

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
“OBTENCIÓN DE ETANOL POR VÍA FERMENTATIVA DE
***Saccharomyces cerevisiae* A PARTIR DE CÁSCARAS DE**
PLÁTANO DE SEDA (*Musa paradisiaca* L.)”

AUTOR: Blga. Ms.C. ALICIA CECILIA DECHECO EGÚSQUIZA

PERIODO DE EJECUCIÓN: del 01 de noviembre del 2018 al 31 de octubre del 2019.

RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN: N° 1034-2018-R

CALLAO – 2019

DEDICATORIA

A la memoria de mis queridos padres, “mis angelitos”, Emilia Josefina y Luis Cesar Augusto a quienes recuerdo con mucho amor y admiración.

A mi hijo Álvaro el gran soporte de mi vida; quien me impulsa a ser mejor persona cada día y me otorga su amor, comprensión y apoyo.

Agradecimientos

A la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos de la Universidad Nacional del Callao, por el gran apoyo y respaldo brindado para desarrollar las determinaciones a nivel de laboratorio durante la realización del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que de manera directa o indirecta han contribuido a la realización de de la presente investigación.

I. INDICE

	Página
I. INDICE	1
II.RESUMEN Y ABSTRACT	8
III.INTRODUCCION	10
3.1: Problema de investigación	10
3.2: Importancia y justificación de la investigación	11
IV. MARCO TEORICO	14
4.1: Plátano	14
4.2: Composición y valor nutritivo	17
4.3: Componentes de la cáscara de plátano	19
4.4: Etapas de obtención de Etanol biolignocelulósico	22
4.5: Hidrólisis enzimática	24
4.6: Sólidos Solubles (Grados Brix)	27
4.7: Fermentacion Alcohólica	27
4.8: Limitantes de la fermentación alcohólica	29
4.9: Microorganismos fermentadores	30
4.10: Destilación	33
4.11: Antecedentes del Estudio	34
V. MATERIALES Y METODOS	36
5.1: Materiales	36
5.2: Población y muestra	37
5.3. Técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos	37
5.4: Técnicas de análisis o los métodos estadísticos aplicados	46
5.5: Metodología de investigación básica	46

VI. RESULTADOS	47
6.1. Características de la Cáscara de Plátano	47
6.2: Relación entre los sólidos solubles y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con los grados alcohólicos	48
6.3: Relación entre los sólidos solubles y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de rendimiento de etanol	50
VII. DISCUSION	51
7.1. Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al grado alcohólico obtenido de cascara de plátano	51
7.2: Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al porcentaje de etanol obtenido de cascara de plátano	52
7.3: Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al porcentaje de rendimiento de etanol obtenido de cascara de plátano	53
7.4: Contrastación de la hipótesis de acuerdo a los análisis estadísticos	54
VIII. REFERENCIALES	64
IX. APENDICE	74
X. ANEXOS	89

TABLAS DE CONTENIDO DE TABLAS

	Página
4.1. Clasificación botánica del plátano (<i>Musa paradisiaca</i>)	16
4.2. Determinaciones químicas proximales a muestras representativas del plátano (<i>Musa paradisiaca</i>)	18
4.3. Pretratamientos para materiales lignocelulosicos	23
4.4. Rango óptimo de operación de los parámetros en la hidrólisis Enzimática	26
4.5. Clasificación Taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31
6.1. Balances de materia en la obtención de etanol de cáscara de plátano	47
6.2 Relación entre los grados brix y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con los grados alcohólicos obtenidos (°a) en cada tratamiento	86
6.3. Relación entre los grados brix y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de etanol destilado (%et) en cada tratamiento	87
6.4. Relación entre los grados brix y tiempos de fermentación con el porcentaje de rendimiento del etanol destilado (%RET) en cada tratamiento	88
7.1. Análisis de varianza de la relación entre el grado brix y el tiempo de fermentación con el grado alcohólico obtenido de cáscara de plátano	51
7.2. Análisis de varianza de la relación entre el grado Brix y el tiempo de fermentación con el porcentaje de etanol obtenido de cáscara de plátano	52

7.3. Análisis de varianza de la relación entre el grado Brix y el tiempo de fermentación con el porcentaje de rendimiento de etanol de cáscara de plátano	53
10.1. Ficha Técnica enzima Gramozyme Celulasa	90
10.2. Certificado de Análisis Gramozyme Celulasa	91
10.3. Matriz de Consistencia	92

TABLAS DE CONTENIDO DE FIGURAS

	Página
4.1. Características morfológicas de planta y fruto de plátano (<i>Musa paradisiaca</i>)	15
4.2 Organización estructural de los componentes lignocelulósicos	21
4.3. Estructura de la lignocelulosa	21
4.4 Proceso de obtención de etanol lignocelulósico	22
4.5 Representación esquemática de hidrólisis de la celulosa microcristalina y amorfa por el complejo celulasa	25
4.6 Ruta metabólica de la fermentación alcohólica	28
4.7 Imágenes de levaduras en microscopio óptico	32
5.1. Fotografías de los materiales y equipos utilizados	75
5.2 Pretratamiento físico y estandarización de cáscaras de plátano	76
5.3 Fotos experimentales de la selección, pelado, pesado y trozado de las cáscaras de plátano de seda (Etapa 1)	77
5.4 Secado, molido e hidrolisis química alcalina de las cáscaras de plátano.	78
5.5 Proceso de hidrólisis enzimática de las cáscaras de plátano	79
5.6 Proceso fermentativo de las cáscaras de plátano por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura liofilizada)	80
5.7 Control de grados Brix y pH de los mostos fermentados	81
5.8 Proceso de destilación y caracterización final del etanol destilado (Etapa 3)	82
5.9 Etanol destilado de los tratamientos de estudio	83
6.1 Fotos experimentales de la determinación de humedad de la cáscara de plátano de seda	84

6.2 Fotos experimentales de la determinación de acidez titulable
del etanol obtenido de cáscaras de plátano de seda

85

TABLAS DE CONTENIDO DE GRÁFICOS

	Página
6.1. Relación entre los sólidos solubles (°Brix) y tiempos de fermentación con el grado alcohólico (GA) de los mostos obtenidos de cáscara de plátano en cada tratamiento	48
6.2. Relación entre los sólidos solubles (°brix) y tiempos de fermentación (tfer) con el porcentaje de etanol destilado obtenido de la cáscara de piña en cada tratamiento.	49
6.3. Porcentaje de rendimiento del alcohol destilado	50

II. RESUMEN

Objetivo: Obtener etanol por *Saccharomyces cerevisiae* mediante la biotransformación de cáscaras de plátano de seda (*Musa paradisiaca*).

Método: Se estudió la hidrólisis enzimática y posterior fermentación de las cáscaras de plátano de seda al 30% (p/v) a una temperatura constante de 25°C. Las variables independientes a controlar fueron los sólidos solubles (20, 23 y 25 grados Brix) y el tiempo de fermentación (72, 96 y 120 horas). La variable dependiente fue la Calidad del etanol obtenido expresada como Grado alcohólico del mosto, Porcentaje de etanol destilado y Porcentaje de rendimiento de etanol destilado. El diseño experimental fue completamente al azar con modelo factorial 3².

Resultado: Se obtuvo etanol a partir de cáscaras de plátano de seda (*Musa paradisiaca*). Existieron diferencias significativas para los sólidos solubles (°Brix) y los tiempos de fermentación versus la Calidad del etanol obtenido. El nivel de 20°Brix fue en el que se presentó un mayor aumento de grado alcohólico (7°A), porcentaje de etanol destilado (56.3%) y % de rendimiento de etanol (33.7%) a las 120 horas de fermentación.

Conclusiones: En la hidrólisis enzimática con Celulasa fúngica al 3% (p/v) y posterior fermentación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo un producto de mayor valor agregado, se definieron las condiciones de operación y las etapas del proceso que deberían ser adaptadas para la producción de etanol a partir de cáscaras de plátano de seda (*Musa paradisiaca*).

Palabras clave: Cáscara de plátano, Lignocelulosa, fermentación, levadura, Etanol.

II. ABSTRACT

Objective: Obtain ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* through the biotransformation of silk banana peels (*Musa paradisiaca*).

Method: Enzymatic hydrolysis and subsequent fermentation of 30% silk banana peels (w / v) at a constant temperature of 25 °C were studied. The independent variables to be controlled were soluble solids (20, 23 and 25 degrees Brix) and fermentation time (72, 96 and 120 hours). The dependent variable was the Quality of the ethanol obtained expressed as Alcoholic grade of the must, Percentage of distilled ethanol and Percentage of distilled ethanol yield. The experimental design was completely randomized with factorial model 3².

Result: Ethanol was obtained from silk banana peels (*Musa paradisiaca*). There were significant differences for soluble solids (°Brix) and fermentation times versus Ethanol Quality obtained. The 20°Brix level was where there was a greater increase in alcoholic strength (7 ° A), percentage of distilled ethanol (56.3%) and% yield of ethanol (33.7%) at 120 hours of fermentation.

Conclusions: In the enzymatic hydrolysis with 3% fungal cellulase (w/v) and subsequent fermentation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, a product with a higher added value was obtained, the operating conditions and the process steps that should be adapted for Ethanol production from silk banana peels (*Musa paradisiaca*).

Key words: Banana peel, Lignocellulose, fermentation, yeast, Ethanol.

III. INTRODUCCION

3.1: Problema de investigación

La tendencia mundial es el notable crecimiento en la generación de residuos, derivado del incremento en la generación de productos comercializables. Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social.

En nuestro país los mercados y las industrias agroalimentarias generan una gran cantidad de residuos sólidos vegetales que comprometen gravemente los ecosistemas por su alta concentración de materia orgánica. Nuestras ciudades generan cada vez más cantidad de residuos cuya disposición final se realiza en botaderos a cielo abierto o cuerpos de agua constituyendo un problema para la salud pública, además los elevados volúmenes suponen importantes costos de recolección y disposición final.

Los residuos sólidos, semisólidos o líquidos pueden ser insumo para generar productos, obtener bioenergéticos y para reducir el impacto ambiental que ocasionan. (MEJÍAS et al., 2016).

La alta producción de residuos sólidos orgánicos está impulsando a los investigadores a estudiar los productos agrícolas y subproductos de las mismas después de ser sometidas a procesos de transformación agroindustrial, estos subproductos o residuos en su mayoría corresponden a biomasa lignocelulósica rica en polímeros de celulosa y hemicelulosa entre 75-80% (SÁNCHEZ, 2010). Por ejemplo, de la hidrólisis de

residuos lignocelulósicos como la cáscara de frutas que en su gran mayoría son consideradas biomásas desvalorizadas, se puede obtener jarabes glucosados para obtener bioetanol (TEJEDA *et al.*, 2010).

Por tal motivo, en esta investigación se pretende obtener etanol a partir de una materia prima diferente a la convencional como la caña de azúcar y utilizar en este caso la cáscara de plátano como única materia prima esencial del proceso y darle valor agregado a productos o subproductos a partir de cáscara de plátano, esta sería una opción para incrementar el nivel comercial de este insumo en nuestro país.

3.2: Importancia y justificación de la investigación

Importancia de la investigación

En nuestro país, el mercado industrial y minorista utiliza del fruto del plátano, la pulpa para el procesamiento y posterior consumo, mientras que las cascarras son desechadas sin conocer que estos pueden ser aprovechados para ser procesados y obtener subproductos como el etanol.

Los residuos industriales del plátano son una alternativa de bajo costo para la producción de etanol. Este desecho contiene azúcares simples fermentables (glucosa, fructosa y sacarosa) y cantidades significativas de celulosa y de hemicelulosa potencialmente hidrolizables. (VINCENT *et al.*, 2006).

La presente investigación es viable en cuanto a recursos humanos, materiales y tiempo y permite sustentar conceptual y metodológicamente la importancia de aprovechar los residuos orgánicos agroindustriales generados del procesamiento del plátano para obtener productos intermedios de alto valor agregado como el etanol y es un aporte de beneficio para empresas de transformación de materia orgánica, industria química,

industria farmacéutica, empresas agroindustriales, mercados y de consulta para profesores, profesionales, alumnos y empresarios afines al quehacer alimentario, y en consecuencia participar fortaleciendo a la institución.

Justificación de la Investigación

El uso racional de los recursos es un factor importante que orienta al diseño a sumar esfuerzos para crear estrategias de consumo y reducción de impactos generados a lo largo del ciclo de vida de los productos; de esta forma, en los procesos de desarrollo y fabricación de productos debe considerarse el aprovechamiento concientizado de los residuos que se generan, así como la utilización de la materia prima residual para la creación de nuevos productos, ayudando además, a la búsqueda del equilibrio sostenible del planeta. (HERNÁNDEZ et al., 2015).

En el Perú se genera un gran volumen de desechos sólidos (cáscara y bagazo), que resultan al consumir directamente la fruta o al procesarlas para la obtención de mermeladas, chifles y conservas de plátano, y que ya no son útiles para el proceso que los generó, pero que pueden aprovecharse para obtener un producto con valor agregado económico, comercial y principalmente la eliminación de una fuente de contaminación del medio ambiente.

Las aplicaciones industriales del plátano son su uso como sustituto de grasa en alimentos bajos en calorías, espesantes o de consistencia para dar características de viscosidad, adhesivo, enlazador, formador de película, agente gelificante, retenedor de agua y texturizante (APARICIO, 2007). Siendo el fruto del plátano el producto más utilizado como tal; pero las cáscaras que es el residuo producidos de este producto, algunas veces quedan en el abandono y no son utilizados.

Es importante que el residuo esté disponible localmente y en las cantidades necesarias para asegurar la fabricación de un producto de interés. (SAVAL, 2012).

El interés para desarrollar la presente investigación surge a partir de la falta de aprovechamiento de residuos sólidos vegetales y, asimismo, los mercados y las empresas agroindustriales disminuirán los costos asociados a la disposición de residuos sólidos vegetales y por lo tanto el impacto al ambiente será menor disminuyendo las afectaciones medioambientales que su disposición provoca.

Este trabajo pretende utilizar las cáscaras de plátano como sustrato para la producción de metabolitos de interés como etanol realizando una previa hidrólisis del material lignocelulósico de las cascaras con enzimas celulasas y su posterior fermentación para obtener un producto que puede ser utilizado en la agroindustria, empresas de transformación de materia orgánica, industria química y farmacéutica.

IV. MARCO TEORICO

4.1: Plátano

Es una planta herbácea de la familia Musaceae. Se cree es originaria de las regiones tropicales del sur de Asia. El plátano es uno de los cultivos más comunes en todos los países con clima tropical, de todo el fruto lo único que es consumido por el humano es la pulpa por lo que se generan grandes cantidades de desperdicio, este generalmente se coloca en basureros municipales lo que contribuye a la existencia de problemas ambientales (WACHIRASIRI et al., 2009).

La producción mundial de bananos y plátanos es de aproximadamente 145 millones de toneladas (106 millones de banano y 39 millones de plátano) y, de este total, alrededor del 87% se produce para los mercados locales, nacionales y para el consumo interno (FAO, 2011).

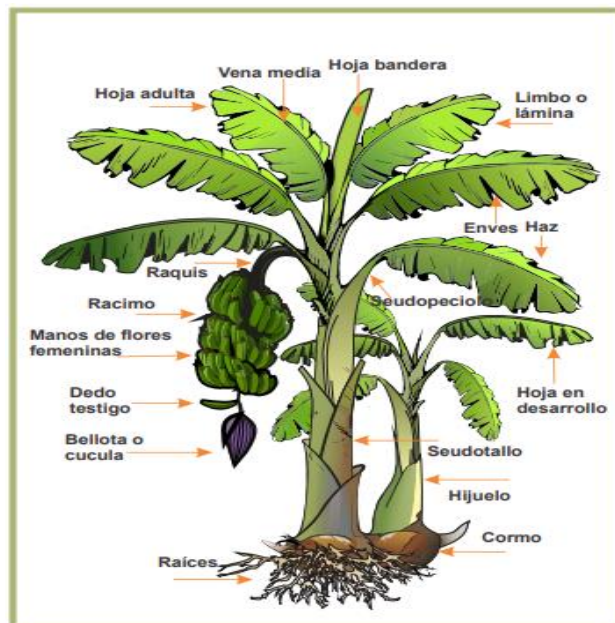
En el Perú, la mayor producción de plátano la aportan las Regiones de Piura y Tumbes, seguida de las regiones de Ucayali, Amazonas. Las principales variedades de plátano son Seda, Seda Congo, Isla, Bellaco y Bizcocho. Aproximadamente el 90% de la producción nacional se destina al autoconsumo y la diferencia es para la comercialización regional, nacional y para exportación. El principal mercado de consumo es el departamento de Lima, que absorbe el 8% de la producción total de la selva y costa norte. (UNALM – AGROBANCO, 2011).

Aunque la planta de banano tiene el aspecto de árbol por su tamaño y apariencia, es en realidad una planta herbácea perenne gigante, que alcanza de 3.5 a 7.5 metros de altura y cuyo “tallo” consiste en un cilindro formado por los pecíolos de las hojas, las cuales están dispuestas en forma de espiral, de diverso tamaño, de base obtusa, redondeada o subcordada; su ápice es agudo, truncado o con muescas y márgenes enteros pero

fácilmente rasgables, su color es verde amarillento, de 1.5 a 3.0 m de largo, más largas que anchas; los pecíolos de las bases envainantes son semi cilíndricos (BANASCOPIO, 2015).

