

ZAMORANO
CARRERA AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Efecto del tratamiento térmico e
inoculación con *Saccharomyces cerevisiae*,
en los porcentajes de etanol y metanol
obtenidos al fermentar tres tipos de mango**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por:

Gabriela Araujo Miño

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

La autora concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos del autor.

A handwritten signature in cursive script, reading "Gabriela Araujo Miño", positioned above a horizontal line.

Gabriela Araujo Miño

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

DEDICATORIA

Dedicado a Dios y a la Virgen Dolorosa por ser mi fortaleza y luz en momentos difíciles.

A mi padre por ser un ejemplo de superación y perseverancia, por sus sabios consejos y por ser un apoyo incondicional durante toda mi vida. A mi madre Ana Miño por su cariño y su dedicación hacia sus hijos, a quien dedico mi esfuerzo con mucho amor y respeto.

A mis hermanos Emilio Araujo y Vanesa Araujo a quienes admiro y agradezco por su apoyo y cariño.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la sabiduría y cuidar de mi familia.

Agradezco a mis padres, por ser mi apoyo por toda su confianza depositada en mi.

A mis hermanos, por ser los seres que más amo.

A los profesores y amigos de la carrera de Agroindustria por sus enseñanzas impartidas.

Al profesor Rodolfo Cojulún por su dirección, valiosa información paciencia y sabios consejos como profesor y amigo.

Al Doctor Javier Bueso por su valiosa información.

A mis grandes amigos Carlos Cerda, Dorian Salinas Yanina Perez, Nataly La Torre, Verónica Benítez, Lucia Faz, Paola Meneses y mi gran amiga y compañera de cuarto Diana Carvajal por ser como una hermana para mí.

Al personal de la Planta de Industrias Hortofrutícolas.

Al Ing. Rafael López, José Orellana y Jesson Morales por su valiosa información y tiempo.

A toda la clase centauro 07 por compartir estos cuatro años inolvidables.

A Zamorano porque a formado en mi un espíritu de trabajo, responsabilidad, con sólidos conocimientos para enfrentar cualquier obstáculo con fortaleza y dedicación

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

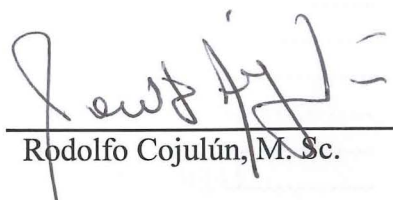
A mis padres Bolívar Araujo y Ana Miño. Por el apoyo financiero brindado durante toda mi carrera.

RESUMEN

Araujo, G. 2007. Efecto del tratamiento térmico e inoculación con *Saccharomyces cerevisiae*, en los porcentajes de etanol y metanol obtenidos al fermentar tres tipos de mango. Proyecto de Graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 29p.

La industria alimentaria siempre ha estado interesada en encontrar formas rentables del aprovechamiento de los materiales de desecho. Se está utilizando actualmente etanol anhidro como ingrediente en gasolinas sin plomo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tratamiento térmico e inoculación con *Saccharomyces cerevisiae*, sobre los porcentajes de etanol y metanol obtenidos al fermentar tres tipos de mango, un comercial Haden y dos no comerciales, Palmer y de semilla. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2x2; tres tipos de mango, inmersión en agua a 90°C por 15 minutos y sin inmersión en agua e inóculo y sin inóculo con *Saccharomyces cerevisiae*, con 12 tratamientos y tres repeticiones para un total de 36 unidades experimentales. Se evaluó características químicas: °Brix, cambios en pH de los sustratos mediante la prueba de auto-apareo y gravedad específica de los destilados obtenidos. El perfil de alcoholes se realizó en el cromatógrafo de gases. Se determinó el efecto de los tratamientos sobre los porcentajes de etanol y metanol, así como el grado alcohólico reportado en escala Tralle. Los licores de la variedad Haden sin inóculo y sin tratamiento térmico tuvieron significativamente mayores porcentajes de etanol y metanol.

Palabras clave: grado alcohólico, perfil de alcoholes, cromatógrafo de gases, uso de desechos.



Rodolfo Cojulún, M. Sc.

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimientos a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Contenido.....	viii
	Índice de cuadros.....	x
	Índice de anexos.....	xi
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2	ANTECEDENTES.....	2
1.3	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	2
1.4	OBJETIVOS.....	3
1.4.1	Objetivo general.....	3
1.4.2	Objetivos específicos.....	3
2.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1	GENERALIDADES DEL MANGO.....	4
2.1.2	Composición del mango.....	4
2.1.3	Principales variedades de mango.....	4
2.2	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	5
2.3	FERMENTACIÓN NATURAL.....	5
2.3.1	Bioalcoholes.....	5
2.4	PREPARACIÓN DEL MOSTO.....	6
2.5	PRINCIPIO DE LA DESTILACIÓN.....	6
2.5.1	Historia de la destilación.....	6
2.6	COMPUESTOS DEL DESTILADO.....	7
2.6.1	Etanol.....	7
2.6.2	Metanol.....	7
2.6.3	Alcoholes superiores.....	7
2.6.4	Ácidos orgánicos.....	7
2.6.5	Ésteres.....	8
2.6.6	Aldehídos.....	8
2.7	OBTENCIÓN DE ETANOL ANHIDRO A NIVEL INDUSTRIAL.....	8
2.7.1	Destilación.....	8

2.7.2	Rectificación.....	9
2.7.3	Deshidratación.....	9
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1	UBICACIÓN.....	10
3.2	MATERIALES.....	10
3.2.1	Materias primas.....	10
3.2.2	Equipos, utensilios y suministros.....	10
3.2.3	Reactivos.....	11
3.3	METODOLOGÍA.....	11
3.3.1	Diseño experimental.....	11
3.3.2	Preparación del sustrato de mango para el desarrollo del proceso de fermentación.....	11
3.3.2.1	Selección de la fruta.....	11
3.3.2.2	Lavado de la fruta.....	11
3.3.3.3	Tratamiento térmico por inmersión.....	12
3.3.3.4	Corte de la fruta.....	12
3.3.3.5	Inoculación.....	12
3.3.3.6	Incubación.....	12
3.3.3.7	Congelación.....	12
3.3.3.8	Destilación.....	12
3.4	ANÁLISIS QUÍMICOS.....	13
3.4.1	Perfil de alcoholes.....	13
3.4.2	Gravedad específica.....	13
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
4.1	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS.....	14
4.1.1	Grados Brix del mango y grado alcohólico del licor obtenido.....	14
4.1.2	Cambios en pH de los sustratos de mango.....	14
4.1.3	Gravedad específica.....	15
4.2	PERFIL DE ALCOHOLES.....	16
4.2.1	Metanol.....	16
4.2.2	Etanol.....	18
5.	CONCLUSIONES.....	21
6.	RECOMENDACIONES.....	22
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	23
8.	ANEXOS.....	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Características principales de variedades de mango.....	5
2.	Cronología de los productos destilados.....	6
3.	Diseño experimental.....	11
4.	Características químicas de los tres tipos de mango y los licores obtenidos.....	14
5.	Evaluación del cambio de pH en los sustratos de mango.....	15
6.	Gravedad de los destilados de mango.....	15
7.	Efecto de la aplicación de inóculo y tratamiento térmico en la gravedad de los licores de mango.....	16
8.	Tratamientos con mayor gravedad específica.....	16
9.	Efecto de los tipos de sustratos en el porcentaje de metanol.....	17
10.	Efecto del tratamiento térmico e inoculación en el porcentaje de metanol.....	17
11.	Tratamientos con mayor porcentaje de metanol.....	18
12.	Efecto de los tipos de sustratos sobre el porcentaje de etanol.....	18
13.	Efecto del tratamiento térmico e inoculación en el porcentaje de etanol.....	19
14.	Tratamientos con mayor porcentaje de etanol.....	20

