etanol vía fermentativa?</p>	<p>Específicos</p> <p>Convertir almidón en glucosa por vía enzimática</p> <p>Convertir glucosa en etanol por vía fermentativa</p>	<p>Específicos</p> <p>Es factible convertir almidón en glucosa por vía enzimática</p> <p>Es factible convertir glucosa en etanol por vía fermentativa</p>	Dependientes		Gramos (g)	
			Glucosa			
			Etanol		Densidad (g/ml)	

Fuente: Elaboración Propia