El fruto del plátano es una baya partenocárpica; es decir, se forma sin necesidad de que las flores femeninas sean polinizadas. Por ser un fruto climatérico, continúa madurando después de la cosecha, pero el fruto debe recolectarse cuando está fisiológicamente maduro (verde-maduro). Su forma tamaño y color, depende de la variedad cultivada. (TORRES, 2012). En la Figura N°4.1 se muestra las características morfológicas de la planta y fruto del plátano. (*Musa paradisiaca*).

FIGURA N°4.1.
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE PLANTA Y FRUTO DE
PLÁTANO (*Musa paradisiaca*)



Fuente: TORRES 2012.

Descripción Botánica del plátano

Dentro de la clasificación taxonómica, este cultivo pertenece a la familia Musaceae, que se agrupa dentro del orden Zingiberales y se encuentra distribuida a través de los trópicos de ambos hemisferios (TIGASI, 2017). El plátano comprende tres géneros y cerca de 42 especies: *Musa* (35 especies), *Ensete* (7 especies), *Musella* (1 sola especie). Algunos géneros son cultivados a través de los trópicos como producto alimenticio y algunas veces como ornamentales (SOTO, 2008).

En la Tabla N°4.1 se muestra la clasificación botánica del plátano.

TABLA N°4.1
CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DEL PLÁTANO (*Musa paradisiaca*)

Reino	Plantae
División:	<u>Magnoliophyta</u>
Clase:	Liliopsida
Sub-clase	Zingiberidae
Orden:	Zingiberales
Familia:	Musaceae
Sub familia:	Cucurbitoideae
Género:	<i>Musa</i>
Especie:	<i>M. paradisiaca</i> (L)

Fuente: SOTO, 2008.

4.2: Composición y valor nutritivo.

La composición química, fluctúa de acuerdo a la interacción de factores específicos del cultivar, del estado de maduración, las condiciones ambientales y las prácticas agrícolas empleadas, además del tratamiento postcosecha (ARVANITTOYANNIS y MAVROMATIS, 2009).

La pulpa de plátano contiene diversas propiedades, como lo han demostrado estudios realizados sobre este. Tiene un elevado valor energético (1.1.- 2.7 Cal/100 g), contiene numerosas sales minerales, entre ellas se presenta las sales de hierro, fósforo, potasio y calcio (SAG, 2011). De manera general, la pulpa de plátano es una excelente fuente de potasio. El potasio se puede encontrar en una variedad de frutas, verduras o incluso carnes, sin embargo, un solo plátano puede proporcionar hasta el 23% de potasio que se necesita al día. (KUMAR et al., 2012).

El potasio beneficia a los músculos, ya que ayuda a mantener su buen funcionamiento y evita los espasmos musculares (HERNÁNDEZ & VIT, 2009). Además, estudios recientes muestran que el potasio puede ayudar a disminuir la presión arterial y también reduce el riesgo de accidentes cerebrovasculares. (KUMAR, et al., 2012).

El plátano es rico en vitaminas A, B₆, C y D, dando beneficios especialmente a los huesos y músculos del cuerpo humano. Ya que uno solo de estos frutos está constituida principalmente por un 85-90 por ciento de agua y de 8 a 10% de azúcares de los cuales dos terceras partes se encuentran en forma de sacarosa y el resto como glucosa y fructosa (BLASCO & GÓMEZ, 2014).

Prácticamente no contiene almidón y su contenido de proteínas y grasa es muy baja. Contiene 0.6 a 0.9 % de ácidos de los cuales el 87 % es ácido cítrico y el resto ácido málico (SAG, 2011).

En la Tabla N°4.2 se muestra las determinaciones químicas proximales a muestras representativas de plátano.

TABLA N°4.2:
DETERMINACIONES QUÍMICAS PROXIMALES A MUESTRAS
REPRESENTATIVAS DE PLÁTANO (*Musa paradisiaca*)

Característica	Plátano
Humedad	70,0 %
Proteína	1.5 %
Grasa	0,3 %
Carbohidratos	68g
Fibra cruda	1,1g
Ceniza	1,2 g
Calcio	10 mg
Fosforo	80 mg
Hierro	0,8 mg
Ácido ascórbico	1,4 mg
Riboflavina	0,22 mg
Tiamina	0,11 mg
Caroteno	0,72 mg
Niacina	0,90

Fuente: BONSAK, 2006.

El plátano tiene gran valor nutricional. Tiene una rara combinación de valor energético, construcción de tejidos, elementos, proteínas, vitaminas y minerales. Es una buena fuente de calorías ya que es rica en sólidos y bajo en contenido de agua en comparación

con otras frutas frescas. Los plátanos son una buena fuente de Vitamina C que ayuda a reconstruir el sistema inmunológico, también son relativamente fáciles de digerir en comparación con otros alimentos y por lo que son inestimables para personas con sistemas de inmunidad comprometida. La vitamina C también aumenta la absorción de hierro y aumenta la formación de sangre, estos dos beneficios para la salud de los plátanos hacen que sea ideal para personas con anemia o problemas relacionados a la sangre (BLASCO & GÓMEZ, 2014).

Los plátanos también se pueden incluir en una dieta para la presión arterial alta, ya que contienen potasio que ayuda a reducir y controlar los niveles altos de presión sanguínea. Además, los plátanos no contienen incluso pequeñas cantidades de grasa, colesterol o Sodio que lo convierte en una opción de comida saludable. Incluso para los planes de dieta restrictiva. (BLASCO & GÓMEZ, 2014).

La pulpa del plátano verde contiene del 70-80% de almidón en peso seco, además, contiene cantidades casi insignificantes de proteínas y grasas. La ceniza es relativamente rica en potasio, magnesio, sodio, fosforo. (APARICIO, 2007)

4.3: Componentes de la cáscara de plátano

Aprovechamiento y valoración de la cáscara de plátano

El principal subproducto del proceso industrial del plátano, es la cáscara la cual representa aproximadamente el 30% del peso del fruto (GONZÁLEZ et al., 2010); las aplicaciones potenciales para la cáscara de plátano dependen de su composición química. La cáscara de plátano es rica en fibra dietética, proteínas, aminoácidos esenciales, ácidos grasos poliinsaturados y potasio; entre los esfuerzos para utilizar la cáscara se han obtenido proteínas, metanol, etanol, pectinas y enzimas. (EMAGA et al., 2007).

La cáscara de plátano tiene un alto contenido de fibra dietética (50 g/100g) por lo que es una buena fuente de este compuesto, se ha determinado que la maduración del plátano muestra un impacto positivo en la composición de fibra de la cáscara, compuesta principalmente de celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina (EMAGA et al., 2007), diversos estudios epidemiológicos han demostrado que las dietas con una ingesta disminuida de fibra están relacionadas con la aparición de ciertas patologías como el cáncer de colon y la aterosclerosis; la fibra dietética ha cobrado interés en los últimos años debido a los efectos benéficos que presenta para la salud ya que ayuda a la reducción del colesterol en la sangre y desarrollo de la flora intestinal, mejora el control de la glucemia y la sensibilidad a la insulina en los individuos diabéticos, facilitando la pérdida de peso (GARCÍA et al., 2003) por lo que actualmente, es uno de los principales ingredientes en alimentos funcionales y se está incorporando progresivamente a todo tipo de alimentos y bebidas (FINGOLO et al., 2012).

Entre otros usos se ha obtenido carbón vegetal, una fuente de combustible alternativa para cocinar. La cáscara en conjunto con otras sustancias crea un ungüento para reducir los dolores causados por la artritis, (KUDAN, 1975), además se considera que la cáscara de plátano puede ser una fuente potencial de sustancias antioxidantes y antimicrobianas, (SAIF & HASHINADA, 2005). Así como compuestos fitoquímicos con actividad contra radicales libres. (ARAWANDE & KOMOLAFE, 2010).

Varios autores han analizado el efecto de los compuestos antioxidantes presentes en cáscara de plátano, para identificar el efecto sobre los radicales libres los cuales se producen continuamente en nuestro organismo ya sea de manera natural o por el estrés ambiental, así como otros factores relacionados con muchas enfermedades como el cáncer, aterosclerosis, artritis, enfermedad de Parkinson y Alzheimer. (BLASCO & GÓMEZ, 2014).

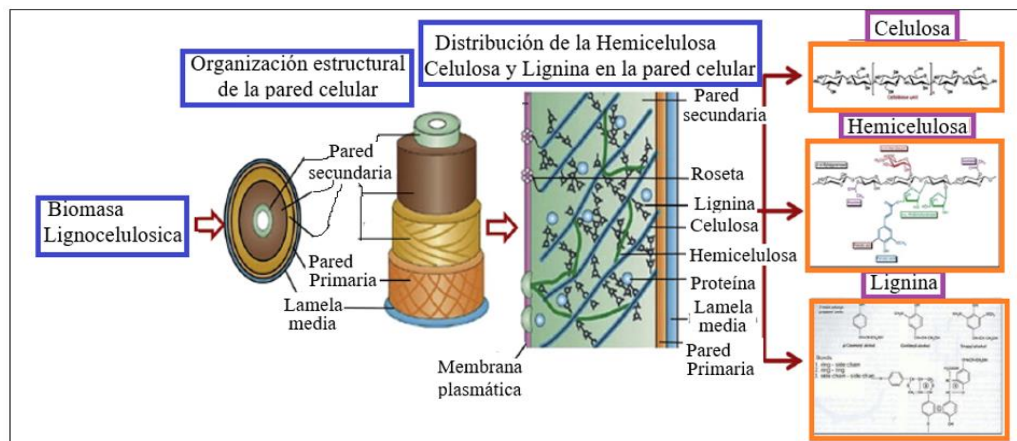
Composición de la lignocelulosa.

La biomasa lignocelulósica es un heteropolímero formado de esteres extraíbles, proteínas, carbohidratos, celulosa, hemicelulosa, lignina y minerales (PÉREZ et al., 2002). Presente en residuos agrícolas, industriales, forestales, municipales, pastos, etc.

La biomasa lignocelulósica está compuesta por los polisacáridos, lignina y otras sustancias cuya energía almacenada en sus componentes, la hacen tener un enorme potencial biotecnológico. (MEDINA et al., 2011).

Comprende del 60-80% del material lignocelulósico. Este componente hace referencia a la celulosa y hemicelulosa que son hidrocarburos de alto peso molecular (MATHEWS et al., 2004). En la pared celular vegetal, los polisacáridos celulosa, hemicelulosa y lignina forman microfibrillas (Figura N°4.2), dispuestas en macrofibras que dan firmeza. (BELLIDO, 2013).

FIGURA N°4.2
ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPONENTES
LIGNOCELULÓSICOS

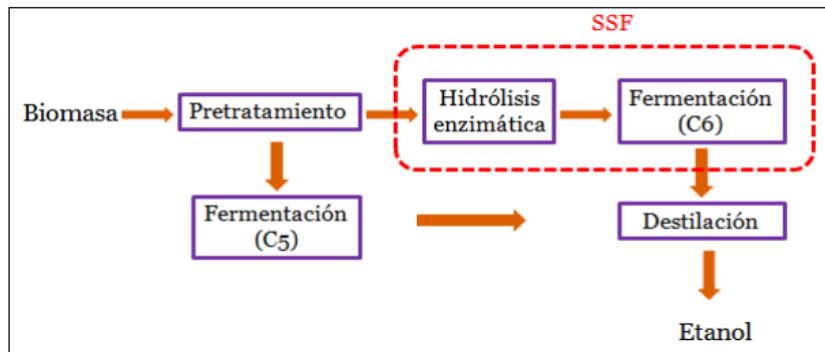


Fuente: adaptado de BELLIDO, 2013).

4.4. Etapas de obtención de Etanol biolignocelulósico

Para convertir la biomasa lignocelulósica a etanol deben realizarse cuatro etapas; 1) pretratamiento, para desagregar y solubilizar la lignina total o parcialmente, hidrolizar el polisacárido hemicelulosa y disminuir la cristalinidad de la celulosa; 2) hidrólisis de la celulosa, para obtener glucosa; 3) fermentación y 4) destilación del etanol (MATEUS, 2011), (Figura N°4.4). Estas etapas pueden llevarse a cabo mediante distintas configuraciones de proceso y dentro de cada una de ella existen múltiples alternativas. (MERINO & CHERRY, 2007).

FIGURA N°4.4
PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL LIGNOCELULÓSICO



Fuente: MATEUS, 2011.

Pretratamientos de la biomasa lignocelulósica

Para poder procesar adecuadamente los materiales lignocelulósicos es necesario someterlos a pretratamientos para poder favorecer la hidrólisis de la celulosa para generar azúcares fermentables mediante el uso de celulasas (MEDINA et al., 2011; HU & WEN, 2008). La lignocelulosa es altamente resistente a hidrólisis, ya que el conjunto

de celulosa, hemicelulosa y lignina, están unidos entre sí por enlaces covalentes, diversos puentes intermoleculares y fuerzas de van der Waals (KUMAR S. *et al.*, 2010).

En la Tabla N°4.3 se muestran los tipos de pretratamientos para materiales lignocelulosicos con algunos ejemplos de pretratamientos.

TABLA N°4.3
PRETRATAMIENTOS PARA MATERIALES LIGNOCELULOSICOS

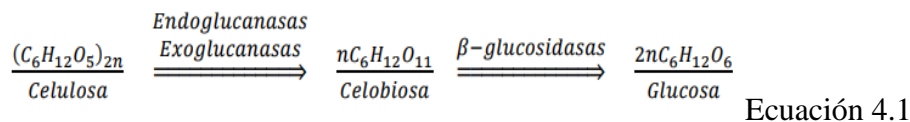
Pretratamiento	Descripción
Físico	Reducción de tamaño de partícula para aumentar el área de superficie de hidrolisis.
Autohidrolisis	Altas temperaturas (150 - 180 °C) y presión, la hemicelulosa y lignina comienzan a solubilizarse dejando a la celulosa más expuesta.
Químicos	Solubilizan la lignina y la hemicelulosa dejando a la celulosa expuesta para ser hidrolizada. Se emplean ácidos y/o bases.
Oxidativos	Se agregan agentes oxidantes como ácido acético, peróxido de hidrogeno u ozono, donde se afecta a la lignina y hemicelulosa.
Biológicos	Utilización de hongos y bacterias capaces de solubilizar la lignina y dejar expuesta la celulosa para ser hidrolizada.

Fuente: ARELLANO, 2015.

4.5. Hidrólisis enzimática

En esta etapa se produce la liberación de azúcares simples que provienen del material lignocelulósico degradado por enzimas específicas para este propósito. Las enzimas involucradas en este proceso son principalmente las endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas (TALEBNIA et al., 2010), que trabajan sinérgicamente en la liberación de glucosa. Las endoglucanasas atacan sitios internos de las regiones de baja cristalinidad de la fibra de celulosa para transformarla en cadenas de extremos libres. Las exoglucanasas atacan los extremos libres, removiendo unidades de moléculas de celobiosa, las cuales son transformadas en glucosa por la acción de las β -glucosidasas.

La Ecuación 4.1 ilustra el mecanismo utilizado para la transformación de celulosa a simples unidades de glucosa.



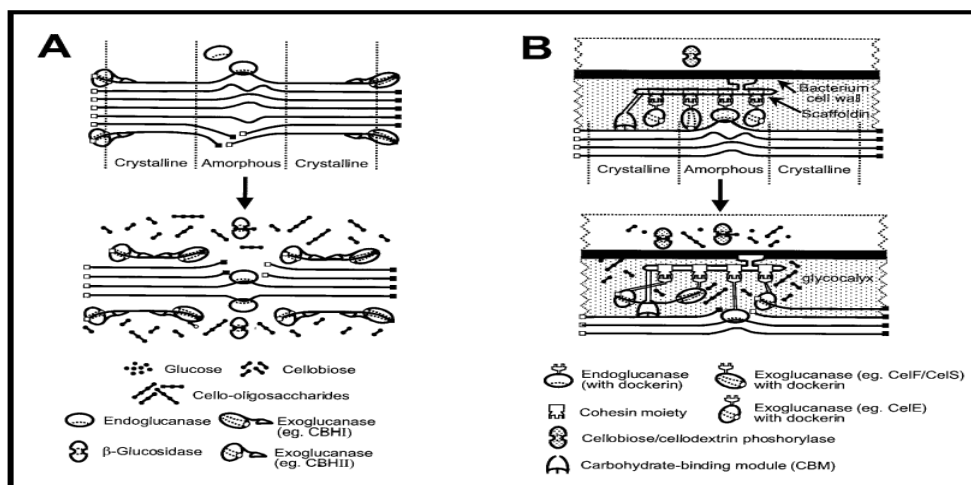
De acuerdo a lo reportado por TALEBNIA et al., (2010); CASTRO et al., (2004), la hidrólisis enzimática sufre de inhibición por sustrato y por producto final, lo que puede afectar importantemente la liberación de glucosa. La hidrólisis enzimática de carbohidratos de plantas ha emergido como la tecnología más prominente para la conversión de biomasa en monómeros de azúcares para la subsecuente fermentación y generación de bioetanol (LISCANO, 2014).

Durante el pretratamiento el sustrato lignocelulósico aumenta la digestibilidad con el incremento de la porosidad permitiendo la accesibilidad de las celulasas a la celulosa. (BOHORQUÉZ & HERRERA, 2005).