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1.	Curva de calibración metanol.....	26
2.	Curva de calibración etanol.....	26
3.	Perfil alcoholes mango Haden sin inóculo sin tratamiento térmico.....	27
4.	Perfil alcoholes mango semilla sin inóculo sin tratamiento térmico.....	28
5.	Perfil alcoholes mango Palmer sin inóculo sin tratamiento térmico.....	29

1. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria siempre ha estado interesada en encontrar formas rentables del aprovechamiento de los materiales de desecho. Se está utilizando actualmente etanol anhidro como ingrediente en gasolinas sin plomo. El etanol es un combustible eficiente que aumenta el octanaje de las gasolinas y sustituye al plomo como agente antidetonante. (Wick, 1980).

El compuesto químico etanol, o alcohol etílico, es un alcohol que se presenta como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78°C. Desde la antigüedad se obtenía el etanol por fermentación anaeróbica de una disolución con contenido en azúcares con levadura y posterior destilación (AARTOM, 2004).

Según Badger y Banchemo 1979, las bebidas alcohólicas son todas aquellas que por diversos procedimientos (fermentación, destilación, adición, extracción, maceración, etc.) presentan en su composición más de un 0.5% alcohol. La fabricación de bebidas fermentadas fue descubierta por el hombre primitivo y se practica como un arte desde hace miles de años.

Las bebidas fermentadas se obtienen a partir de frutos o cereales (uva, manzana, cebada, etc.) gracias a la acción de las levaduras, *Saccharomyces cerevisiae*, que convierten el azúcar en alcohol y dióxido de carbono. “Las bebidas destiladas se obtienen por destilación o maceración de las bebidas fermentadas, con lo que se consigue aumentar el porcentaje de alcohol, pueden contener también azúcares simples en diversas proporciones. Estas bebidas son los llamados licores (ginebra, whiskey, vodka, ron, etc.) que contienen una alta concentración de alcohol entre 20 – 40 grados de alcohol escala Tralle” (AARTOM, 2004).

Según Galán (1999), el mango (*Mangifera indica L*), se considera “el rey de las frutas tropicales”. Es una drupa grande y carnosa que contiene semilla con uno o más embriones. El mango es una de las principales frutas generadoras de divisas en países como México, sin embargo existe la problemática de la falta de métodos de aprovechamiento para variedades de mango no comerciales. Por su sabor y aroma el mango es un producto que generalmente se consume fresco, pero además se industrializa.

“El contenido de azúcares llega a ser hasta de un 20%, tiene vitaminas A, C Y D, complejo B, además de minerales, potasio, magnesio y en menor cantidad hierro, fósforo y calcio” (Galán, 1999).

Castelazo *et al.*, (2006), en su estudio sobre producción de etanol por fermentación de jugo de mango con *Saccharomyces cerevisiae*, analizó el contenido de azúcares en el jugo, y determinó el rendimiento del proceso. El rendimiento de etanol obtenido a partir de una concentración total de azúcares de 130.5 g/L constituidos por sacarosa, glucosa y fructosa en condiciones de operación por lotes, a un pH de 5, 30 °C y 200 rpm de agitación en un fermentador de 1 L, fue igual al teórico esperado de 91.69 g/L de jugo de mango.

1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Aproximadamente un 70% de mangos equivalente alrededor de 10.000 kilos anual, que se producen sin manejo agrícola en Zamorano, no tienen valor comercial dado que únicamente se comercializan las variedades Haden y Tomy Atkins, por ser las preferidas en el mercado de Tegucigalpa.

Se producen considerables volúmenes de desechos provenientes del mango que no tienen un uso actual en Zamorano y causan problemas sanitarios al aumentar la población de insectos durante las épocas de verano.

1.2 ANTECEDENTES

En Zamorano la cáscara de mango y desechos de la pulpa se han utilizado para preparación de puré como alimento de la colmena. En la planta hortofrutícola se han realizado ensayos usando los desperdicios del procesamiento de mango. Sin embargo, no se ha evaluado aún el efecto de aplicar tratamientos térmicos e inóculo a los sustratos, dado que en términos de costos resulta importantes evaluarlas.

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio radica en el aprovechamiento de desechos orgánicos del mango en la generación de etanol y metanol, con un mínimo de inversión. El mismo podría tener un impacto positivo ya que se está dando un uso adicional a los mangos que no tienen valor comercial, despertando el interés en Zamorano de buscar formas de reutilizar los desechos orgánicos en la generación de bioalcoholes.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto del tratamiento térmico e inoculación con *Sacharomyces cerevisiae*, en los porcentajes de etanol y metanol obtenidos al fermentar tres tipos de mango.

1.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar las características químicas: °Brix, cambios en pH de los sustratos y gravedad específica de los licores obtenidos.
- Evaluar el efecto del tratamiento térmico, inoculación con *Saccharomyces cerevisiae* y los tipos de mango usados como sustratos en los porcentajes de etanol y metanol.
- Determinar el perfil de metanol y etanol en el licor de mango.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES DEL MANGO

Según Kalra *et al.*, (2003), el mango pertenece a la familia de las *Anacardiaceas*, *genus Mangífera*, originaria en el Sureste de Asia. El cultivo de mango se comercializa en 87 países. La India contribuye con un 64% de la producción mundial. Otro productor importante es México, Pakistán, Brazil, Filipinas y Tailandia. Del mango se puede producir varios productos como jugos, néctares, concentrados a partir de la pulpa, polvos, salsas. Pocos años atrás, Filipinas con más de 10,000 toneladas de fruta fresca de exportación, fue pionero, mientras que la India ocupó el cuarto lugar en exportar mango y sus productos a Norte América y países Europeos. La producción mundial de mango es aproximadamente de 15.7 millones de toneladas métricas.