Las celulasas son una mezcla de tres enzimas que actúan simultáneamente en la hidrólisis de la celulosa: endoglucanasa, celobiohidrolasa y celobiasa (β -glucosidasa). Las primeras dos enzimas actúan directamente en la celulosa. Los principales productos de reacción son la celobiosa y la glucosa; la celobiosa es entonces hidrolizada a glucosa por la celobiasa. Las endoglucanasas y las celobiohidrolasas degradan a las celodextrinas solubles y a la celulosa amorfa); sin embargo, la celobiohidrolasa degrada a la celulosa cristalina de una manera más eficiente (BOHORQUÉZ & HERRERA, 2005).

En la Figura N°4.5 se muestra la representación esquemática de hidrólisis de la celulosa amorfa y microcristalina por celulasa no complejada (A) y complejada (B) sistemas. Los cuadrados sólidos representan extremos reductores, y los cuadrados abiertos representan extremos no reductores. se indican las Regiones amorfas y cristalinas. (LYND et al., 2002).

FIGURA N°4.5
 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE HIDRÓLISIS DE LA CELULOSA
 MICROCRISTALINA Y AMORFA POR EL COMPLEJO CELULASA.



Fuente: (LYND et al., 2002).

Actualmente se propone el uso de enzimas segregadas por hongos filamentosos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos como son: las celulasas, que engloban un conjunto de enzimas que hidrolizan la celulosa cristalina a pequeños oligosacáridos y posteriormente a glucosa; y las hemicelulasas, que hidrolizan la hemicelulosa a azúcares monoméricos (KROGH et al., 2004; WEN et al., 2005; SEHNEM et al., 2006).

PAREDES et al., (2010), informan que la especificidad de hidrólisis hace que las celulasas actúen a condiciones bastante específicas u óptimas de pH y temperatura, 5,3 y 50 °C respectivamente. A la temperatura de 50°C produce la mayor cantidad de glucosa en 1000 ml de sustrato y que a las temperaturas superiores e inferiores a la óptima, la enzima produce menor cantidad de azúcares. En la Tabla N°4.4 se encuentran los parámetros de operación más relevantes a los que se trabaja para la hidrólisis enzimática en condiciones óptimas, lo que permite obtener altos rendimientos de glucosa. (JURI, 2011; TALEBNIA et al., 2010).

TABLA N°4.4
RANGO ÓPTIMO DE OPERACIÓN DE LOS PARÁMETROS EN LA
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

PARÁMETRO	RANGO ÓPTIMO DE OPERACIÓN
Temperatura	45 -55°C
pH	4 - 5
Dosis de Celulasa	10 – 30 [FPU/g material lignocelulósico]
Tiempo de acción	48 -72 horas

Fuente: JURI, 2011; TALEBNIA et al., 2010

4.6: Sólidos Solubles (Grados Brix)

El grado Brix es el índice de refracción que da una disolución del 1% de sacarosa en peso, 1° brix, corresponde a 1 gramo de azúcar en 100 gramos de solución azucarada (es decir el peso de la solución una vez hecha la mezcla y este tipo de relación se la conoce como peso en peso). Grados Brix = Grados baumé x 1.8 (AMERINE & OUGH, 2001).

El contenido de sólidos solubles o grados Brix proporcionan una medida objetiva de la concentración de azúcares disueltos en un producto y de la idea del nivel de dulzura del mismo (HERNÁNDEZ & MARTÍNEZ, 2012). En esta prueba se mide la cantidad de elementos solubles presentes en la muestra, mediante la refractometría, la cual está dada por la desviación de ángulo luminoso, los azúcares, ácidos orgánicos y alcoholes hacen parte de estos elementos solubles. La concentración en sólidos solubles de una solución se expresa en grados Brix. Originariamente, los grados Brix son una medida de densidad. Un grado Brix es la densidad que tiene, a 20° C, una solución de sacarosa al 1 %, y a esta concentración corresponde también un determinado índice de refracción. (SIERRA et al., 2010).

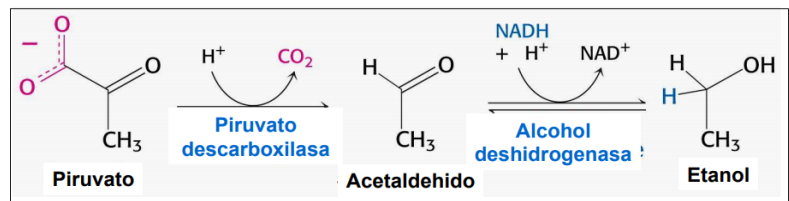
Como los sólidos no son solamente sacarosa, sino que hay otros azúcares, ácidos y sales, un grado Brix no equivale a una concentración de sólidos disueltos de 1g/10ml. Los grados Brix son, por tanto, un índice comercial, aproximado, de esta concentración que se acepta convencionalmente como si todos los sólidos disueltos fueran sacarosa.

4.7: Fermentacion Alcohólica

La fermentación alcohólica de levaduras y algunas bacterias pertenece al metabolismo anaerobio donde la glucosa es oxidada parcialmente por la glucólisis hasta piruvato, el

cual se descarboxila y es reducido a etanol por la acción de la coenzima NADH_2 . (MATHEWS et al., 2004; MCKEE & MCKEE, 2014) (Figura N°4.6).

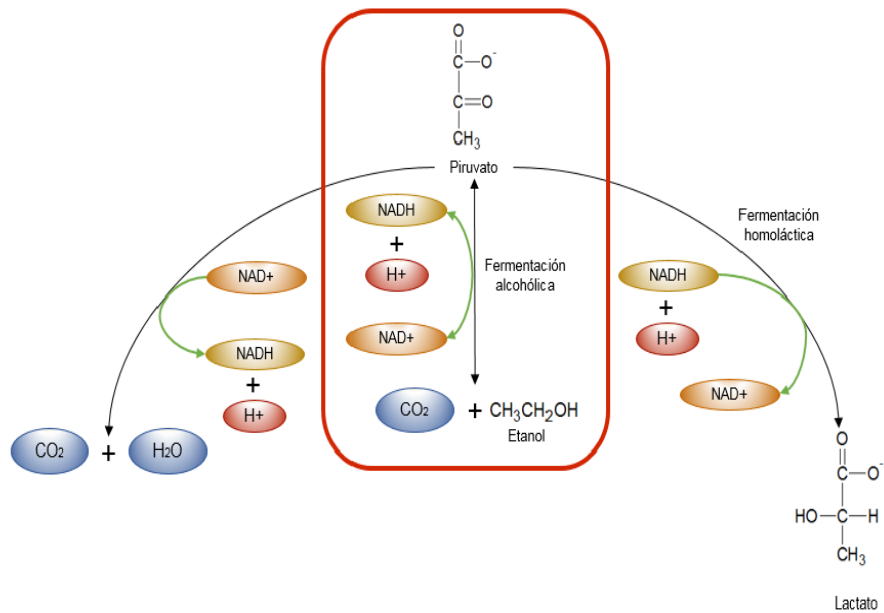
La ecuación general de la conversión de piruvato en etanol se indica en la Ecuación 2:



Ecuación 2

FIGURA N°4.6

RUTA METABÓLICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.



Fuente: MCKEE & MCKEE, 2014.

4.8. Limitantes de la fermentación alcohólica.

La levadura consume azúcares reductores para obtener etanol y la eficacia de la conversión depende de las adecuadas condiciones. (ARGOTE et al., 2015).

Se deben tener en cuenta los siguientes factores:

a) Tolerancia de alcohol

De la composición de la membrana y su fluidez depende la habilidad celular para tolerar el alcohol (TOMASSO, 2004). El etanol mayor al 8% puede inhibir el crecimiento celular, la viabilidad y la fermentación (SUÁREZ et al., 2016). No se recomienda terminar la fermentación con alto grado alcohólico (RIEGEL & KENT., 2003).

b) Acidez del sustrato.

Las levaduras se afectan por el ambiente ácido o alcalino siendo el nivel idóneo de pH de 3.5 a 5.5 (ACOSTA, 2012), durante la fermentación, el pH disminuye al producirse ácidos (RÍOS et al., 2005). Las levaduras soportan medios más ácidos que otros microorganismos, lo que permite controlar bacterias que compiten por el sustrato. (BELTRAN et al., 2002).

c) Aireación.

Saccharomyces cerevisiae posee alta actividad metabólica, en la fase aerobia produce biomasa y en la anaeróbica produce etanol (ARIMUYA & TECCO, 2014). El oxígeno permite la selección del microorganismo y los productos (ACOSTA, 2012).

d) **Presión osmótica.**

El estrés osmótico disminuye el volumen celular, velocidad de fermentación y la viabilidad celular (SEO et al., 2005). El nivel de azúcar afecta la osmosis dentro de la membrana celular, siendo óptima de 10 a 18% pero a 22% tienen problemas en la respiración celular (RÍOS et al., 2005). En bajas concentraciones de azúcares se afecta el grado alcohólico final. En mostos de grado Brix muy bajo el grado alcohólico será menor, pero en niveles elevados se impide la actividad de las levaduras y no ocurre la fermentación. (CARRASCOSA et al., 2005).

e) **Temperatura.**

Se debe controlar la temperatura porque afecta el crecimiento, duración de la fermentación y el metabolismo de las levaduras (TORIJA et al., 2002). Las levaduras son mesófilas, la temperatura óptima es 30°C, a más de 50°C se produce su muerte. Si es mayor de 35°C se disminuye la acción y por encima de 40°C esta se puede detener (RÍOS et al., 2005).

f) ***Nutrientes***

Es necesario considerar para permitir el crecimiento del organismo fermentador los nutrientes que requiere. (GARZÓN & HERNÁNDEZ, 2009; ACOSTA, 2012).

4.9. Microorganismos fermentadores

Los organismos empleados para obtener etanol deben ser tolerantes al etanol, a temperaturas y concentraciones de azúcar altas, tener buen rendimiento alcohólico, fermentación eficiente y buena productividad (ZUZUARREGUI, 2005).

Las levaduras son muy utilizadas para la producción de etanol por fermentación (MADIGAN & MARTINKO, 2009), tienen alta productividad para convertir azúcares a bioetanol, separándose bien luego de la fermentación (ZAMBRANO, 2013) y soportan concentraciones altas de Etanol (hasta 150 g-L⁻¹), (CLAASSEN et al., 1999).

Los microorganismos más empleados son las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. anamensis*, *S. carlsbergensis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida seudotropicalis*, *Candida bytyrii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia stipatis* y *Pichia membranaefaciens* (FRAZIER & WESTHOFF, 2000).

Saccharomyces cerevisiae

Las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* son hongos (Tabla N°4.5) que se reproducen por gemación, son unicelulares, eucarióticos, con metabolismo heterótrofos y son osmotróficos (FRAZIER & WESTHOFF, 2000).

TABLA N°4.5
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Saccharomyces cerevisiae*

Reino	Hongo
División	Amastogomycota
Clase	Ascomicetas
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Sacchaomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Género	<i>Saccharomyces</i>
Especie	<i>S. cerevisiae</i>

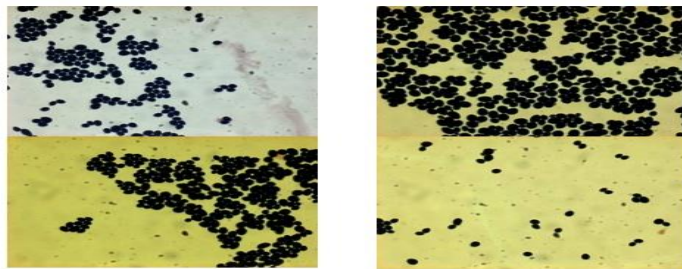
Fuente: NIETO, 2009.

En las fermentaciones industriales *S. cerevisiae* es más utilizada porque metaboliza sacarosa, glucosa, galactosa, fructosa, maltosa y maltotriosa (HERNÁNDEZ & MARTÍNEZ, 2012), pero no hidroliza almidón ni dextrinas y necesita una hidrólisis enzimática para transformar los oligosacáridos y obtener etanol (CASP & ABRIL, 2003). Tampoco fermentan la rafinosa, trehalosa ni lactosa. (GONZÁLES, 2014).

Tolera altos niveles de etanol, produce pocos subproductos, es osmotolerante, puede reciclar, flocular y sedimentar (FAJARDO & SARMIENTO, 2008) y es fácil de manipular y recuperar (TORIJA, 2002).

Sus dimensiones son 4.5 a 21 micras de largo por 2.5 a 10 micras de ancho. En el microscopio se les visualiza de forma redonda y ovoide (GONZALES, 2014), elipsoides a veces cilíndricas y filamentosas (Figura N°4.7). Su aireación recomendada es de 0.6-0.9 vvm (FAJARDO & SARMIENTO, 2008).

FIGURA N°4.7
IMÁGENES DE LEVADURAS EN MICROSCOPIO ÓPTICO



Fuente: GONZÁLES, 2014.

a. Requerimientos nutricionales:

Necesita carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y fósforo que estén disponibles de asimilar (FAJARDO & SARMIENTO, 2008). En aerobiosis

requiere vitaminas como pantoténico de calcio, piridoxina, tiamina y biotina. En anaerobiosis es menos exigente y solo requiere inositol (GONZÁLES, 2014).

b) Requerimientos fisicoquímicos.

Saccharomyces es acidófila, con un pH de 4.0 y 4.5 crece mejor (Fajardo & SARMIENTO, 2008), el pH para su crecimiento varía de 4 a 7, a pH de 8 a 9 metabolizan por la fermentación glicérica. En pH neutro forma biomasa y baja la producción de etanol, a pH ligeramente ácidos se favorece la vía metabólica de la glucólisis para la fermentación alcohólica. (HERNÁNDEZ & MARTÍNEZ, 2012).

Saccharomyces cerevisiae desarrolla bien de 28 a 35 °C, recomendándose 30°C, muere cuando se expone a 55°C por 5 minutos (FERNÁNDEZ et al., 2014), algunas cepas pueden fermentar bien a bajas temperaturas y otras lo hacen en altas temperaturas (TORIJA, 2002). En la fermentación se recomienda utilizar cepas de *S. cerevisiae* que produzcan en corto tiempo un mayor porcentaje de alcohol (PEÑA Y ARANGO, 2009).

4.10. Destilación

La destilación es un procedimiento muy utilizado para desagregar y purificar líquidos, aprovechando las volatilidades diferentes de los compuestos que integran una mezcla y los separa (MURGAS & VÁSQUEZ, 2012).

El agente separador es el calor (ESCALANTE & FUENTES, 2013), y se obtiene un vapor del compuesto de la mezcla que tiene mayor volatilidad. (ARIMUYA & TECCO, 2014).

En la destilación Simple por lotes o diferencial, el vapor producido va directamente hacia un condensador. Se calienta la mezcla líquida hasta su ebullición y conforme transcurre el tiempo se disminuye la concentración de los compuestos más volátiles del líquido (ANGULO, 2010).

4.11: Antecedentes del Estudio

La alta producción de residuos sólidos orgánicos está impulsando a los investigadores a estudiar los productos agrícolas y subproductos de las mismas después de ser sometidas a procesos de transformación agroindustrial, estos subproductos o residuos en su mayoría corresponden a biomasa lignocelulósica rica en polímeros de celulosa y hemicelulosa entre 75-80% (SÁNCHEZ, 2010). Por ejemplo, en la hidrólisis de residuos lignocelulósicos como la cáscara de frutas que en su gran mayoría son consideradas biomásas desvalorizadas (TEJEDA et al., 2010), se puede obtener jarabes glucosados para obtener bioetanol.

Desde hace varias décadas los residuos agroindustriales han sido un foco de atención para varios investigadores a nivel mundial, debido a que parte de sus constituyentes pueden ser materia prima para generar diversos productos de interés, esta situación sigue prevaleciendo en la actualidad y se prevé que continuará en el futuro. (Saval, 2012).

Para mitigar los efectos ambientales y económicos de fuentes no renovables de energía, a nivel mundial se ha impulsado el uso de materiales renovables que no presenten problemas de seguridad alimentaria y de contaminación ambiental. De esta forma los materiales lignocelulósicos se han convertido en el objetivo de investigación de la comunidad científica que trabaja en la producción de etanol. Sin embargo, la estructura compleja de los materiales lignocelulosicos, hace difícil el acceso a los azúcares fermentables, por lo tanto, se implementan pretratamiento

adecuado, junto a estrategias de sacarificación y fermentación eficientes. (LISCANO, 2014).

MONSALVE et. al., (2006) evaluaron la hidrólisis ácida del almidón presente en yuca y de la celulosa presente en cáscara de banano y su posterior fermentación a etanol, se ajustaron los medios de fermentación para los microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-2034 y *Zymomonas mobilis* CP4. Se caracterizó la cáscara de banano, la cual posee un contenido de almidón, celulosa y hemicelulosa que representan más del 80 % de la cáscara. Para la fermentación realizada con *Sacharomyces cerevisiae* obtuvieron una concentración de etanol de $7.92\pm 0.31\%$ y no se obtuvo una producción considerable de etanol (menor de 0.1 g/l) para ninguno de los medios fermentados con *Zymomonas mobilis*.

Cuervo et al., (2009), indican que para obtener etanol a partir de lignocelulosa existen estrategias utilizando enzimas celulolíticas y levaduras fermentadoras para lograr un proceso para sacarificar y fermentar a la vez y poder alcanzar buenos rendimientos de etanol.

TEJADA et al., (2010), estudio la producción de etanol utilizando cascaras de naranja y piña. Mediante el pre tratamiento físico, hidrolisis alcalina y ácida obtuvieron un jarabe azucarado que fue fermentado por la levadura. Separaron el etanol por microdestilación y realizaron cromatografía de gases para determinar su contenido. De los residuos de naranja obtuvieron 8.4 mg/g de etanol y de la piña 1,0 mg/g de etanol (TEJEDA et al., 2010).