“Su expansión natural es limitada a la región Indo Malasia. Hay 10 cultivares de mango producidos en el mundo. Las áreas se pueden agrupar en 5 regiones. India, China, Tailandia, México y Pakistán” (FAO, 2003).

2.1.2 Composición del mango

“La semilla del mango abarca del 9 al 27% aproximadamente del peso total de la fruta. El color del pellejo y la pulpa varía con la madurez y el cultivo. Su contenido de carotenoides aumenta durante su madurez; es buena fuente de provitamina A” (Avena y Luh, 1983).

“La parte comestible del fruto total corresponde entre 60 y 75%. El componente mayoritario es el agua en un 84%. El contenido de azúcar varía de 10-20% y de las proteínas en un 0.5%. Los azúcares solubles de la pulpa de la fruta consisten principalmente de glucosa (7.2%) fructuosa (23.8%) y sucrosa (69.09%)” (Avena y Luh, 1983). “El ácido predominante es el ácido cítrico aunque también se encuentra el ácido málico, succínico, urónico, tartárico y oxálico en cantidades menores” (Jagtiani *et al.*, 1988).

2.1.3 Principales variedades de mango

La fruta produce semillas monoembriónicas y poliembriónicas. Las semillas poliembriónicas contienen más de un embrión y en su mayoría son genéticamente idénticas al árbol madre. Las semillas monoembriónicas contienen un embrión y este

embrión posee el gen de los dos padres. (Crane y Campbell, 1999). Las principales variedades de mango se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Características principales de variedades de mango

Variedad	Tamaño	Color de la fruta	Contenido de fibra
Haden	Mediano	Rojo / amarillo	Regular
Keitt	Grande	Rosado / amarillo	Muy poca
Kent	Mediano	Rojo / amarillo	Muy poca
Tommy Atkins	Mediano	Amarillo / rojo	Regular
Palmer	Mediano	Amarillo	Muy poca
Sensation	Pequeño	Amarillo con manchas rojas	Poca

Fuente: PROTRADE-GTZ 1992

2.2 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico realizado por las levaduras y algunas clases de bacterias. Estos microorganismos transforman el azúcar en alcohol etílico y dióxido de carbono. La fermentación alcohólica, comienza después de que la glucosa entra en la celda. La glucosa se degrada en un ácido pirúvico. Este ácido pirúvico se convierte luego en CO₂ y etanol. Los seres humanos han aprovechado este proceso para hacer pan, cerveza, y vino. En estos tres productos se emplea el mismo microorganismo que es: la levadura común o lo *Saccharomyces cerevisiae* (Tempeh, 2005).

2.3 FERMENTACIÓN NATURAL

Es un proceso biológico, llevado a cabo por la acción directa de microorganismos o de enzimas propias en frutas y vegetales. Es un proceso relacionado con la producción de ácidos orgánicos, alcoholes, cetonas y polímeros (Censolar, 2007).

2.3.1 Bioalcoholes

Proceden de materiales azucarados (tubérculos, caña de azúcar, granos de cereal, etc.). Mediante su fermentación se extrae etanol, que puede ser utilizado mezclado con gasolina, en forma de ETBE (éter derivado del etanol que la oxigena) o como sustituto total de la gasolina. Los bioalcoholes también pueden ser empleados para generar electricidad (Censolar, 2007).

2.4 PREPARACIÓN DEL MOSTO

Según Donath (1992), mosto es el término usado para definir todo líquido azucarado susceptible de sufrir fermentación. Debido a que la composición de la materia prima es variable debe tenerse cuidados especiales en relación a contenido de sólidos, azúcares, sales minerales, acidez, temperatura, etc.

Para una fermentación pura, regular y de alto rendimiento, es necesario que el mosto tenga ciertas características. Según Hernández (2003), la concentración en azúcares debe ser compatible con la naturaleza y composición de la materia prima, con el tipo de levadura empleada y con la conducción de la fermentación, el mosto ideal es preparado generalmente a una concentración de 14-28 °Brix, correspondiendo a un valor medio de 10-18% de azúcares reductores totales. Así mismo la acidez del mosto debe estar con un valor óptimo de pH 4.5 para caña de azúcar y de 3.5 – 4.5 si son sustratos de frutas. En términos de acidez total 2.0 – 2.5 g de ácido sulfúrico por litro de mosto.

2.5. PRINCIPIO DE LA DESTILACIÓN

“La destilación es una operación la cual separa los componentes de una mezcla usando la diferencia en volatilidades de las sustancias seguido de un proceso fisicoquímico. “Si un recipiente que contiene alcohol es calentado a una temperatura que supera los 78.3°C, pero sin alcanzar los 100°C, el alcohol se vaporizará y separará del líquido original, para luego condensarlo en un líquido de mayor fuerza alcohólica” (Zonadiet, 2003).

2.5.1 Historia de la destilación.

En un sentido amplio, por aguardiente se entiende toda bebida alcohólica de alta graduación obtenida mediante la destilación. En el Cuadro 2 se muestra la cronología de los productos destilados. En todo caso el nombre deriva del latín "aqua ardens" término con el que se llamaba al alcohol obtenido por destilación (Antón, 2003).

Cuadro 2. Cronología de los productos destilados

Época	País	Bebida fermentada	Materia prima	Bebida destilada
800 A.C	China	Tchoo	Arroz y mijo	Sautchu
500 D.C.	Inglaterra	Mead	Miel	Água miel
1000 D.C	Italia	Vinos	Uvas	Brandy
1200 D.C.	Espana Francia	Melaza de caña	Caña de azúcar	Rum Rhum o ron
1500 D.C	Escocia	Cerveza	Malta de cebada	Wishkey
1650 D.C	México	Fermento	Agave	Tequila

Fuente: Zonadiet, 2003.

2.6. COMPUESTOS DEL DESTILADO

En los compuestos alcohólicas además del etanol pueden encontrarse aldehídos, ésteres y otros alcoholes.

Para la detección y cuantificación de los componentes mayoritarios de los licores se utiliza una mezcla patrón de metanol y etanol. Las muestras son inyectadas en un cromatógrafo de gases (INHA, 2000).

2.6.1 Etanol

El alcohol etílico, constituyente fundamental, que hasta hace poco se utilizaba como parámetro para determinar la calidad del destilado. Es un líquido incoloro, de olor agradable y de sabor ardiente. Se mezcla con el agua en cualquier proporción y es un buen solvente para muchas sustancias colorantes y aromatizantes (Antón, 2003).

2.6.2 Metanol

El alcohol metílico es quizás el componente más temido por los destiladores. Este alcohol aumenta cuando las condiciones de conservación de los aguardientes no son las adecuadas o cuando el período de conservación es muy prolongado (Antón, 2003).

2.6.3 Alcoholes superiores

Tienen sobre el organismo un efecto narcótico muy superior al del alcohol etílico. En los destilados se encuentran en proporciones muy bajas, por lo que fisiológicamente su efecto es modesto. Se forman algunos durante la fermentación alcohólica y otros como el 2-butanol se forman durante la conservación o ensilado, por lo que es un elemento que distingue los aguardientes de orujo de los de vinos (Antón, 2003).

2.6.4 Ácidos orgánicos

Son formados por átomos de carbono, oxígeno e hidrógeno; pero unidos de una forma particular, de tal forma que puestos en solución acuosa, liberan iones de hidrógeno. Su presencia en cantidades modestas favorece, tanto el gusto como el perfume de los aguardientes. El de mayor presencia en destilados es el ácido acético, aunque también están presentes el fórmico, el butírico, el láctico, el propiónico, el isovaleriánico, el caprónico, el cáprico y el pelargónico (Antón, 2003).

2.6.5 Ésteres

Son el resultado de la combinación de alcoholes y ácidos orgánicos, compuestos muy abundantes en los destilados. Son numerosos y favorecen las más extraordinarias sensaciones olfativas, tanto positivas como negativas. Entre ellos es mayoritario el acetato de etilo, que no favorece sensaciones exaltantes, pero que es útil porque inhibe la percepción de los aldehídos insaturados y exalta la percepción de algunos olores afrutados (Antón, 2003).

2.6.6 Aldehídos

Químicamente se dividen en saturados e insaturados. Los primeros dan lugar a sensaciones herbáceas, mientras que los segundos dan sensaciones florales, aunque también son responsables de sensaciones a rancio e incluso a sudor. El compuesto de mayor presencia en los aguardientes es el acetaldehído, seguido del ácido butírico, acetal, furfural. El furfural es muy interesante, pues se forma con el recalentamiento de los aguardientes, y a nivel organoléptico produce olor a quemado (Antón, 2007).

2.7 OBTENCIÓN DE ETANOL ANHIDRO A NIVEL INDUSTRIAL

Según DEDINI (2007) los tipos de alcohol (etanol) que se pueden generar son:

- Fleuma, sugar cane spirit o ron 35 - 65° GL.
- Alcohol hidratado 96° GL (gasolina).
- Alcohol anhydro 99.6° GL (gasolina).
- Rectificado fino (perfumes y farmacéuticos).
- Alcohol rectificado extra fino (bebidas alcohólicas).

2.7.1 Destilación

En la producción de etanol a nivel industrial el mosto ingresa en un sistema de columnas de destilación donde es calentado. Los alcoholes se separan por diferencias de volatilidad. El sistema esta formado además por platos de separación que permiten que una vez separados los componentes, el líquido fluya hacia abajo a través de la columna mientras que el vapor sube a través de la columna en un proceso periódico de mezcla y separación.

El vapor que se desprende es condensado en los condensadores, una parte del líquido condensado regresa a la columna como reflujo líquido y el resto es el producto destilado denominado "Fleuma" con 35-65° GL (Gay Lussac) y el cual sirve de materia prima para la rectificación del de alcohol.

2.7.2 Rectificación

El fleuma ingresa a la base de un rectificador en una segunda columna y continua desalcoholizándose de plato en plato hasta llegar al tope de la columna, el producto del proceso es un alcohol hidratado con 96°GL. En este punto es imposible separar el agua usando destilación simple a presión normal. Para ello se emplean sustancias usadas como productos deshidratadores llamadas mezclas azeotrópicas: trichloroethylen, cyclohexeno, etil acetate, n-hexane, etc.

2.7.3 Deshidratación

Se lo realiza en una tercera columna, donde el alcohol, después de ser mezclado con un producto deshidratador, se transforma en el componente menos volátil el cual sale de la columna como producto final con 99.6 °GL.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 UBICACIÓN

La fermentación de los sustratos se realizó en la Planta de Industrias Hortofrutícola, la congelación de las muestras en la Planta Piloto de Zamorano y los análisis químicos en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ).

3.2 MATERIALES

3.2.1 Materias Primas

- 48 kg mango Palmer, 48 kg mango de Haden y 48 kg mango de semilla.
- 20 kg tomate.
- Levaduras *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2.2 Equipos, utensilios y suministros

- Balanza ADVENTURER, marca OHAUS, modelo AR2140
- Potenciómetro ORION RESEARCH modelo 701 A
- Refractómetro Fisher Scientific graduados: 0-31, 28-62 y 58-90% Brix.
- Termómetro
- Bolsas de polietileno
- Cajas de cartón
- Matraz de destilación
- Trampa de gases
- Picnómetro de 50 ml
- Cristalería para destilación
- Intercambiador térmico
- Cromatógrafo de gases Agilent 6890 Con detector FID, columna DB-ALC1 de J&W Scientific (30 m x 0.32 mm x 1.8 µm)
- Viales Supelco de 4 ml
- Jeringas Hp de 10 ul
- Alcoholímetro con escala Tralle
- Probeta de 100 ml, 500 ml

3.2.3 Reactivos

- Metanol al 100% grado HPLC. Fisher Scientific.
- Etanol al 100% grado HPLC. Fisher Scientific.

3.3 MÉTODOLÓGÍA

3.3.1 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 3x2x2, para evaluar tres tipos de mango, inmersión en agua a 90°C por 15 minutos o sin inmersión en agua y 2 niveles (inóculo y sin inóculo con *Saccharomyces cerevisiae*), como se muestra en el Cuadro 3, para un total de 12 tratamientos con 3 repeticiones y 36 unidades experimentales.

Cuadro 3. Diseño experimental.

Variedades/tipo mango	Inóculo/sin inóculo	Tratamiento	Repeticiones
Haden	Con inóculo	T. térmico	3
		Sin T. térmico	3
	Sin inóculo	T. térmico	3
		Sin T. térmico	3
Palmer	Con inóculo	T. T. térmico	3
		Sin T. térmico	3
	Sin inóculo	T. térmico	3
		Sin T. térmico	3
Semilla	Con inóculo	T. térmico	3
		Sin T. térmico	3
	Sin inóculo	T. térmico	3
		Sin T. térmico	3

3.3.2 Preparación del sustrato de mango para el desarrollo del proceso de fermentación

3.3.2.1 Selección de la fruta: Se recolectó de Zamorano tres tipos de mango Haden, Palmer y mango de semilla. Se escogieron los mangos marginales de la producción. Los mangos fueron divididos en cada una de las unidades experimentales.