CONESA, (2017), evaluó estrategias para obtener bioetanol a partir de residuos agroalimentarios de piña y caqui. Determinó que para sacarificar residuos de piña la enzima celulasa de *Aspergillus niger* actúa mejor que la de *Trichoderma reesei*, sobre todo si es combinada con hemicelulasa y que mejora el rendimiento del hidrólisis enzimática cuando se combina con microondas en un medio alcalino.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1: Materiales

Materiales de vidrio y otros:

Vasos de precipitado de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml., Probetas de 100, 250, 500 y 1000 ml., Fiolas de 50, 100 y 250ml., Buretas de 25 y 50 ml., Pipetas volumétricas de 2, 5 y 10 ml., Placas Petri, Recipientes pyrex, Recipientes de porcelana, Cuchillos de acero inoxidable, Lienzo de tela de nylon, Frascos de vidrio, Morteros, Papel filtro Whatman N° 1 y N° 4, papel pH indicador con escala, Pipetas volumétricas de 2, 5 y 10 ml., Embudos de vidrio, Cocinas eléctricas, Luna de reloj, Espátulas, Varilla de vidrio, Termómetro, Pro-pipetas, Tubos de ensayo de vidrio (1,5 x 16,0 cm), Soporte Universal con pinzas, Cronómetro, Picetas, Gradilla y otros.

Material biológico

Cáscaras de plátano, Enzima Celulasa fungal, Mostos de cáscaras de plátano hidrolizados por Celulasa

Reactivos

Agua potable, Agua destilada, Solución de yodo diluida (1:5), Hidróxido de sodio 0,1 y 1 N y al 1%, Indicador de azul de metileno al 1%, Reactivo de Benedict, Reactivo de Fehling A y Fehling B, Solución amortiguadora de Fosfato sódico, Solución de Fenolftaleína al 1%, Acetato de Plomo Neutro al 25%, Carbonato de Sodio anhidro, Solución de Ácido cítrico al 1% (p/v), Solución de Bicarbonato de sodio al 1% (p/v).

Equipos

Balanza de precisión, modelo DT-300A, balanza Analítica Adam, agitador magnético Fratrom, refractómetro 0 - 32% Brix RHB-32/ATC, alcoholímetro a 20°C, Equipo de

destilación simple, Medidor portátil de pH Hanna, Estufa, Incubadora, Autoclave, Refrigeradora.

Las fotos experimentales de los materiales y equipos utilizados se muestran en el en la Figura N°5.1, en el Apéndice de la página 75.

5.2: Población y muestra

Población

Durante la presente investigación, se utilizará como material biológico diez kilos de cáscara de plátano de seda obtenido de los frutos del plátano (*Musa paradisiaca* L) acopiada en puestos de jugos de frutas del pabellón de frutas y verduras, ubicados en el mercado de Lima y Callao que fueron tratadas por Hidrólisis química y enzimática.

Muestra

Muestra de 1000 ml de solución de cáscara de plátano tratado por hidrólisis enzimática con Granozyme Celulasa Fungal adquirida en la Empresa GRANOTEC al 3% (p/v) a una temperatura controlada de 50°C con 03 diferentes concentraciones en sólidos solubles (20, 23 y 25 Grados Brix) y 03 diferentes tiempos fermentación en Horas (72, 96 y 120 horas) para la obtención del etanol.

5.3. Técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos

Técnicas

La metodología seguida se basó en el conocimiento científico y tecnológico disponible. Para llevar a cabo el presente trabajo, el estudio se segmentará en tres etapas experimentales.

Se establecieron los métodos específicos para cada una de ellas, descritos a continuación:

Etapas 1:

- Pretratamiento físico-químico y estandarización de las cáscaras de plátano.
- Hidrólisis enzimática con Celulasa al 3% de la biomasa lignocelulósica de las cáscaras de plátano.

Etapas 2:

- Preparación y estandarización del microorganismo productor *Saccharomyces cerevisiae* (levadura liofilizada).
- Proceso fermentativo de las cáscaras de plátano por *Saccharomyces cerevisiae* (levadura liofilizada).

Etapas 3:

- Separación del etanol por destilación a partir del mosto alcohólico.
- Caracterización final del etanol: determinación del grado alcohólico y porcentaje de etanol.
- Interpretación de los resultados.

Métodos de análisis

Considerando que el presente estudio es una investigación aplicada de carácter experimental, se van a realizar los análisis en base a las normas técnicas ya establecidas tales como:

Se utilizaron los siguientes métodos de análisis:

1. Determinación de grado alcohólico. Tabla de Conversión de Gravedad Específica a °Baumé - °Brix - °Alcohol.
2. Determinación del porcentaje de etanol por alcoholimetría. (*Norma Peruana* ITINTEC 210.011. Bebidas alcohólicas).
3. Determinación de humedad. Método gravimétrico. NTP 209.264. 2001.
4. Determinación de la acidez (INDECOPI, NTP 203.070. 1977. Revisada el 2012; INDECOPI, NTP 211.040. 2012).

Procedimientos

Procedimiento Etapa Experimental 1: Tratamiento y Estandarización de las cáscaras de plátano

- Pretratamiento físico y estandarización de las cáscaras de plátano.
- Hidrólisis enzimática con celulasa al 3% de la biomasa lignocelulósica de las cáscaras de plátano.

El procedimiento desarrollado fue el siguiente:

a. Pretratamiento físico y estandarización de las cáscaras de plátano

- Es necesario que las cáscaras de plátano sean seleccionadas descartando aquellas que presentaban daño causado por insectos o presencia de enfermedades.
- Se procedió al pesado de la fruta entera de plátano y luego al pelado de la fruta y al pesado de las cáscaras de plátano.
- Las cáscaras de plátano luego de ser seleccionados, fueron sometidos a un proceso de trozado fino, con el fin de disminuir el tamaño de la materia prima y así tener una mayor área de contacto entre el sustrato, la levadura y los

reactivos químicos que se van a utilizar para facilitar la fermentación alcohólica que sigue el proceso.

- Luego las cáscaras fueron sometidos a un tratamiento térmico de secado en la estufa a 60°C por 24 horas.
- Este procedimiento también permitía la muerte o eliminación de la flora microbiana acompañante no deseable en las cáscaras de plátano y preservar de esta manera el sustrato en buenas condiciones para su posterior hidrolizado enzimático y fermentación y evitar la competencia microbiana por los nutrientes del medio.
- Posteriormente se procedió al tratamiento de molienda de las muestras secas para minimizar el tamaño y facilitar el desprendimiento de la lignina de la cáscara de plátano molidas.
- Se procedió a pesar las muestras secas molidas y guardarlas en frascos para su posterior utilización en la hidrolisis química de la lignocelulosa.
- Las muestras secas fueron sometidas a una hidrolisis térmica y química alcalina con NaOH al 0.75% a 90°C por 2 horas.
- Se realizaron tres enjuagues con agua destilada para neutralizar el pH de las muestras hidrolizadas químicamente.

Se muestran las fotos experimentales del proceso en la Figura N°5.2 y N°5.3 de las páginas 76 y 77 del Apéndice.

b. Procedimiento de la hidrólisis enzimática de las cáscaras de plátano por Celulasas

Luego del tratamiento y estandarización de las cáscaras de plátano que posteriormente se filtraron para realizar el método de hidrolisis enzimática con celulasa fungal (Gramozyme Celulasa) al 3% p/v empleando los mostos de las cáscaras de plátano (*Musa paradisiaca*).

El procedimiento de la hidrólisis enzimática (HE), fue el siguiente:

- Para los procesos de licuefacción y sacarificación se adaptaron frascos de 1000 ml como biorreactores, en los cuales se depositó 800 ml la solución de los mostos de las cáscaras de plátano (*Musa paradisiaca*).
- Se utilizó la enzima Gramozyme Celulasa (Granotec - Perú) de origen fúngico en polvo de color crema en concentraciones de 3.0 % (p/v) para obtener azúcares simples necesarios para la fermentación.
- Se colocaron las soluciones de celulasa en el agitador magnético Fratom durante 3 minutos para que se pueda homogeneizar completamente. Posteriormente se la añadió la solución enzimática a los frascos conteniendo los mostos licuados pre-tratados mecánica (TM), química (TQ) y térmicamente (TM).
- Se colocaron los frascos de los mostos preparados a partir de cáscaras de plátano en incubación a 50 °C y pH 5 (dentro del rango de temperatura y pH de actividad de la Celulasa de acuerdo a Juri (2011) y Talebnia et al., (2010).
- Se anotó el tiempo de inicio de hidrólisis enzimática registrando el cambio de los grados Brix de los mostos de las cáscaras de plátano. Se mantuvo la temperatura requerida para la actividad de la celulasa de 50°C en la incubadora en diferentes tiempos de incubación hasta alcanzar los niveles de grados Brix (°Bx) requeridos (20, 23 y 25 °Bx).
- Se midió el grado Brix inicial utilizando el refractómetro de 0-32% Brix RHB-32/ATC.
- Para la medida del nivel de pH inicial se utilizó el medidor portátil de pH Hanna.
- Luego de obtener los niveles de sólidos solubles (°Brix) evaluados en el estudio (20, 23 y 25 °Brix), se llevó a un tratamiento térmico a 85°C en baño maría por 10 minutos y poder inactivar la Celulasa y bloquear que continúe su actividad.
- Luego se procedió a filtrar los mostos hidrolizados. Se separó el sobrenadante y se midieron los niveles de pH y grados Brix de los mismos.

Las fotos experimentales del proceso de hidrólisis enzimática se muestran en la Figura N° 5.4 del Apéndice en la página 78.

Procedimiento de la Etapa Experimental 2

En esta etapa experimental se realizaron las siguientes actividades:

- Preparación y estandarización del microorganismo productor *Saccharomyces cerevisiae*
- Proceso fermentativo de las cáscaras de plátano por *Saccharomyces cerevisiae* (levadura liofilizada).

a. Preparación y activación de la levadura Saccharomyces cerevisiae.

En esta parte experimental para la preparación y estandarización de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se realizó la activación de la levadura seca instantánea Fleischmann y la preparación de la solución de nutritiva para lograr una mayor actividad metabólica fermentativa.

El procedimiento de la preparación y estandarización de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, fue el siguiente:

Activación de la levadura

- Para activarla se colocó 0.4 g de levadura en agua destilada con 3 g. de azúcar (como lo reportan Arimuya & Tecco 2014). Se utilizó levadura seca instantánea Fleischmann.
- Se homogenizo la mezcla en el agitador magnético Fratom por 5 minutos.
- Se cubrió la mezcla y se dejó en reposo por 15 a 20 minutos a temperatura de 30°C en la incubadora.

Preparación de la solución de Nutritiva

- Es necesario ayudar el proceso de fermentación añadiendo nutrientes adicionales para que la levadura pueda metabolizarlos junto con la glucosa.
- Para preparar la solución nutritiva, se utilizan los siguientes reactivos: 0,5 mg de Sulfato de magnesio $MgSO_4$, 2,5 mg de Fosfato de amonio $(NH_4)_2PO_4$, 0,5 mg de Sulfato de manganeso $MnSO_4$, 5mg de Sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$, y 2,5 mg de Sulfato de zinc $ZnSO_4$ y se disuelven en 20 ml de agua destilada (como lo reportan ARIMUYA & TECCO, 2014).
- Se diluye a 100 ml y se guarda para su posterior uso.

Las fotos experimentales del proceso de hidrólisis enzimática se muestran en la Figura N° 5.5 del Apéndice en la página 79.

b. Proceso fermentativo de los mostos hidrolizados de las cáscaras de plátano por *Saccharomyces cerevisiae*.

Se utilizó el material pretratado completo (MPC) de los mostos de las cáscaras de plátano de seda obtenido en la Etapa 1 para el proceso fermentativo (PF) por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* considerando tres diferentes niveles de sólidos solubles o grados Brix (20, 23 y 25) y se inició el ciclo de fermentación con la levadura en 3 tiempos de fermentación diferentes (72, 96 y 120 horas).

El procedimiento de la preparación y estandarización de la levadura fue el siguiente:

Inoculación de la levadura

- Para la fermentación se adicionó a los mostos con los grados Brix de estudio, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en proporción de 0.08g/100g (dato recomendado según ALBÁN & CARRASCO, 2012).

- Como fermentadores o biorreactores de tipo estático, se utilizaron frascos de borosilicato de 1000 ml capacidad, que fueron esterilizados previamente para impedir la presencia de otros microorganismos que podrían alterar el proceso fermentativo de la levadura.
- En los frascos, se añadió 850 ml de los mostos de cáscara de plátano con los 03 diferentes niveles de grados Brix (20, 23 y 25°Bx).
- El nivel de pH de los mostos fue regulado a 4.5 adicionando el reactivo ácido cítrico.
- En cada uno de los frascos con mosto de cáscara de plátano se inoculó la levadura 20 ml de la levadura activada de *Saccharomyces cerevisiae* y se añadió 5 ml de la solución nutritiva, para seguir a la fermentación, homogenizamos en el Agitador magnético Fratom.
- Se realizó el control de grados Brix y pH de los mostos fermentados en cada tratamiento de estudio.

Las fotos experimentales del proceso fermentativo de los mostos hidrolizados de las cáscaras de plátano por *Saccharomyces cerevisiae* se muestran en la Figura N° 5.6 y N° 5.7 del apéndice en las páginas 80 y 81.

Procedimiento de la Etapa Experimental 3: Separación y caracterización del etanol

En esta etapa experimental se realizaron las siguientes actividades:

- Separación del etanol por destilación a partir del mosto alcohólico.
- Caracterización final del etanol: determinación del grado alcohólico y porcentaje de etanol.

a. Separación del etanol por destilación a partir del mosto alcohólico.

En los mostos alcohólicos obtenidos en la etapa 2, se hizo la conversión de los datos de Grados Brix ($^{\circ}\text{Brix}$) a Grado Alcohólico (GA) utilizando la Tabla de Conversión de Gravedad Específica a $^{\circ}\text{Baumé}$ ($^{\circ}\text{Be}$) - $^{\circ}\text{Brix}$ ($^{\circ}\text{Bx}$) - $^{\circ}\text{Alcohol}$ (GA) donde ($^{\circ}\text{Be} \times 1,8 = ^{\circ}\text{Brix}$). (de acuerdo a AMERINE & OUGH, 2001).

Se realizó de la siguiente manera:

- En los mostos alcohólicos (fermentados) antes de ser destilados se realizó un segundo filtrado para reducir dificultades en el equipo de destilación.
- Los mostos alcohólicos filtrados se destilaron aproximadamente por a una temperatura de 80 a 90°C para aislar el etanol de las distintas sustancias en el mosto.
- El alcohol obtenido de la destilación fue incoloro y libre de impurezas
- Al final, el volumen destilado fue medido volumétricamente y se guardó en botellas de vidrio para su análisis con el alcoholímetro, con la finalidad cuantificar la cantidad de etanol.

b. Caracterización final del etanol:

Se realizó de la siguiente manera:

- Se realizó la determinación del grado alcohólico del mosto alcohólico sin destilar.
- Se cuantificó el etanol destilado por alcoholimetría. (ITINTEC 210.011).
- Se determinó el contenido del alcohol destilado en porcentaje de etanol (% Et) en cada tratamiento utilizando el Alcoholímetro a 20°C.
- También se determinó la acidez titulable de etanol destilado

Las fotos experimentales de la Separación y caracterización del etanol obtenido se muestran en la Figuras N° 5.8 y 5.9 del Apéndice en las páginas 87 y 88.

5.4: Técnicas de análisis o los métodos estadísticos aplicados

Los datos resultantes serán procesados mediante diferentes análisis estadísticos, con el fin de observar el nivel de significancia de las variaciones de las concentraciones en sólidos solubles (°Brix) y tiempos fermentación (Horas) sobre la caracterización final del etanol de acuerdo a la determinación del grado alcohólico, porcentaje de etanol y porcentaje de rendimiento de etanol.

Los resultados obtenidos se analizarán con el programa estadístico SPSS, empleándose el diseño factorial, 3 x 2 con 3 repeticiones, así como la prueba de análisis de varianza (ANVA) y prueba de Duncan, para determinar si existe un efecto significativo ($p < 0,05$) en los diferentes tratamientos.

5.5: Metodología de investigación básica

Este ítem no corresponde considerando que el presente estudio, es una investigación aplicada de carácter experimental y ya se explicó detalladamente la metodología aplicada anteriormente.

VI. RESULTADOS

6.1: Características de la Cáscara de Plátano

Para elaborar jarabes glucosados a partir de cáscara de plátano de seda (*Musa paradisiaca*) se requiere utilizar cáscaras previamente seleccionadas descartando aquellas que presentaban daño causado por insectos, hongos o presencia de enfermedades para obtener mejores resultados en el proceso de hidrólisis enzimática.

En la Tabla 6.1 se muestran los balances de materia en la obtención de jarabes glucosados de cáscaras de plátano a partir de 10 kilogramos de cáscaras que se utilizaron en el presente estudio. Las fotos experimentales se muestran en la Figura N° 6.1 y 6.2 del Apéndice en las páginas 84 y 85.

TABLA N°6.1:
BALANCES DE MATERIA EN LA OBTENCIÓN DE ETANOL
DE CÁSCARA DE PLÁTANO.