3.3.2.2 Lavado de la fruta: Se lavó los mangos con detergente y cloro a 25 ppm.

3.3.2.3 Tratamiento térmico por inmersión: Se pasteurizó las unidades con tratamiento térmico, utilizando inmersión en agua, sumergiendo los mangos en 10 litros de agua en una marmita. Se dejó pasteurizar a 90°C por 15 minutos y se dejó enfriar hasta colocarlos dentro de las bolsas y con inóculo.

3.3.2.4 Corte de la fruta: Cada unidad experimental contuvo 4 kg de mango. Los mangos se cortaron en 4 pedazos y se colocaron en doble bolsa de polietileno y dentro de cajas de cartón para que se inicie el proceso de fermentación. Se incluyó en la bolsa semilla, cáscara y pulpa de mango.

3.3.2.5 Inoculación: Para aumentar la población de levaduras, se realizó un proceso aerobio que duró 30 minutos, período en el cual se logró un crecimiento vegetativo, utilizando un sustrato de tomate, por contener una cantidad importante de vitaminas y minerales, con 7 °Brix.

Se preparó el medio de crecimiento de jugo de tomate utilizando una relación peso/peso de 1 a 2 tomate y agua. Se cortaron los tomates en cuatro, se añadió agua y se los cocinó en una marmita a 90°C por 10 minutos. Posteriormente se colaron los tomates usando un manto colador esterilizado. Para aplicar la levadura al medio de crecimiento, se dejó enfriar el jugo colado hasta una temperatura de 30°C. Se inoculó 0.3% de levadura es decir 3 gramos de levadura por litro de jugo de tomate. Finalmente se inoculó 500 ml del jugo de tomate a los tratamientos con inóculo.

3.3.2.6 Incubación: Las bolsas con el fermento se almacenaron en el cuarto de fermentación alcohólica por 12 días a una temperatura de 25°C, temperatura en la que crece la *Sacharomyces cerevisiae*.

3.3.2.7 Congelación: Después de los 12 días de fermentación, se congelaron las muestras a -15°C, con el fin de mantener inactivos biológicamente a los microorganismos hasta el momento de analizarlos químicamente.

3.3.2.8 Destilación: Se destiló el mosto fermentado de mango utilizando un matraz de destilación, trampa de gases y el condensador. La temperatura se reguló a 78.3°C con un termorregulador de temperatura. Se detuvo la destilación cuando la probeta alcanzó los 150 ml, se tomó lectura usando un alcoholímetro en grados Tralle. Para lograr un grado alcohólico superior, se destiló una segunda vez, se partió de los 150 ml del primer destilado, hasta alcanzar un volumen de 100 ml. Este procedimiento se usó en todas las unidades experimentales.

3.4 ANÁLISIS QUÍMICOS

3.4.1 Perfil de Alcoholes

Se analizó el contenido de alcoholes totales utilizando un alcoholímetro con escala Tralle; haciendo tres repeticiones por cada muestra y se determinó su gravedad. Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent modelo 6890, en conjunto con el software ChemStation para determinar el perfil de alcoholes del licor de mango. Se utilizó el método establecido para perfil de alcoholes del software que estableció las siguientes condiciones de análisis: La temperatura del inyector fue 250°C en modo split a una relación de 20:1; utilizando una columna capilar J&W Scientific DB-ALC1 (30m de largo x 0.32mm ID x 1.8µm) con un flujo constante de 6.87 ml/cm de nitrógeno; se utilizó un detector FID a 250°C y la temperatura de horno a 38°C en fase inicial con una tasa ascendente de 20°C/min hasta alcanzar 120°C. El tiempo de corrido del análisis fue de 12.2 min, utilizando nitrógeno como gas de acarreo.

Los estándares utilizados en la realización de la curva de regresión fueron de grado HPLC para obtener un pico único en el cromatógrafo. Se realizaron diluciones p/p de etanol y metanol; con los siguientes rangos: 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 1%, 0.1% y 0% para la realizar la curva de regresión la cual permitió determinar tiempos de retención y sus concentraciones expresado en porcentaje en 100 ml del licor del mango.

3.4.2 Gravedad específica

Se midió la gravedad específica de los licores usando un picnómetro y una balanza. Se colocaron 50 mL de alcohol dentro del picnómetro y se peso. Se estableció la relación masa obtenida de la lectura de la balanza (restando el peso del picnómetro), sobre los 50 ml colocados inicialmente. Se reportó la gravedad específica de los licores en g/ml.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

4.1.1 Grados Brix del mango y grado alcohólico del licor obtenido.

El Cuadro 4 muestra que la variedad de mango Haden tuvo un mayor °Brix y produjo un licor con mayor grado alcohólico, debido a que los sustratos de mango de la variedad Haden tuvieron mayor cantidad de azúcares totales disponibles para la fermentación

Cuadro 4. Características químicas de los tres tipos de mango y los licores obtenidos.

Muestra	°Brix *	Grado alcohólico **
Haden	13.75 a	44 a
Semilla	12.25 b	38 b
Palmer	10.25 c	31 c

* Se reporta la media de 12 repeticiones obtenidas de la fruta de mango.

** Se reporta en grados Tralle la media de 12 repeticiones de los destilados de mango.

4.1.2 Cambios en pH de los sustratos de mango.

El Cuadro 5 muestra los cambios en pH al día 0 y a los 12 días de fermentación, se observa que en los sustratos sin inóculo y sin tratamiento térmico hubo un descenso del pH. Mercado (2006), afirma que debe a la presencia de bacterias heterofermentativas propias de la microflora de los sustratos que transformaron parte de la glucosa en ácido pirúvico, provocando un incremento en la acidez del sustrato.

Cuadro 5. Evaluación del cambio de pH en los sustratos de mango.

Muestra	pH día 0	pH día 12	Media *	Pr > t
Sustratos inóculo y tratamiento térmico	3.61	4.42	0.813 ± 0.212	< 0.001
Sustratos inóculo y sin tratamiento térmico	3.62	3.76	0.141 ± 0.161	0.03
Sustratos sin inóculo y tratamiento térmico	3.96	3.84	<0.115 ± 0.999	0.73
Sustratos sin inóculo y sin tratamiento térmico	3.94	3.69	<0.246 ± 1.023	0.49

*Se reporta la media obtenida de 9 repeticiones.