Característica evaluada cáscara de plátano	Valor
Peso de la cáscara (Kg.)	10.00
Humedad (%)	72.84
Acidez Titulable (%)	0.9
pH	5.7

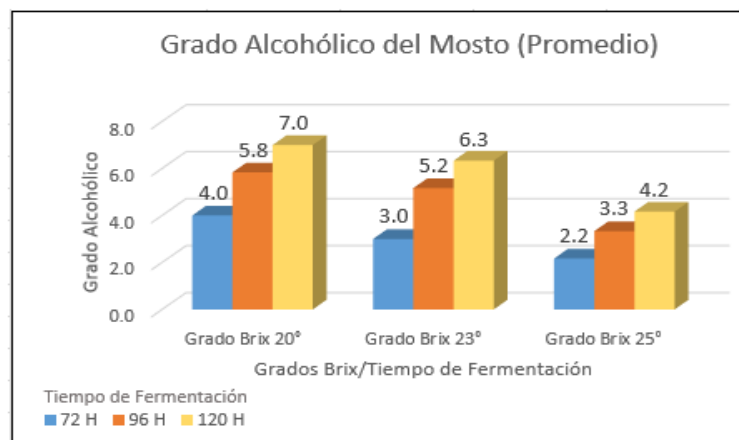
Fuente: Elaboración propia.

6.2: Relación entre los sólidos solubles y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con los grados alcohólicos

De acuerdo a los sólidos solubles iniciales (20, 23 y 25 °Brix) y los tiempos de fermentación (TFER: 72, 96 y 120 horas), se observó que conforme disminuía los sólidos solubles (Grados Brix), iba aumentando en forma creciente los grados alcohólicos de los mostos en diferentes niveles. (Grafico N°6.1).

GRAFICO N°6.1.

RELACIÓN ENTRE LOS SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN CON EL GRADO ALCOHÓLICO (GA) DE LOS MOSTOS OBTENIDOS DE CÁSCARA DE PLÁTANO EN CADA TRATAMIENTO



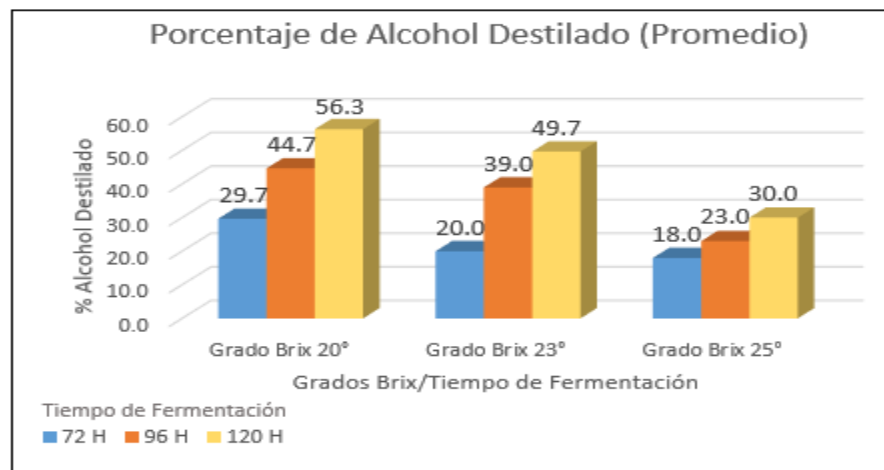
Fuente: De acuerdo a los datos observados.

En la Tabla N° 6.2 de la página 86 de los apéndices, se muestra los resultados de la relación entre los grados Brix y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con los grados alcohólicos obtenidos en cada tratamiento.

6.2: Relación entre los sólidos solubles y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de etanol

En todos los tratamientos el mayor porcentaje de etanol (% Et) ocurrió a las 120 horas de fermentación, siendo el mosto de 20 °Brix el que presentó el mayor valor promedio con 56.3 % de etanol, mientras que en los tratamientos de 23 °Brix y 25 °Brix se obtuvieron valores menores con 49.7 y 30.0 % de etanol a las 120 horas de la fermentación (Gráfico N°6.2).

GRÁFICO N°6.2.
RELACIÓN ENTRE LOS SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN (TFER) CON EL PORCENTAJE DE ETANOL DESTILADO OBTENIDO DE LA CÁSCARA DE PIÑA EN CADA TRATAMIENTO.



Fuente: De acuerdo a los datos observados.

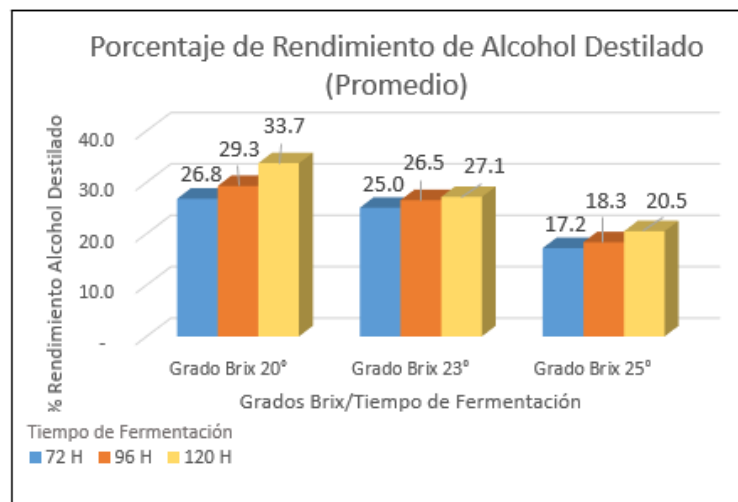
En la Tabla N° 6.3 de la página 87 de los apéndices, se muestra los resultados de la relación entre los grados brix y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de etanol obtenidos en cada tratamiento.

6.3: Relación entre los sólidos solubles y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de rendimiento de etanol

Se obtuvo el mayor porcentaje de rendimiento de etanol destilado entre las 96 y 120 horas de la fermentación siendo nuevamente el mosto de 20°Brix inicial el que presentó un mayor porcentaje de rendimiento de etanol (%REt) llegando a su nivel más alto de 33.7% a las 120 horas, mientras que los tratamientos de 23 y 25 °Brix registraron menores valores de porcentaje de rendimiento de obtención de etanol (%REt) llegando a porcentajes promedio máximos de 27.1 y 20.5 (%REt) respectivamente a las 120 horas de la fermentación. (Gráfico N°6.3 y Tabla N°6.3 del apéndice de la página 87).

GRÁFICO N°6.3.

PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ALCOHOL DESTILADO



Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla N° 6.4 de la página 88 de los apéndices, se muestra los resultados de la relación entre los grados brix y tiempos de fermentación de los mostos de cáscara de plátano con el porcentaje de rendimiento de etanol obtenidos en cada tratamiento.

VII. DISCUSION

7.1: Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al grado alcohólico obtenido de cascara de plátano

Esto se comprueba al analizar estadísticamente los efectos del nivel de los sólidos solubles (20, 23 y 25°Brix) y el Tiempo de fermentación (72, 96 y 120 horas) sobre el grado alcohólico mediante el análisis de varianza de la relación entre el grado Brix y el tiempo de fermentación con el grado alcohólico obtenido de cascara de plátano (Tabla N°7.1).

TABLA N° 7.1.
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA RELACIÓN ENTRE EL GRADO BRUX Y EL TIEMPO DE FERMENTACION CON EL GRADO ALCOHOLICO OBTENIDO DE CASCARA DE PLATANO

<i>RESUMEN</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Grado Brix 20°	3	16.8	5.6	2.3
Grado Brix 23°	3	14.5	4.8	2.9
Grado Brix 25°	3	9.7	3.2	1.0
T. Fermentación 72 H	3	9.2	3.1	0.8
T. Fermentación 90 H	3	14.3	4.8	1.7
T. Fermentación 120 H	3	17.5	5.8	2.2

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Grado Brix	8.91	2.00	4.45	34.36	0.00	6.94
Tiempo de Fermentación	11.80	2.00	5.90	45.50	0.00	6.94
Error	0.52	4.00	0.13			
Total	21.22	8.00				

Criterio estadístico: 95% de confianza

Fuente: Elaboración propia.

Existieron diferencias significativas entre los Sólidos solubles (Grados Brix) utilizados y los tiempos de fermentación del mosto versus el grado alcohólico etanol.

7.2: Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al porcentaje de etanol obtenido de cascara de plátano

Esto se comprueba al analizar estadísticamente los efectos del nivel de los sólidos solubles (20, 23 y 25°Brix) y el Tiempo de fermentación (72, 96 y 120 horas) sobre el porcentaje de etanol mediante el análisis de varianza de la relación entre el grado Brix y el tiempo de fermentación con el porcentaje de etanol obtenido de cascara de plátano (Tabla N°7.2).

Existieron diferencias significativas entre los Sólidos solubles (Grados Brix) evaluados y los tiempos de fermentación del mosto versus el porcentaje de etanol.

TABLA N° 7.2
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA RELACIÓN ENTRE EL GRADO BRIX Y EL TIEMPO DE FERMENTACION CON EL PORCENTAJE DE ETANOL OBTENIDO DE CASCARA DE PLATANO

<i>RESUMEN</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Grado Brix 20°	3	130.7	43.6	178.7
Grado Brix 23°	3	108.7	36.2	225.8
Grado Brix 25°	3	71.0	23.7	36.3
T. Fermentación 72 H	3	67.7	22.6	38.9
T. Fermentación 90 H	3	106.7	35.6	126.3
T. Fermentación 120 H	3	136.0	45.3	187.4

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Grado Brix	606.99	2.00	303.49	12.35	0.02	6.94
Tiempo de Fermentación	783.43	2.00	391.72	15.94	0.01	6.94
Error	98.27	4.00	24.57			
Total	1488.69	8.00				

Criterio estadístico: 95% de confianza

Fuente: Elaboración propia.

7.3: Comparación de los sólidos solubles y el Tiempo de fermentación con respecto al porcentaje de rendimiento de etanol obtenido de cascara de plátano

Esto se comprueba al analizar estadísticamente los efectos del nivel de los sólidos solubles (20, 23 y 25°Brix) y el Tiempo de fermentación (72, 96 y 120 horas) sobre el porcentaje de rendimiento de etanol mediante el análisis de varianza de la relación entre el grado Brix y el tiempo de fermentación con el porcentaje de rendimiento de etanol obtenido de cascara de plátano.

Existieron diferencias significativas entre los Sólidos solubles (Grados Brix) utilizados y los tiempos de fermentación del mosto versus el porcentaje de rendimiento de etanol. (Tabla N° 7.3).

TABLA N° 7.3
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA RELACIÓN ENTRE EL GRADO BRUX Y EL TIEMPO DE FERMENTACION CON EL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE ETANOL DE CASCARA DE PLATANO

<i>RESUMEN</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Grado Brix 20°	3	89.8	29.9	12.2
Grado Brix 23°	3	78.7	26.2	1.2
Grado Brix 25°	3	56.0	18.7	2.8
T. Fermentación 72 H	3	69.0	23.0	26.2
T. Fermentación 90 H	3	74.1	24.7	32.4
T. Fermentación 120 H	3	81.3	27.1	43.8

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Grado Brix	198.01	2.00	99.01	56.94	0.00	6.94
Tiempo de Fermentación	25.40	2.00	12.70	7.30	0.05	6.94
Error	6.95	4.00	1.74			
Total	230.37	8.00				

Criterio estadístico: 95% de confianza

Fuente: Elaboración propia.

7.4: Contrastación de la hipótesis de acuerdo a los análisis estadísticos

Hipótesis

Hipótesis General

- La aplicación del proceso de transformación de la biomasa lignocelulósica de cáscaras de plátano por fermentación de *Saccharomyces cerevisiae*, permitirá obtener etanol evaluando los Sólidos solubles (Grados Brix) y el tiempo de fermentación del mosto.

Hipótesis Específicas

Hipótesis Especifica 1:

El contenido de sólidos solubles del mosto de la biomasa lignocelulósica cáscaras de plátano influye en la producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*.

Hipótesis Especifica 2:

El tiempo de fermentación del mosto de la biomasa lignocelulósica cáscaras de plátano influye en la producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*.

a. Contrastación de la Hipótesis General

SE ACEPTA las Hipótesis general debido a que:

- Para la variable dependiente del grado alcohólico, existieron diferencias significativas para los sólidos solubles (°Brix) y los tiempos de fermentación versus los grados alcohólicos del mosto sin destilar, (se acepta la hipótesis General).

- Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado los análisis demostraron que existieron diferencias estadísticas significativas para los sólidos solubles (°Brix) y los tiempos de fermentación versus el porcentaje de alcohol destilado.
- Para la variable dependiente del porcentaje de rendimiento de etanol destilado los análisis demostraron que existieron diferencias estadísticas significativas para los sólidos solubles (°Brix) y los tiempos de fermentación versus el porcentaje de alcohol destilado.
- El nivel de 20°Brix fue en el que se produjo un aumento mayor de grado alcohólico, % etanol destilado y % rendimiento del etanol a las 120 h de fermentación. (Tabla N° 7,.1, 7.2 y 7.3)

b. Contrastación de la Hipótesis Especifica 1

SE ACEPTA la Hipótesis específica 1 debido a que:

- Para la variable dependiente del grado alcohólico, respecto a los sólidos solubles (°Brix) a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observó que para los grados Brix de 20, 23 y 25°Brix a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.00 < 0.05$), en el grado de alcohol obtenido.
- Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado respecto a los sólidos solubles (°Brix) a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) en todos los tratamientos de solidos solubles iniciales existieron diferencias significativas ($0.02 < 0.05$) en el porcentaje de alcohol destilado obtenido.

- Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado respecto a los sólidos solubles (°Brix) a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) en todos los tratamientos de sólidos solubles iniciales existieron diferencias significativas ($0.00 < 0.05$) en el porcentaje de rendimiento de alcohol destilado obtenido.

c. Contrastación de la Hipótesis Específica 2

SE ACEPTA la Hipótesis específica 2 debido a que:

- Para la variable dependiente del grado alcohólico, respecto a los tiempos de fermentación a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observa que, para los tiempos de fermentación de 72, 96 y 120 horas a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.00 < 0.05$), en el grado de alcohol obtenido.
- Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado, respecto a los tiempos de fermentación a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observa que, para los tiempos de fermentación de 72, 96 y 120 horas a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.01 < 0.05$), en el porcentaje de etanol obtenido.
- Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado, respecto a los tiempos de fermentación a una significación del 0.05 se observa que, para los tiempos de fermentación de 72, 96 y 120 horas a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas a nivel de 0.05 (máximo valor aceptable de error), en el porcentaje de rendimiento de etanol obtenido.

Discusión General

Se pudo aprovechar un recurso nacional que ha sido subutilizado como la cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*). Se obtuvo etanol a partir de cáscara de plátano de seda por la hidrólisis enzimática por la celulasa fúngica y su posterior fermentación por la levadura. El pretratamiento mecánico (TM) y térmico (ACL) de las cáscaras de plátano contribuyó a la solubilización de la lignina para una mayor disponibilidad de la celulosa para la hidrólisis de la celulasa fúngica y obtener azúcares fermentables. Al respecto, Han et al., (2011), informan que las cáscaras están constituidas principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, las cuales la hacen no comestibles para los humanos, pero potencialmente aprovechables para obtener otros productos de valor agregado.

Al respecto, Conesa (2017), evaluó estrategias diversas para incrementar la obtención de bioetanol y confrontó tecnologías para mejorar el rendimiento utilizando enzimas para hidrolizar los residuos de piña. Determinó que para sacarificar residuos de piña la enzima celulasa de *Aspergillus niger* actúa mejor que la de *Trichoderma reesei*, sobre todo si es combinada con hemicelulasa. Indican que el rendimiento del hidrólisis enzimática para la sacarificación es mejor si se combina con microondas en un medio alcalino.

Para elaborar etanol a partir de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*), se requiere seleccionar previamente las cáscaras descartando aquellas que presentaban daño causado por insectos o pudrición para obtener resultados confiables al realizar las pruebas de hidrólisis enzimática y su posterior fermentación y destilación de los componentes lignocelulosicos hidrolizados de las cáscaras.

Para la obtención de etanol a partir de cáscaras de plátano de seda es muy importante un tratamiento previo físico y químico de las cáscaras lo que concuerda

con diferentes investigadores como MEDINA et al., (2011), que manifiestan que para poder procesar adecuadamente los materiales lignocelulósicos es necesario someterlos a pretratamientos para poder favorecer la hidrólisis de la celulosa para generar azúcares fermentables mediante el uso de celulasas. En este punto, KUMAR et al., (2010), informan que la lignocelulosa es altamente resistente a su hidrólisis, ya que el conjunto de celulosa, hemicelulosa y lignina, están unidos entre sí por enlaces covalentes, diversos puentes intermoleculares y fuerzas de van der Waals. Según HU & WEN, (2008), el fin de someter a pretratamientos al material vegetal es facilitar la hidrólisis principalmente de la celulosa ya que la conformación natural, llamada cristalina, es muy resistente a su hidrólisis. Los pretratamientos promueven la generación de regiones amorfas en la celulosa las cuales son más susceptibles a hidrólisis.