4.1.3 Gravedad específica

El Cuadro 6 muestra que los destilados de la variedad Palmer tuvieron significativamente mayor gravedad específica.

Cuadro 6. Gravedad de los destilados de mango

Muestra	Gravedad específica *
Palmer	0.927 ± 0.013 a
Semilla	0.921 ± 0.011 b
Haden	0.907 ± 0.003 c

Pr>F = 0.0001

* Se reportan la media obtenida de 4 repeticiones expresadas en g/ml a 25°C.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

El Cuadro 7 muestra que no existieron diferencias estadísticas en densidades en los tratamientos con inóculo y sin inóculo, sin embargo las muestras con tratamiento térmico tuvieron mayor densidad.

Cuadro 7. Efecto de la aplicación de inóculo y tratamiento térmico en la gravedad de los licores de mango.

Muestra	Gravedad específica *
Inóculo	0.919 ± 0.008 a
Sin inóculo	0.918 ± 0.006 a

Pr>F = 0.3133

Muestra	Gravedad específica *
Tratamiento térmico	0.922 ± 0.012 a
Sin tratamiento térmico	0.915 ± 0.011 b

Pr>F = 0.0001

* Se reportan la media obtenida de 3 repeticiones por muestra expresadas en g/ml a 25°C. Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

En el Cuadro 8 se muestra los tres tratamientos de las 12 unidades experimentales, que tuvieron mayor gravedad específica. El sustrato de la variedad Palmer produjo menor porcentaje de etanol. Según Antonio (2003), en los compuestos alcohólicos además del etanol pueden encontrarse, ésteres, alcoholes de cadena superior y aldehídos que le atribuyen un aspecto rancio al licor.

Cuadro 8. Tratamientos con mayor gravedad específica.

Muestra	Gravedad específica *
Palmer (inóculo/sin tratamiento térmico)	0.940 ± 0.011 a
Palmer (sin inóculo/sin tratamiento térmico)	0.934 ± 0.010 b
Palmer (inóculo/tratamiento térmico)	0.927 ± 0.009 c

Pr > F =0.0001. Hubo interacción entre los tratamientos.

* Se reportan la media obtenida de 3 repeticiones por muestra expresadas en g/ml a 25°C.

4.2 PERFIL DE ALCOHOLES

4.2.1. Metanol

La curva de calibración del metanol se la realizó usando concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25%, 0.1% y 0%. El tiempo de retención reportado del estándar de metanol corrido en el GC fue de 2.591 minutos (Anexo 1). La media del tiempo de retención de metanol para los licores de mango inyectados fue de 2.485 minutos, con un intervalo de variación de 0.106 segundos al estándar, concluyendo que el orden de salida de los alcoholes de mango fue semejante al estándar.

Al aumentar la longitud de la cadena de alcoholes aumenta su tiempo de retención en la columna. El metanol con un peso molecular de 32 u.m.a es el compuesto más volátil de los alcoholes por lo que se desplaza primero dentro de la columna y el etanol con un peso molecular de 46 u.m.a es el segundo alcohol en salir de la columna.

El Cuadro 9 indica que para el factor variedad de mango, la variedad Haden produjo un porcentaje mayor de metanol.

Cuadro 9. Efecto de los tipos de sustratos en el porcentaje de metanol.

Muestra	% Área metanol *	% Metanol **	Grado alcohólico***
Haden	0.36 ± 0.12 a	1.01 ± 0.66 a	44 ± 1.25 a
Semilla	0.31 ± 0.11 ab	0.56 ± 0.39 b	38 ± 1.25 b
Palmer	0.17 ± 0.07 b	0.52 ± 0.11 b	31 ± 1.25 c

*Área total del pico obtenido, conforma el total de metanol de todos los alcoholes presentes en el licor de mango.

** Las medias se expresan en porcentaje de metanol en 100 ml tomadas de 12 replicas.

*** Se reporta en grados Tralle la media de 12 replicas de los destilados de mango.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

El Cuadro 10 muestra que los destilados sin inóculo y sin tratamiento térmico produjeron una cantidad superior de metanol

Cuadro 10. Efecto del tratamiento térmico e inoculación en el porcentaje de metanol.

Muestra	% Área metanol*	% Metanol**	Grado alcohólico***
Sin inóculo	0.32 ± 0.67 a	0.79 ± 0.02 a	38 ± 1.25 a
Inóculo	0.25 ± 0.32 a	0.60 ± 0.02 b	37 ± 1.25 a
	Pr>F=0.106	Pr > F = 0.0001	Pr > F = 0.23
Muestra	% Área metanol*	% Metanol**	Grado alcohólico***
Sin tratamiento térmico	0.40 ± 0.60 a	0.96 ± 0.002 a	40 ± 1.25 a
Tratamiento térmico	0.16 ± 0.18 b	0.43 ± 0.002 b	35 ± 1.25 b
	Pr > F = 0.0228	Pr > F 0.0001	Pr > F = 0.0001

* Área total del pico obtenido, conforma el total de metanol de todos los alcoholes presentes en el destilado de mango.

** Las medias se expresan en porcentaje de metanol en 100 ml tomadas de 18 replicas.

*** Las medias se expresan en v/v de alcoholes totales en grados Tralle a 25°C tomada de 18 replicas.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

El Cuadro 11 muestra que el licor de la variedad Haden sin inóculo y sin tratamiento térmico tuvo mayor concentración de metanol con 2.01% es decir que de los 100ml de alcohol obtenidos a 114°Proof o 57 Tralle, 2 ml son metanol. Los límites técnicos establecidos por la norma nicaragüense de toxicidad en humanos para metanol es de 30mg/100 ml a 100 ° P. La comparación se debe hacer al mismo volumen de alcohol contenido por las muestras por lo cual el límite se estableció a 34mg/100ml a 114°P. La densidad del metanol es de 0.81 g/cc. Significa que los 2 ml de metanol corresponden a 1.62 gramos o 162 mg/100ml a 114°Proof. Concluyendo que hay una cantidad considerable de metanol que representan niveles tóxicos si se habla en términos de

consumo humano, por lo que se debe tener precaución al momento de manipularlo. Sin embargo para fines de la presente investigación, resulta importante debido a que el metanol es un bioalcohol que se lo utiliza para generación de energía eléctrica.

Cuadro 11. Tratamientos con mayor porcentaje de metanol.

Muestras	% Área metanol*	% Metanol**	Grado alcohólico***
Haden (sin inóculo/ sin t. térmico)	0.47 ± 0.17 a	2.01 ± 0.07 a	57 a
Semilla (sin inóculo/sin t. térmico)	0.26 ± 0.02 b	1.16 ± 0.02 b	43 b
Palmer (sin inóculo/sin t. térmico)	0.20 ± 0.001 b	1.13 ± 0.001 c	41 b

Pr > F = 0.0001. Hubo interacción entre los tratamientos.