De acuerdo a BOHORQUÉZ & HERRERA (2005), durante el pretratamiento el sustrato lignocelulósico aumenta la digestibilidad con el incremento de la porosidad permitiendo la accesibilidad de las celulasas a la celulosa. Esto concuerda con HAN et al., (2011), quienes mencionan que la conversión de biomasa lignocelulósica a otros productos es un proceso complejo debido a la estructura química de la pared celular de este material vegetal, por lo tanto, es necesario implementar un tratamiento previo el cual permita pasar de un complejo celulósico a azúcares fermentables que contengan principalmente glucosa. Por otro lado, PALMOWSKI & MUELLER, (1999), informan que existen diversos procesos para llegar al mismo fin, donde el proceso va desde un tratamiento mecánico, como la reducción de tamaño de partícula para aumentar el área de superficie de hidrólisis y disminuir el grado de polimerización de los compuestos.

Se realizaban los controles de la fermentación alcohólica cada 24 horas, pero es recomendable un control más exhaustivo para poder tener información más precisa en los tratamientos a estudiar y poder establecer el tiempo que se necesita para el

proceso fermentativo lo que concuerda con Montilla & ÁLVAREZ (2007) que indican que se necesita especificar el tiempo de fermentación del mosto para que no se acidifique y se convierta en vinagre.

Para nuevos estudios se aconseja experimentar a nivel de laboratorio modificando la proporción de diferentes subproductos o residuos de un proceso industrial que se utilicen como sustratos y poder determinar que residuos ricos en azúcares pueden aumentar o disminuir la obtención de etanol.

Deben realizarse investigaciones comparando la producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* y de otros microorganismos con capacidad metabólica fermentadora como *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Candida*, *Zimomonas*, *mucor*, *Asperguillus*, etc., para determinar los más eficientes y profundizar los conocimientos del metabolismo alcohólico y realizar la curva de desarrollo levaduras o cepas utilizadas, para determinar exactamente su fase de crecimiento, y así establecer cuando inocular el microorganismo antes de la fermentación así como el tiempo global del proceso. (MARTÍNEZ T. J., 2002).

Esto concuerda con TOMAS (2010) quien aconseja continuar con investigaciones de obtención de cepas recombinantes resistentes a inhibidores formados en el pretratamiento que tengan mejor capacidad de fermentación (TOMAS, 2010). A su vez, TALEBNIA, et al., (2010), señalan que algunas bacterias recombinantes y levaduras han mostrado resultados prometedores y están siendo consideradas para escalar comercialmente. Zuzuarregui (2005), señala que los microorganismos empleados para obtener etanol deben ser tolerantes al etanol, a temperaturas y concentraciones de azúcar altas, tener buen rendimiento alcohólico, fermentación eficiente y buena productividad.

También se debe investigar sobre microorganismos que puedan hidrolizar los componentes lignocelulosicos de las cascaras de plátano y a la vez que tengan capacidad fermentativa para obtener etanol por hidrolisis y fermentación simultaneas que permitan mayores rendimientos y productividades en la obtención de etanol. Tanto la piña como otros productos agrícolas, generan grandes cantidades de desecho por lo que es recomendable el desarrollo de nuevas alternativas ecológicas para reutilizar material que al momento solo contamina y que genera una problemática ambiental. Al respecto CUERVO et al., (2009), indican que para obtener etanol a partir de lignocelulosa existen estrategias utilizando enzimas celulolíticas y levaduras fermentadoras para lograr un proceso para sacarificar y fermentar a la vez y poder alcanzar buenos rendimientos de etanol.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos según las hipótesis planteadas se tienen las siguientes conclusiones:

1. Para la variable dependiente del grado alcohólico, existieron diferencias significativas para los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) y los tiempos de fermentación versus los grados alcohólicos del mosto sin destilar, (se acepta la hipótesis General).
2. Para la variable dependiente del grado alcohólico, respecto a los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observó que para los grados Brix de 20, 23 y 25 $^{\circ}$ Brix a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.00 < 0.05$), en el grado de alcohol obtenido (se acepta la hipótesis específica 1).
3. Para la variable dependiente del grado alcohólico, respecto a los tiempos de fermentación a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observa que, para los tiempos de fermentación de 72, 96 y 120 horas a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.00 < 0.05$), en el grado de alcohol obtenido (se acepta la hipótesis específica 2).
4. El nivel de sólidos solubles inicial de 20 $^{\circ}$ Brix fue en el que se produjo un aumento mayor de grado alcohólico alcanzando su nivel más elevado (7.0 $^{\circ}$ A) a las 120 horas de fermentación, mientras que los tratamientos de 23 y 25 grados brix registraron valores de grados alcohólicos menores llegando a niveles promedio máximos de 6.3 y 4.2 $^{\circ}$ A respectivamente a las 120 horas de la fermentación.
5. Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado los análisis demostraron que existieron diferencias estadísticas significativas para los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) y los tiempos de fermentación versus el porcentaje de alcohol destilado, (se acepta la hipótesis General).
6. Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado respecto a los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) en

todos los tratamientos de sólidos solubles iniciales existieron diferencias significativas ($0.02 < 0.05$) en el porcentaje de alcohol destilado obtenido. (se acepta la hipótesis específica 1).

7. Para la variable dependiente del porcentaje de etanol destilado, respecto a los tiempos de fermentación a una significación del 0.05 (máximo valor aceptable de error) se observa que, para los tiempos de fermentación de 72, 96 y 120 horas a los cuales es sometido el producto existe diferencias significativas ($0.01 < 0.05$), en el grado de alcohol obtenido (se acepta la hipótesis específica 2).
8. El mosto de cáscara de plátano de 20°Brix fue con el que se obtuvo un mayor porcentaje de etanol destilado alcanzando su nivel mayor (56.3%) en las 120 horas de tiempo de fermentación, mientras que los tratamientos de 23 y 25°Bx registraron valores de porcentaje de etanol menores llegando a niveles promedio máximos de 49.7% y 30.0% respectivamente a las 120 horas de la fermentación.
9. Aunque la cáscara de plátano presenta buen potencial de azúcares fermentables, los porcentajes de rendimiento de etanol destilado no fueron tan altos como se esperaba posiblemente porque las condiciones de trabajo fueron poco favorecedoras para su conversión en etanol, por lo que se plantea investigar otras condiciones de tratamiento para la cáscara de plátano.
10. El alcohol obtenido de la destilación fue incoloro y libre de impurezas.
11. Las fases del proceso deben controlarse para que los resultados sean más eficientes en cuanto al nivel de grados Brix y tiempos de fermentación.
12. Es factible obtener etanol utilizando cáscara de plátano, pero se necesita investigar las condiciones óptimas de cada etapa para llevar a cabo esta técnica a escala de planta piloto y nivel industrial con los residuos que resultan del proceso de elaboración de productos a partir de plátano.
13. Se pretende que los resultados presentados en este trabajo sirvan como un punto de partida general hacia estudios más detallados que determinen la factibilidad de utilizar cascaras de plátano para obtener bioetanol en el futuro.

RECOMENDACIONES

- Es muy importante que todas las fases del proceso puedan ser controladas, para que los resultados sean más eficientes en cuanto a la hidrólisis enzimática por Celulasas y el proceso fermentativo.
- Hacer un análisis de los costos de producción de etanol para definir la viabilidad o no del uso de enzimas celulasas y el proceso fermentativo.
- Se deben estudiar más las características de los subproductos del procesamiento de cáscara de plátano y determinar si se puede dar algún uso a los mismos.

VIII. REFERENCIALES

- ACOSTA ROMERO, Carolina. “Evaluación de la Fermentación Alcohólica para la Producción de Hidromiel”. Tesis grado de Magister. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Bogotá, 2012.
- ALBÁN GARCÍA, Carlos y CARRASCO ORDONÉZ, Jofre. “Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada, evaluando dos niveles de levadura utilizando como sustrato Papa China (*Colocasia esculenta*) y Camote (*Ipomoea batatas* L)”. Tesis Título Ingenieros Agroindustriales. Universidad Estatal de Bolívar, Ecuador, 2012.
- AMERINE M.A. & OUGH C.S. Análisis de vinos y mostos. Zaragoza: Editorial Acribia, 2001. 158 pp.
- ANGULO, VALENCIA, Alexandra. Efectividad de microorganismos nativos en relación a *Aspergillus niger*, *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 y *Zymomonas Mobilis* para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía *Citrullus lanatus* a escala piloto. *Escuela Politécnica del Ejército*, 40-45; 63. 2010.
- APARICIO SGUILAN, Alejandro. “Obtención de almidón resistente por tratamiento en autoclave a partir de almidón de plátano modificado: caracterización fisicoquímica, morfológica y estructural”. Tesis Doctoral en Ciencias en desarrollo de productos bióticos. Instituto Politécnico Nacional, México, 2007.
- ARAWANDE, Jacob y KOMOLAFE, Eniayo. Antioxidative Potentials of Banana and Plantain Peel Extracts on Crude. *Ethnobotanical Leaflets* (14): 559-569. 2010.
- ARELLANO PERALES Carla. “Obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulosicos sometidos a hidrolisis enzimática”. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, México, 2015.
- ARGOTE. Francisco., CUERVO, Raúl., OSORIO, Esteban., DELGADO, Johannes y VILLADA Hector. Evaluación de la producción de etanol a partir de melaza con cepas nativas *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13 (2): 40-48. Julio - Diciembre 2015. DOI:10.18684/BSAA(13)40-48.

ARIMUYA MANAMU, Sandro y TECCO Pisco, Edwin. “Obtención de etanol a partir del residuo lignocelulósico cervecero de la cervecería amazónica”. Tesis Título Ingeniero Químico. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Iquitos, 2014. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3648>. 2014.

ARVANITOYANNIS, Ioannis y MAVROMATIS, Athanacios. Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 49(2):113-135, 2009. <https://doi.org/10.1080/10408390701764344>.

BELLIDO DIEZ, Carolina. “Obtención de bioetanol 2G a partir de hidrolizados de paja de trigo. Fermentación de los penta y hexa carbohidratos con *Pichia Stipitis*”. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Escuela de Ingenierías Industriales, España, 2013. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/4556/1/TEISIS501-140301.pdf>.

BELTRAN, Gemma, et al. “Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six-year follow-up study”. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(2): 287-293, 2002. Disponible en: <http://dx.Doi: 10.1078/0723-2020-00097>.

BLASCO, Gabriela y GÓMEZ, Francisco. “Propiedades funcionales del plátano (*Musa sp*)”. *Rev Med UV*, Julio - diciembre 2014, p 22-26.

BOHÓRQUEZ, Cristian y HERRERA, Sara. “Determinación de las mejores condiciones de hidrólisis del banano verde de rechazo”. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2005.

BONSAK ARCE, Álvaro. “Modulación de la respuesta autoinmune experimental por savia de *Musa paradisiaca* (SMp)”. Tesis de Licenciatura en Bioquímica. Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia, 2006.

CASP, Ana y ABRIL, José. *Procesos de Conservación de Alimentos*. 2.ª ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2003. 493 pp. ISBN 848476169X.

CARRASCOSA, Alfonso., MUÑOZ, Rosario y GONZÁLEZ, Ramón. *Microbiología del vino*. España: Editorial AMV, Ediciones, 2005. 398 p. ISBN: 9788487440069.

CLAASSEN, Pieter et al. Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(6): 741-755, 1999. <https://doi.org/10.1007/s002530051586>

CONESA, Claudia. “Desarrollos tecnológicos para la mejora y control del proceso de obtención de bioetanol a partir de residuos agroalimentarios”. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de Valencia, España, 2017.

CUERVO, Laura, FOLCH, Jorge y QUIROZ, Rosa. Lignocelulosa como fuente de azúcares para la Producción de Etanol. Centro de investigación en Biotecnología UAEM, México. *BioTecnología*, 13 (3): 11-25. 2009. Disponible en:

http://www.academia.edu/26149126/Lignocelulosa_Como_Fuente_de_Az%C3%BAcares_Para_la_Producci%C3%B3n_de_Etanol

EMAGA, Thomas et al. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry*. 103(2): 590-600, diciembre 2007. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.09.006.

ESCALANTE CALDERÓN, Junneyder y FUENTES AQUIJE, Hilda. “Estudio experimental de obtención de bioetanol a partir de residuos agrícolas de banano orgánico en Piura”. Tesis Ingeniero Industrial y de Sistemas. Universidad de Piura, Perú, 2013.

FAJARDO CASTILLO, Erika y SARMIENTO FORERO, Sandra. “Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyce cerevisiae*”. Tesis. Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana de Colombia, Colombia, 2008.

FAO. (Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production. Faostat. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/>. Consultada el 18 de junio de 2018).

FERNÁNDEZ Aldo. et al. Determinación del grado de conversión global del jugo de piña en etanol por medio de la fermentación alcohólica. *Revista tecnológica* (7): 49-57. 2014.

FINGOLO, Catharina et al. The natural impact of banana inflorescences (*Musa acuminata*) on human nutrition. *An Acad Bras Cienc.* 84: 891-898. December 2012. ISSN 0001-3765. DOI: 10.1590/s0001-37652012005000067.

FRAZIER. William y WESTHOFF Dennis. Microbiología de los alimentos. 2.a reimp. Zaragoza. Editorial Acribia, 2000. 681 pp. ISBN: 84842000734X, 9788420007342.

GARCÍA, Pilar., BRETÓN, Irene., DE LA CUERDA, Compes y CAMBLOR, Miguel. Apuntes sobre la fibra. Barcelona: Editorial Novartis Medical Nutrition. 2003. 26 pp.

GARZÓN CASTAÑO Sandra y HERNÁNDEZ LONDOÑO, Catalina. “Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces cerevisiae* silvestre. *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 y *Candida utilis* ATCC 9950”. Tesis Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia, 2009.

GONZÁLEZ, Rafaela, LOBO, Gloria y GONZÁLEZ Mónica. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry.* 119(3): 1030-39, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.08.012.

GONZÁLES LÁZARO, Miriam. “Caracterización bioquímica y biotecnología de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* GL15”. Tesis Máster. Universidad de la Rioja, España, 2014.

GRANOTEC. Certificado de análisis. Gramozyme Celulasa. Perú. 2018.

GRANOTEC. Ficha Técnica enzima Gramozyme Celulasa. 2018.

HAN, Minhee et al. Bioethanol production from optimized pretreatment of cassava stem. *Korean J. Chem. Eng., January,* 28(1): 119-125. 2011. <https://doi.org/10.1007/s11814-010-0330-4>

HERNÁNDEZ Luz y Vit Patricia. El plátano: Un cultivo tradicional con importancia nutricional. *Revista Del Colegio de Farmaceúticos Del Estado Mérida.* II (13): 11-14. 2009.

HERNÁNDEZ DUARTE, Sandra y MARTÍNEZ TORRES. Carlos. “Obtención de etanol por vía fermentativa a partir de cáscaras de *Ananas comosus* (piña) evaluando dos de sus principales variables (pH y grados Brix) usando como microorganismo

productor *Saccharomyces cerevisiae*”. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador, El Salvador, 2012.

HERNÁNDEZ, Gerardo, SANTAMARÍA, Arturo y RUBIO, Miguel. Aprovechamiento concientizado de los residuos como materia prima para el diseño de nuevos productos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. Vol. 2(5), 71-81. 2015. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/58281>.

HU, Zhenhu y WEN, Zhiyou. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*. 38(3): 369-378. 2008. ISSN: 1369-703X. Doi: 10.1016/J.BEJ.2007.08.001.

INDECOPI, NTP 203.070. 1977. (Revisada el 2012). Productos elaborados a partir de frutas y otros vegetales. Determinación de Acidez. 1977.

INDECOPI. NTP 209.264. 2001. Determinación de Humedad. Método gravimétrico. 1ª Edición. 2001.

INDECOPI, NTP 211.040. 2012. Bebidas alcohólicas. Método de ensayo. Determinación de Acidez. 2012.

JURIAWAD, Sebastián. “Sacarificación y fermentación simultánea para la producción de bioetanol de segunda generación, mediante pretratamientos alternativos: líquidos iónicos reciclados y hongos de pudrición blanca”. Tesis de Ingeniero Civil en Biotecnología. Universidad de Chile, Chile, 2011.

KROGH, Kristian et al. Screening genus *Penicillium* for producers of cellulolytic and xylanolytic enzymes. *Appl Biochem Biotechnol*. 114: 389-401, 2004. Doi:10.1385/ABAD:114:1-3:3:389.

KUDAN M. Encyclopedia of fruits, vegetables, nuts and seeds for healthful living, Hattiesburg Maryland: Parker Publishers Inc. 1975. 215 pp. ISBN-10: 0132754126.

KUMAR, Sandeep et al. Cellulose pretreatment in subcritical water: Effect of temperature on molecular structure and enzymatic reactivity. *Bioresource Technology*. 101: 1337-1347. 2010. Doi:10.1016/j.biortech.2009.09.035.

KUMAR Sampath et al. Traditional and Medicinal Uses of Banana. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(3): 51-63, 2012. ISSN 2278- 4136

LISCANO MARTÍNEZ, Yamil. “Producción de bioetanol a partir de tallos de yuca”. Tesis Magister. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2014.

LYND, Lee et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 66: 506-577, 2002. Doi: 10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002.

MADIGAN, Michael y MARTINKO, John. Brock. Biología de los Microorganismos. 12a. Ed. Madrid: Pearson. 2009. 1200 pp. ISBN: 9788490352793.

MATEUS FONTECHA, Lady. “Evaluación de los pretratamientos con ácido sulfúrico diluido y AFEX en la biomasa lignocelulósica del tipo pasto gigante Pennisetum sp.” Tesis Magister Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2011.

Disponible en; <http://bdigital.unal.edu.co/4237/1/LadyMateusFontecha.2011.pdf>.