* Área total del pico obtenido, conforma el total de metanol de todos los alcoholes presentes en el destilado de mango.

** Las medias se expresan en % de metanol en 100 ml tomadas de 3 replicas.

*** Las medias se expresan en v/v de alcoholes totales en grados Tralle a 25°C tomada de 3 replicas.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

4.2.2 Etanol.

El tiempo de retención del estándar de etanol corrido en el GC fue de 3.42 minutos (Anexo 1). La media del tiempo de retención para los licores de mango fue de 3. 57 minutos, con una variación de 0.15 segundos. La curva de calibración se la realizó usando concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 1%, 0.5% y 0.1% y 0 de etanol puro grado HPLC.

En el Cuadro 12 se observa que el destilado de la variedad de mango Haden tubo significativamente mayor porcentaje de etanol.

Cuadro 12. Efecto de los tipos sustratos en el porcentaje de etanol.

Muestra	% Área etanol *	% Cantidad etanol **	Grado alcohólico ***
Haden	98.73 ± 0.24 a	71.17 ± 0.12 a	44 ± 1.25 a
Semilla	98.24 ± 0.19 b	56.75 ± 0.12 b	38 ± 1.25 b
Palmer	98.26 ± 0.15 b	37.31 ± 0.09 c	31 ± 1.25 c
	Pr > F = 0.0042	Pr > F = 0.0001	Pr > F = 0.0001

* Área total del pico obtenido, conforma el total de etanol de todos los alcoholes presentes en el licor de mango.

** Las medias se expresan en % de etanol en 100 ml tomadas de 12 replicas.

*** Las medias se expresan en v/v a 25°C tomada de 12 replicas en grado Tralle.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

El Cuadro 13 muestra diferencias estadísticas en cuanto al porcentaje de etanol entre tratamientos ($P < 0.05$), siendo los tratamientos sin inóculo y sin tratamiento térmico los que produjeron destilados con mayor grado alcohólico y mayor porcentaje de etanol. Según Mercado (2006), se debe a la presencia de microflora nativa que se encuentra más adaptada al sustrato, la cual aumenta la eficiencia en transformar los azúcares en etanol. El tratamiento térmico pudo inhibir el crecimiento de dicha microflora nativa afectando el rendimiento de etanol.

Donath (1992), señala que la levadura *Sacharomyces cerevisiae* degrada la glucosa en dos componentes principales, 48% etanol y 46% CO_2 , siendo menos eficiente en la producción de etanol ya que una parte considerable de carbonos son producidos como CO_2 .

Cuadro 13. Efecto del tratamiento térmico e inoculación sobre el porcentaje de etanol.

Muestra	% Área etanol*	% etanol**	Grado alcohólico***
Sin inóculo	98.50 ± 0.06 a	59.53 ± 0.21 a	38 ± 1.25 a
Inóculo	98.31 ± 0.06 a	50.62 ± 0.17 b	37 ± 1.25 a
	Pr > F = 0.1824	Pr > F = 0.0001	Pr > F = 0.23
Muestra	% Área etanol*	% etanol**	Grado alcohólico***
Sin T. térmico	98.55 ± 0.07 a	59.22 ± 0.79 a	40 ± 1.25 a
Térmico	98.27 ± 0.06 b	50.93 ± 0.10 b	35 ± 1.25 b
	Pr > F = 0.022	Pr > F = 0.0002	Pr > F = 0.0001

* Área total del pico obtenido, conforma el total de etanol de todos los alcoholes presentes en el destilado de mango.

** Las medias se expresan en % de etanol tomadas de 18 replicas.

*** Las medias se expresan en v/v de alcoholes totales en grados Tralle a 25°C tomada de 18 replicas.

El Cuadro 14 muestra los 4 mejores tratamientos que produjeron destilados con mayor porcentaje de etanol, siendo la variedad Haden sin inóculo y sin tratamiento térmico el que generó un rendimiento mayor de etanol, 13.3% superior al segundo mejor tratamiento. Para las variedades no comerciales, el mango de semilla y Palmer sin inóculo y sin tratamiento térmico produjeron mayor cantidad de etanol.

Se observa que la variedad Haden sin inóculo y con tratamiento térmico tiene menor grado alcohólico que los tratamientos semilla y Palmer sin inóculo y sin tratamiento térmico, sin embargo tiene mayor porcentaje de etanol. Esto se debe a que el alcoholímetro mide los alcoholes totales y no es específico para el tipo de alcohol presente.

Cuadro 14. Tratamientos con mayor porcentaje de etanol

Muestra	% Área etanol*	% Etanol**	Grado alcohólico***
Haden (sin inóculo/sin tratamiento térmico)	99.08 ± 0.02 a	80.18 ± 2.68 a	56.6 ± 1.25 a
Haden (sin inóculo/ sin tratamiento térmico)	98.53 ± 0.02 a	77.61 ± 2.60 b	37.6 ± 1.25 c
Semilla (sin inóculo/ sin tratamiento térmico)	98.54 ± 0.02 a	63.91 ± 2.68 c	41.0 ± 1.25 b
Palmer (sin inóculo/ sin tratamiento térmico)	98.42 ± 0.01 ab	62.21 ± 2.68 c	42.6 ± 1.25 b

Pr > F = 0.0095. Hubo interacción entre los tratamientos.

* Área total del pico obtenido, conforma el total de etanol de todos los alcoholes presentes en el licor de mango.

** Las medias se expresan en % de etanol en 100 ml tomadas de 3 replicas.

*** Las medias se expresan en v/v de alcoholes totales en grados Tralle a 25 °C.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P < 0.05).