MATHEWS, Christopher., VAN HOLDE, Kensal y AHERN, Kevin. Bioquímica. Tercera Edición. España: Editorial Pearson, 2004. 1335 pp. ISBN:0-8053-3066-6.

MCKEE, Trudy y MCKEE, James. Las bases moleculares de la vida. En BIOQUÍMICA. Quinta Edición. Zaragoza, España: Editorial Mc Graw-Hill, 2014. 770 pp. ISBN: 9786071511270.

MEDINA, Miguel, LARA, Lorena, AGUILAR, Cristóbal, DE LA GARZA, Heliodoro. Aprovechamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de etanol como carburante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila.* 3(6), 35- 41. 2011. Disponible en:
<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM6/aRT%204.pdf>

MEJÍAS, Nildia, OROZCO, Eber, y GALÁAN, Nestor. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, Vol 2 (6): 27-41. 2016. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323959087_Aprovechamiento_dee_los_residuos_agroindustriales_y_su_contribucion_al_desarrollo_sostenible_de_Mexico.

- MERINO, Sandra y CHERRY, Joel. Progress and Challenges in Enzyme Development for Biomass Utilization. *Adv Biochem Engin/Biotechnol.* 108: 95-120. June. 2007. ISBN 978-3-540-73650-9.
- MONTILLA, M., y ÁLVAREZ, C. Producción de alcohol Etílico a partir de cáscara de piña (*Ananás sativus*). *ALIMÉNTICA*, (6), 22-25. 2007.
- MONSALVE, John, MEDINA, Victoria y RUIZ, Angela. Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y almidón de yuca. *Dyna*. Año 73. 150, 21-27. Medellín, Noviembre, 2006. ISSN 0012-7353.
- MURGAS, José y VÁSQUEZ, Ángel. “Evaluación de la obtención de bioetanol a partir del almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*, *Dioscorea alata* y *Dioscorea trifida*) mediante la hidrólisis enzimática y posterior fermentación”. Tesis Ingeniero Químico. Universidad de San Buenaventura, Cartagena, Colombia, 2012.
- NIETO, Hernán. “Evaluación de las condiciones de la fermentación alcohólica utilizando *Saccharomyces cerevisiae* y jugo de caña de azúcar como sustrato para obtener etanol”. Tesis Ingeniero en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui, 2009.
- PALMOWSKI, Lars, MULLER, Jasmine. Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. II International symposium on anaerobic digestion of solid waste. Barcelona, 15 – 17 June, pp. 137 – 144. 1999.
- PAREDES, Daisy, ÁLVAREZ, Mario y SILVA, Mónica. Obtención de Enzimas Celulasas por Fermentación Sólida de Hongos para ser Utilizadas en el Proceso de Obtención de Bioalcohol de Residuos del Cultivo de Banano. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*. 23(1): 81-88, 2010. ISSN 1390-3659.
- PÉREZ, Juana, MUÑOZ, José, DE LA RUBIA, Teresa y MARTÍNEZ, J. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol.* 5: 53-63, 2002. DOI:10.1007/s10123-002-0062-3.
- RIEGEL, E. y KENT, James. Riegel’s Handbook of Industrial Chemistry. Eleven Edition. Boston: Editorial Springer Verlag, 2003. 1373 pp. ISBN 978-0-387-23816-6.

RÍOS C., FAJARDO M., PÉREZ J. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel *Apis mellifera*. Estación experimental apícola. Cuba. 2005. SAG.

SAIF, Matook y HASHINADA, Fumio. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (Musa, AAA cv. Cavendish) Fruits Peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 1(3): 125–31, 2005. ISSN 1553-3468.

SÁNCHEZ RIAÑO, Andrea et al. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga* 1(5): 61-91, 2010. ISSN-e 1909-4841.

SAVAL, Susana. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Bioteología*. 16(2): 14-46, 2012.

SEHNEM, Nicole, BITTENCOURT, Luciano, CAMASSOLA, Marli, DILLON, Aldo. Cellulase production by *Penicillium echinulatum* on lactose. *Appl Microbiol Biotechnol*. 72,163-167. 2006. DOI:10.1007/s00253.005-0251-z.

SEO, Jeon et al. The genome sequence of the ethanologenic bacterium *Zymomonas mobilis* ZM4. *Nat Biotechnol*, Vol. 23(1):63-8. 2005. DOI: 10.1038/nbt1045.

SIERRA, Alonso., PÉREZ, Damián y GÓMEZ, Santiago. Análisis instrumental para Educación superior. España: Editorial Netbiblo, S.L., 2010, 256 pp. ISBN: 9788497453776.

SOTO, Moisés. Banano Técnicas de Producción, Manejo, Poscosecha y Comercialización. Costa Rica: Litografía e Imprenta LIL, Tercera Edición. 2008. 1,090 pp.

SUÁREZ, Caridad, GARRIDO, Norge, y GUEVARA, Carmen. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 50(1): 20-28, 2016. ISSN: 0138-6204. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>.

TALEBNIA, F, KARAKASHEV, D, y ANGELIDAKI, I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation.

Bioresource Technology, 101(13): 4744-4753, 2009. Dec 23. 2010. Doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.080.Epub 2009 Dec 23.

Doi: <http://dx.doi.org/10.26507/rei.v5n10.104>.

TEJEDA, Lesly et al. Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña. *Revista Educación en Ingeniería*. Vol. 10: 120-125. 2010. ISSN 1900-8260.

TIGASI SIGCHA, Claudio. “Cultivo de alta densidad en banano (*Musa paradisiaca* Var. *Cavendish*)”. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador, 2017.

TOMÁS PEJÓ, María. “Bioetanol de paja de trigo: Estrategias de integración de las etapas del proceso”. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España, 2010.

TOMASSO, Mauricio. “Tolerancia de las levaduras al etanol”. Tesis Ing. Químico. Universidad de la República, Uruguay, 2004.

TORIJA MARTÍNEZ, Jesús. “Ecología de las levaduras, selección y adaptaciones vínicas”. Tesis Doctoral. Universitat Rovira I Virgili. Departament de Bioquímica. Biotecnología. Tarragona, España, 2002.

TORRES, Swing. Guía práctica para el manejo de banano orgánico en el valle del Chira. Fundación Suiza de Cooperación para el Desarrollo Técnico. Piura, Perú. 72 pp. Disponible en:

http://www.swisscontact.org/fileadmin/user_upload/COUNTRIES/Peru/Documents/Publications/manual_banano.pdf. artículo web.

UNALM - AGROBANCO. Guía Técnica Curso-Taller Manejo Integrado del cultivo de plátano. La Merced - Chanchamayo - Huancayo – Junín. Perú. 2011.

VINCENT, María. Química Industrial Orgánica. España: Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. 2006. 225 pp. ISBN 84-9705-969-7.

WACHIRASIRI, Phatcharaporn, JULAKARANGKA, Siripan y WANLAPA, Sorada. The effects of banana peel preparations on the properties of banana peel dietary fibre

concentrate, Songklanakarin. *Journal of Science and Technology*, Vol. 31 (6), 605-611. 2009.

WEN, Zhiyou, LIAO, Wen, CHEN, Shulin. Production of cellulase/ β -glucosidase by the mixed fungi culture *Trichoderma reesei* and *Aspergillus phoenicis* on dairy manure. *Process Biochem.* Vol. 40: 3087-3094. 2005.

Doi: <https://doi.org/10.1385/ABAB:121:1-3:0093>.

ZAMBRANO BEDÓN, Guisela. “Estudio Técnico–Económico para la obtención de alcohol a partir de camote (*Ipomea batata*)”. Tesis Título de Ingeniería Química. Universidad Central del Ecuador, Ecuador, 2013.

ZUZUARREGUI MIRÓ, Aurora. “Caracterización fisiológicas y moleculares de cepas vínicas de *Saccharomyces* sp. Influencia entre su comportamiento de vinificación”. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia, España, 2005.

IX APENDICE

FIGURA N° 5.1.
FOTOGRAFÍAS DE LOS MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS



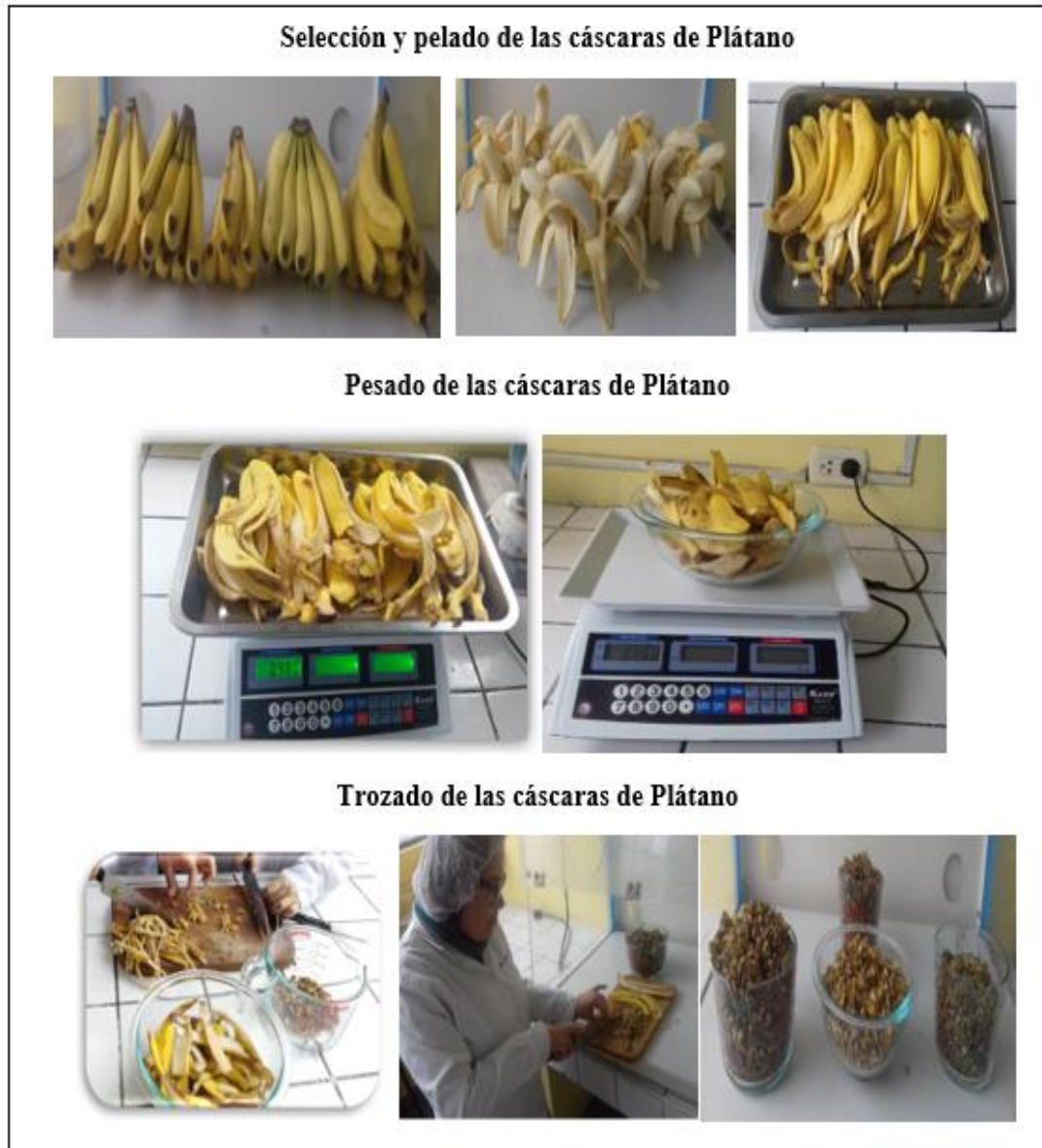
Fuente: Elaboración propia

FIGURA N° 5.2
PRETRATAMIENTO FÍSICO Y ESTANDARIZACIÓN DE CÁSCARAS DE
PLÁTANO



Fuente: Elaboración propia

FIGURA 5.3
FOTOS EXPERIMENTALES DE LA SELECCIÓN, PELADO, PESADO Y
TROZADO DE LAS CÁSCARAS DE PLÁTANO DE SEDA (ETAPA 1)



Fuente: Elaboración propia

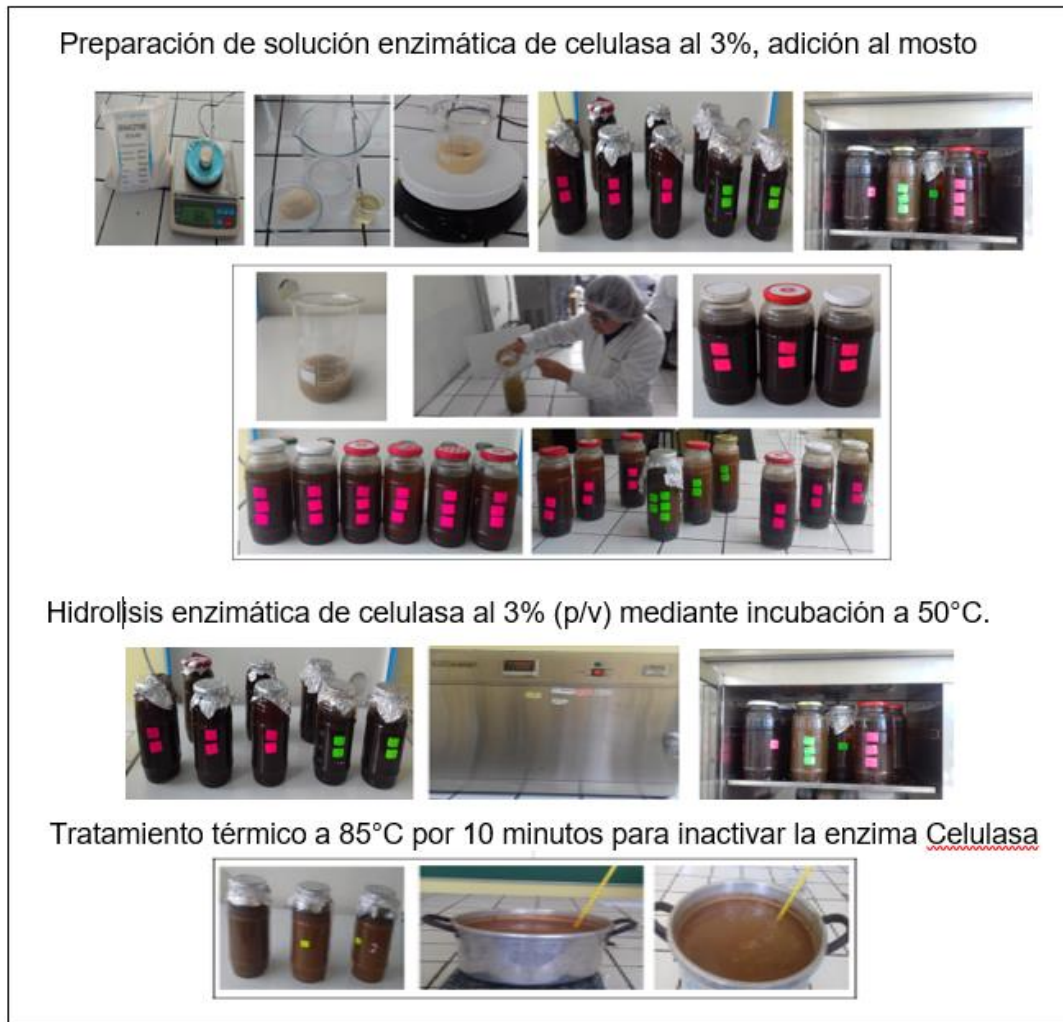
Figura N° 5.4
SECADO, MOLIDO E HIDROLISIS QUÍMICA ALCALINA DE LAS CÁSCARAS
DE PLÁTANO.



Fuente: De acuerdo al procedimiento realizado.

FIGURA N° 5.5

PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LAS CÁSCARAS DE PLÁTANO



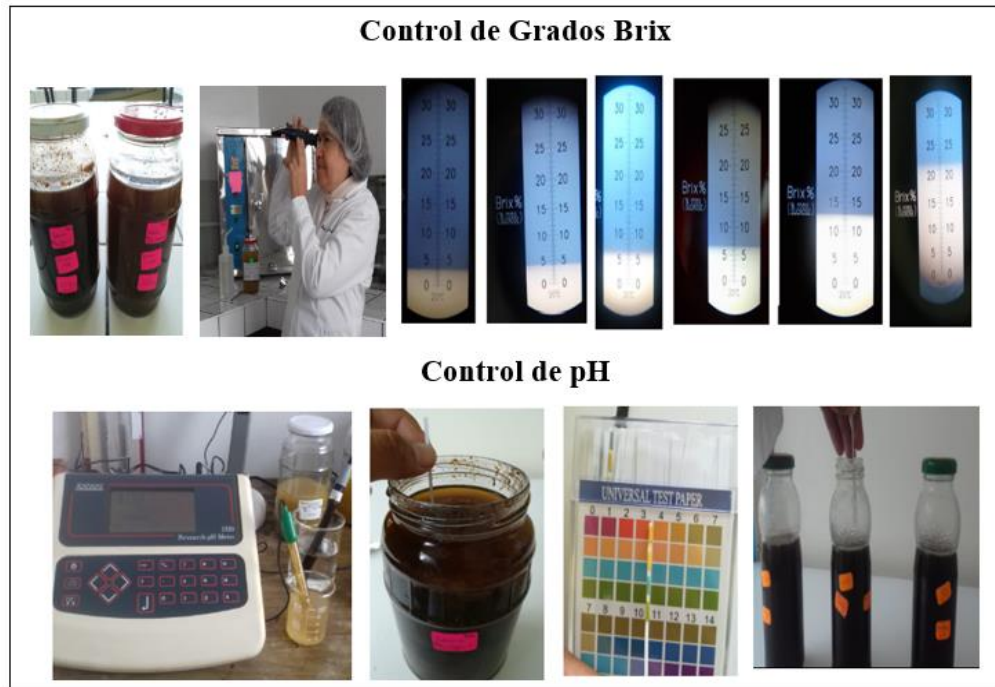
Fuente: Elaboración propia

FIGURA N° 5.6
PROCESO FERMENTATIVO DE LAS CÁSCARAS DE PLÁTANO POR
Saccharomyces cerevisiae (LEVADURA LIOFILIZADA).



Fuente: Elaboración propia

FIGURA N° 5.7
CONTROL DE GRADOS BRIX Y pH DE LOS MOSTOS FERMENTADOS



Fuente: De acuerdo al procedimiento realizado.

FIGURA N° 5.8
PROCESO DE DESTILACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FINAL DEL
ETANOL DESTILADO (ETAPA 3).



Fuente: Elaboración propia

FIGURA N°5.9
ETANOL DESTILADO DE LOS TRATAMIENTOS DE ESTUDIO

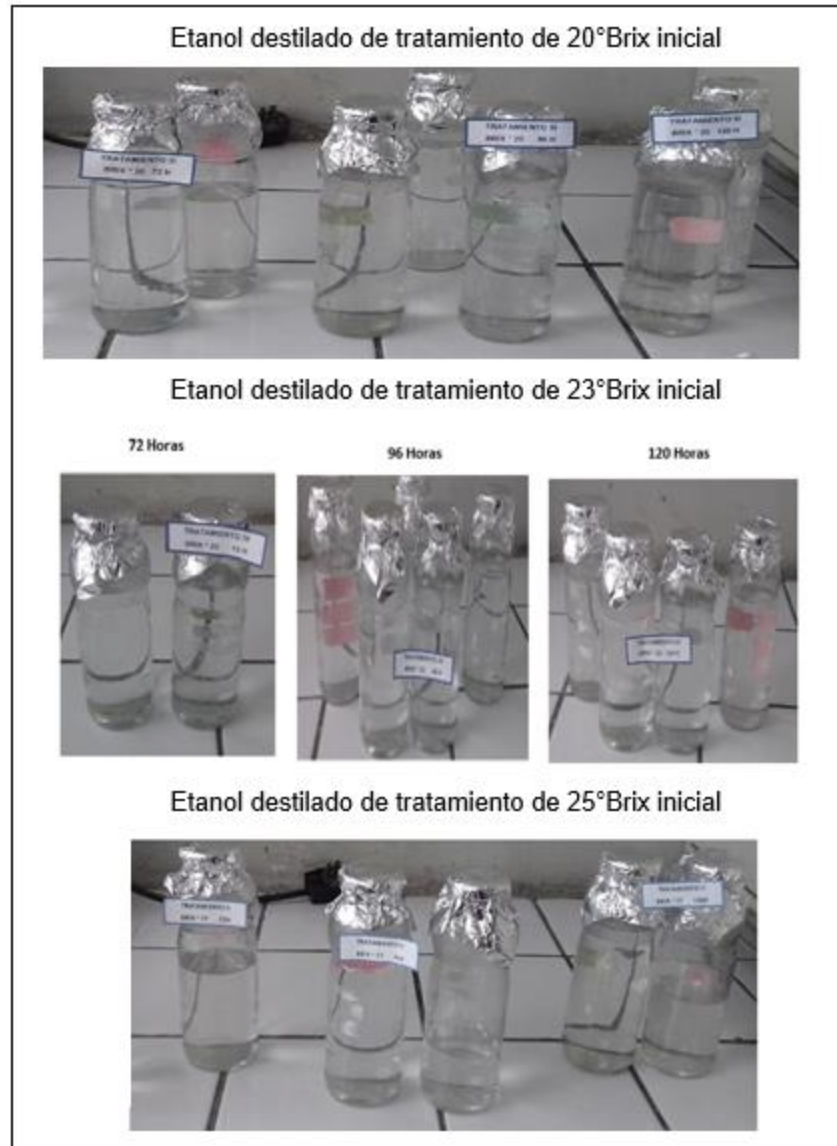


FIGURA N°6.1
FOTOS EXPERIMENTALES DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DE LA
CÁSCARA DE PLÁTANO DE SEDA



Fuente: Elaboración propia

FIGURA N° 6.2
FOTOS EXPERIMENTALES DE LA DETERMINACIÓN DE ACIDEZ
TITULABLE DEL ETANOL OBTENIDO DE CÁSCARAS DE PLÁTANO DE
SEDA



Fuente: De acuerdo al procedimiento realizado.

TABLA N°6.2

RELACIÓN ENTRE LOS GRADOS BRIX Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN DE LOS MOSTOS DE CÁSCARA DE PLATANO CON LOS GRADOS ALCOHÓLICOS OBTENIDOS (°A) EN CADA TRATAMIENTO

°Brix inicial	Tiempo Fermentación (H)	°Brix Final	°Brix Final Prom.	° Alcohólico (mosto)	° Alcohólico Prom. (mosto)
20	72	13	12.0	3.5	4.0
20	72	11		4.5	
20	72	12		4	
20	96	8	8.3	6	5.8
20	96	9		5.5	
20	96	8		6	
20	120	7	6.0	6.5	7.0
20	120	6		7	
20	120	5		7.5	
23	72	18	17.0	2.5	3.0
23	72	17		3	
23	72	16		3.5	
23	96	13	12.7	5	5.2
23	96	13		5	
23	96	12		5.5	
23	120	10	10.3	6.5	6.3
23	120	11		6	
23	120	10		6.5	
25	72	21	20.7	2	2.2
25	72	20		2.5	
25	72	21		2	
25	96	18	18.3	3.5	3.3
25	96	19		3	
25	96	18		3.5	
25	120	17	16.7	4	4.2
25	120	16		4.5	
25	120	17		4	

Fuente: De acuerdo a los datos observados.

TABLA N°6.3.
RELACIÓN ENTRE LOS GRADOS BRIX Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN DE
LOS MOSTOS DE CÁSCARA DE PLÁTANO CON EL PORCENTAJE DE
ETANOL DESTILADO (%ET) EN CADA TRATAMIENTO

Grado Brix inicial	Tiempo Fermentación (H)	% alcohol (destilado)	% alcohol prom. (destilado)
20	72	25.00	29.7
20	72	33.00	
20	72	31.00	
20	96	46.00	44.7
20	96	43.00	
20	96	45.00	
20	120	53.00	56.3
20	120	56.00	
20	120	60.00	
23	72	18.00	20.0
23	72	20.00	
23	72	22.00	
23	96	39.00	39.0
23	96	36.00	
23	96	42.00	
23	120	51.00	49.7
23	120	48.00	
23	120	50.00	
25	72	18.00	18.0
25	72	17.00	
25	72	19.00	
25	96	24.00	23.0
25	96	22.00	
25	96	23.00	
25	120	29.00	30.0
25	120	31.00	
25	120	30.00	

Fuente: De acuerdo a los datos observados.

TABLA N°6.4.


RELACIÓN ENTRE LOS GRADOS BRIX Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN
CON EL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ETANOL DESTILADO
(%RET) EN CADA TRATAMIENTO

°Brix inicial	TFer (H)	Vol. Mosto alcohólico	Vol. Etanol destilado	Vol. Etanol destilado prom	Rendimiento Etanol destilado (%)	Rendimiento Etanol destilado (%) prom
20	72	700	186.00	187.7	26.6	26.8
20	72	700	187.00		26.7	
20	72	700	190.00		27.1	
20	96	700	203.00	205.0	29.0	29.3
20	96	700	205.00		29.3	
20	96	700	207.00		29.6	
20	120	700	236.00	236.0	33.7	33.7
20	120	700	234.00		33.4	
20	120	700	238.00		34.0	
23	72	700	173.00	175.3	24.7	25.0
23	72	700	178.00		25.4	
23	72	700	175.00		25.0	
23	96	700	188.00	185.7	26.9	26.5
23	96	700	183.00		26.1	
23	96	700	186.00		26.6	
23	120	700	190.00	190.0	27.1	27.1
23	120	700	192.00		27.4	
23	120	700	188.00		26.9	
25	72	700	118.00	120.3	16.9	17.2
25	72	700	123.00		17.6	
25	72	700	120.00		17.1	
25	96	700	131.00	128.3	18.7	18.3
25	96	700	128.00		18.3	
25	96	700	126.00		18.0	
25	120	700	138.00	143.3	19.7	20.5
23	120	700	144.00		20.6	
23	120	700	148.00		21.1	

Fuente: De acuerdo a los datos observados.

X. ANEXO

TABLA N°10.1
FICHA TÉCNICA ENZIMA GRANOZYME CELULASA

Nutrición y Biotecnología para la Salud 

FICHA TECNICA

Granozyme Celulasa

DESCRIPCIÓN: Compuesto por enzima Celulasa y harina de trigo como carrier.

ESPECIFICACIONES:

Físico Químicas	
Apariencia	Polvo
Color	Crema a amarillo cremoso(*)
Humedad	Máx. 10%
Plomo (Pb)	Máx. 2 ppm (**)
Metales pesados (como Pb)	Máx. 10 ppm
Microbiológicas (***)	
Coliformes Totales	Máx. 30 ufc/g
Escherichia coli	Ausencia en 25 g
Salmonella	Ausencia en 25 g

(*) El color puede variar de batch a batch
 (**) Especificaciones de acuerdo a General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing.
 (***) Especificaciones de acuerdo a General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing.

APLICACIÓN: Enzima para el tratamiento de harinas integrales, con alto contenido de fibra
 Otorga excelente volumen
 Muy buena tolerancia en fermentación
 Se obtiene masas secas, no pegajosas
 Excelente sinergia con xilanasas
 Aplicado en procesos largos o cortos

DOSIFICACION: La dosificación depende de la calidad de la harina, formulación y especialmente del proceso, y debe determinarse mediante ensayos de panificación. Se recomiendan los siguientes rangos:
 5 – 50 ppm

Código: MG.02.FG.01 Versión: 01

- Granotec Perú garantiza la calidad de sus productos en el cumplimiento de las especificaciones indicadas en sus fichas técnicas.
- Cualquier información aquí contenida, y/o proporcionada por Granotec Perú, son sugerencias realizadas en base a pruebas de laboratorio y a la experiencia de Granotec Perú. En ningún caso estas informaciones reemplazan la necesidad del cliente de realizar sus propias pruebas para evaluar resultados y hacer los ajustes que garanticen las características deseadas en su producto final antes de cualquier aplicación comercial industrial.
- El cliente es el responsable del adecuado almacenamiento, manipulación, dosificación, uso, aplicación, proceso productivo, etc. de los productos adquiridos, por lo tanto Granotec Perú no puede ser responsable del cumplimiento de las especificaciones en un producto final del cliente.
- Este producto ha sido fabricado en una planta que procesa gluten (harina de trigo), leche y sus derivados, soya y productos a base de soya.

Granotec Perú S.A.
 Av. Los Riosanos No. 117
 Urb. Santa Rosa del Espino, Lima 3


Tel. (01) 31 146 7700
www.granotec.com

Transferencia
Tecnológica
Capacitación

Innovación
Investigación
y Desarrollo

Nutrientes e
Ingredientes
Productos

Garantía
Diversidad y
Compromiso

UR 0518 

Fuente: GRANOTEC. 2018

TABLA N° 10.2
 CERTIFICADO DE ANÁLISIS. GRAMOZYME CELULASA

Nutrición y Biotecnología para la Salud



CERTIFICADO DE ANALISIS

Granozyme Celulasa

Fecha actual : 30/05/18
 N° Certificado : 1185
 Lote N° : 180529-05
 Fecha de producción : 29/05/18
 Fecha de vencimiento : 29/05/20
 Presentación : Bolsas

ANÁLISIS	UNID	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Fisico Quimicas			
Apariencia	---	Polvo	Cumple
Color	---	Crema – amarillo cremoso	Cumple
Humedad	%	Máx. 10	8.00
Plomo	ppm	Máx. 2.0	< 2
Microbiologicas			
Coliformes Totales	ufc/g	Máx. 30	< 10
Escherichia coli	/25g	Ausencia	Ausencia
Salmonella	/25g	Ausencia	Ausencia

Si necesita mayor información, por favor contactarse al correo laboratorio@granotec.com.pe

GRANOTEC PERÚ S.A.
[Firma]
 Mónica Guzmán Morales
 Gerente Técnico

Granotec Perú S.A.
 Av. Los Ingenieros No. 112
 Urb. Santa Raquel I Etapa, Lima 3

Tel: +01 (1) 348-7708
www.granotec.com

Transferencia
 Tecnológica
 Capacitación

Innovación
 Investigación
 y Desarrollo

Nutrientes e
 Ingredientes
 Productos

Garantía
 Calidad y
 Compromiso



Fuente: GRANOTEC. 2018.

Tabla 10.3. MATRIZ DE CONSISTENCIA

“Obtención de etanol por vía fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.)”

PROBLEMA GENERAL Y ESPECIFICOS	OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICOS	HIPOTESIS	MARCO TEORICO	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
<p>1. Problema General</p> <p>¿De qué manera se puede obtener etanol por vía fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de las cáscaras de plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L.) evaluando los sólidos solubles y el tiempo de fermentación?</p> <p>2. Problemas secundarios</p> <p>¿De qué manera es posible establecer a nivel de laboratorio los Sólidos solubles (Grados Brix) óptimos para obtener etanol por vía fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de las cáscaras de plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L.)?</p> <p>¿De qué manera es posible establecer a nivel de laboratorio los tiempos de fermentación óptimos para obtener etanol por vía fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de las cáscaras de plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L.)?</p>	<p>1. Objetivo General</p> <p>- Obtener etanol a nivel de laboratorio a partir de cáscaras de plátano por vía fermentativa de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, evaluando los Sólidos solubles (Grados Brix) y el tiempo de fermentación.</p> <p>2. Objetivo específico</p> <p>- Determinar a nivel de laboratorio los Sólidos solubles (Grados Brix) óptimos para obtener etanol por vía fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de cáscaras de plátano.</p> <p>- Determinar a nivel de laboratorio los tiempos de fermentación óptimos para obtener etanol por vía fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de cáscaras de plátano.</p>	<p>1. Hipótesis General</p> <p>- La aplicación del proceso de transformación de cáscaras de plátano por fermentación de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, permitirá obtener etanol evaluando los Sólidos solubles (Grados Brix) y el tiempo de fermentación del mosto.</p> <p>2. Hipótesis específicas</p> <p>- El contenido de sólidos solubles del mosto de las cáscaras de plátano influye en la producción de etanol por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.</p> <p>- El tiempo de fermentación del mosto de las cáscaras de plátano influye en la producción de etanol por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.</p>	<p>Antecedentes</p> <p>Monsalve <i>et. al.</i>, (2006), Tejada L. <i>et. al.</i>, (2010), Antonio Cruz R. <i>et al.</i> (2011), Mitis Madroñero H. (2015), Santos A. y D. Zabala (2016). Wachirasiri, P., <i>et. al.</i>, (2009).</p> <p>Bases teóricas</p> <p>Plátano, Aprovechamiento y valoración del plátano, Producción de Etanol vía fermentativa, Materias primas y su importancia en el proceso fermentativo</p> <p>Definición de Términos</p> <ul style="list-style-type: none"> Anaeróbico Biotecnología Biotransformación Etanol Fermentación Glucosa Grado Brix levaduras Polisacáridos 	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> Sólidos solubles Tiempo de fermentación <p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Calidad del mosto alcohólico producido de residuos de piña fermentada expresado como: Grado alcohólico Porcentaje de etanol</p> <p>INDICADORES:</p> <ul style="list-style-type: none"> Sólidos solubles (°Grados Brix) Tiempo de fermentación (horas) Grado alcohólico (°GL) Contenido de etanol (%) 	<p>Tipo: Experimental Aplicada Nivel: Explicativo Diseño: Experimental y Analítico. Completamente al azar con modelo factorial de 3² correspondiente a la combinación de tres factores (Sólidos solubles, tiempo de fermentación) y con tres repeticiones cada una para corroborar los resultados obtenidos.</p> <p>Universo poblacional (N) Se utilizará como material biológico diez kilos de cáscara de plátano obtenido de los frutos del plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L.) tratado por procesos fermentativos de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para la obtención de etanol.</p> <p>Muestra poblacional (n) Muestra de 1000 ml de solución de cáscara de plátano, en tres repeticiones por tratamiento con los 03 diferentes contenidos de sólidos solubles o Grados Brix (20, 23 y 25) y 03 diferentes tiempos de fermentación (72, 96 y 120 horas) para la fermentación alcohólica.</p> <p>Métodos de Análisis Determinación de la acidez (INDECOPI, NTP 203.070. 1977. Revisada el 2012; INDECOPI, NTP 211.040. 2012). Determinación de grado alcohólico. Tabla de Conversión de Gravedad Específica a °Baumé - °Brix - alcohol. (Amerine M.A. & Ough C.S., 2001). Determinación del porcentaje de etanol por alcoholimetría. (Norma Peruana ITINTEC 210.011. Bebidas alcohólicas).</p>