5. CONCLUSIONES

- El sustrato de la variedad Haden sin inóculo y sin tratamiento térmico produjo significativamente mayores porcentajes de etanol y metanol.
- El mango de la variedad Haden contiene significativamente más grados Brix y produjo un destilado con mayor grado alcohólico.
- Hubo un descenso en el pH en los sustratos sin inóculo y sin tratamiento térmico, por la presencia de bacterias heterofermentativas nativas del sustrato.
- Los destilados de los sustratos de la variedad Palmer tuvieron una gravedad específica superior y produjeron menor porcentaje de etanol y metanol.
- Los tratamientos sin inóculo y sin tratamiento térmico produjeron destilados significativamente mayores en porcentaje de etanol y de metanol.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios en Zamorano a nivel de planta enfocados al diseño de un bioreactor y sistemas de purificación destilación, rectificación y deshidratación, para la obtención de etanol absoluto.
- Estudiar la microflora nativa de los sustratos y tratar de aislar las cepas promisorias en la producción de etanol.
- Evaluar la obtención de etanol con bacterias nativas o recombinantes como *Zymomonas*, *E. coli*, *Bacillus* y levaduras nativas o recombinantes como *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Hansenulla* ya que estas toleran mayores concentraciones de etanol y sólidos.
- Asegurarse que las levaduras o bacterias que se utilicen para la fermentación del sustrato, sean adaptables al ph, sólidos, azúcares y temperatura del medio.
- Desarrollar un sistema de manejo y reutilización de desechos orgánicos en Zamorano encaminados a la producción de energía renovable.
- Estudiar las alternativas de obtener etanol a partir de materias de desecho existentes en Zamorano, como almidón ya sea de maíz, yuca, camote y material celulósico como madera y bagazo de caña.

302456

7. BIBLIOGRAFÍA

- AARTOM. 2004. El Alcohol (en línea). Consultado el 4 de septiembre del 2004. Disponible en: <http://www.aartom.tomelloso.es>
- Antón, E. 2003. Vinos y Ecologías (en línea). Consultado el 2 de septiembre del 2007. Disponible en: <http://www.apoloybaco.com/Aguardientes.htm>
- Avena, R.J.; Luh, B.S. 1983. Sweetened mango purees preserved by canning and freezing. *Journal of Food Science* 48:406
- Badger, C.; Banchemo, J. 1979. Introducción a la Ingeniería Química. Edit. Mc.Graw-Hill. México. 79p
- Castelazo, C.; Serna-González, M.; Saucedo-Luna, J; Castro-Montoya, A. 2006. Producción de etanol por fermentación de jugo de mango con *Saccharomyces Cerevisiae*. Disponible en: www.aiqu.org.uy/publicaciones/revistas/revistas/r30resumen.htm
- Censolar. 2007. Energías Renovables. (en línea). Consultado 21 de octubre del 2007. Disponible en: <http://www.energiasrenovables.com/páginas/ContenidoDiccionario.asp>
- Crane, J.H.; C.W. Campbell. 1999. Origin and distribution of tropical and subtropical fruits (en línea). Consultado 21 de octubre del 2007. Disponible en: www.miamidade.ifas.ufl.edu/pdfs/tropical_fruit/EL%20MANGO.pdf
- DEDINI S.A. Industrias Base. 2007. Azúcar a etanol. (en línea). Consultado 20 de octubre del 2007. Disponible en: <http://www.dedini.com.br/pt/aea.html>
- Donath, E. 1992. Elaboración artesanal de frutas y hortalizas. Ed. Acribia. Zaragoza España. p 135.
- FAO. 2003. Principales productores de mango a nivel mundial. Consultado 20 octubre 2007. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/unfao/bodies/ccp/ba-tf/04/j0773s.pdf>
- Galán, S.V. 1999. El cultivo de mango. Madrid. Ediciones Mundi-Prensa. p. 298
- Hernández, J. 2003. Etanol (en línea). Consultado 15 de octubre del 2007. Disponible en: http://www.atinachile.cl/content/view/33775/Biocombustibles_Etanol

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA), 2005. Control sanitario de las aguas y bebidas (en línea). Consultado el 11 de septiembre del 2005. Disponible en: <http://www.inha.sld.cu/vicedirecciones/aguasybebidas.htm>

Jagtiani, J.; Chan, J.; Sakai, W.S. 2007. Food Science and Technology.. A series of monographs, 1988, Academic Press, Inc. Consultado 15 de octubre de 2007. Disponible en: <http://wwwchem.uwimona.edu.jm:1104/lectures/mango.html>

Kalra, D.; Tandon, B.P.; Singh R.; 2003. Handbook of Fruit Science and Technology. Cultivares del Mango. D.K. Salunkhe. S.S. Kadam. 3era ed. U.S.A. Marcel. 611p.

Mercado, C. 2006. Rendimiento de etanol y producción de vinaza con sustratos para la fermentación de melaza con *Sacharomyces cerevisiae*. Tegucigalpa Honduras. 34 p.

Protrade. 1992. Hoja Técnica de variedades del mango. (en línea). Consultado 20 Agosto del 2007. Disponible en: http://www.proexant.org.ec/HT_Mango.html

Tempeh. 2005. Fermentación alcohólica (en línea). Consultado 15 de Octubre de 2007. Disponible: <http://www.tempeh.info/es/fermentacion-alcoholica.php>

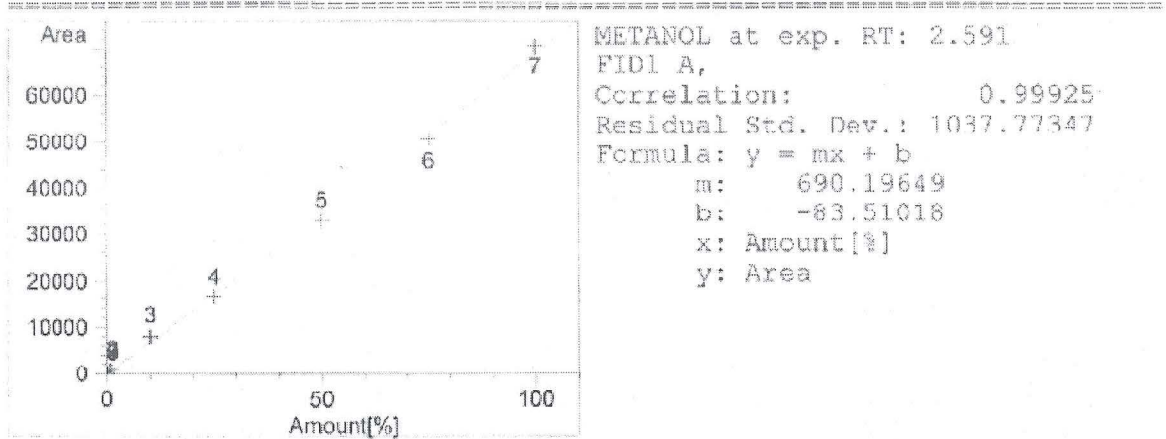
Wick, E. 1980. New vessel design for rapid, continuous fermentation. Advances in Agricultural Technology, ATT-W/ February, Washington, DC: USDA Science and Education Administration Wood, C. 1973. Recycling citrus waste water

Zonadiet. 2003. Bebidas alcohólicas destiladas (en línea). Consultado el 7 de septiembre del 2005. Disponible en: <http://www.zonadiet.com/bebidas/destilacion.htm#historia>

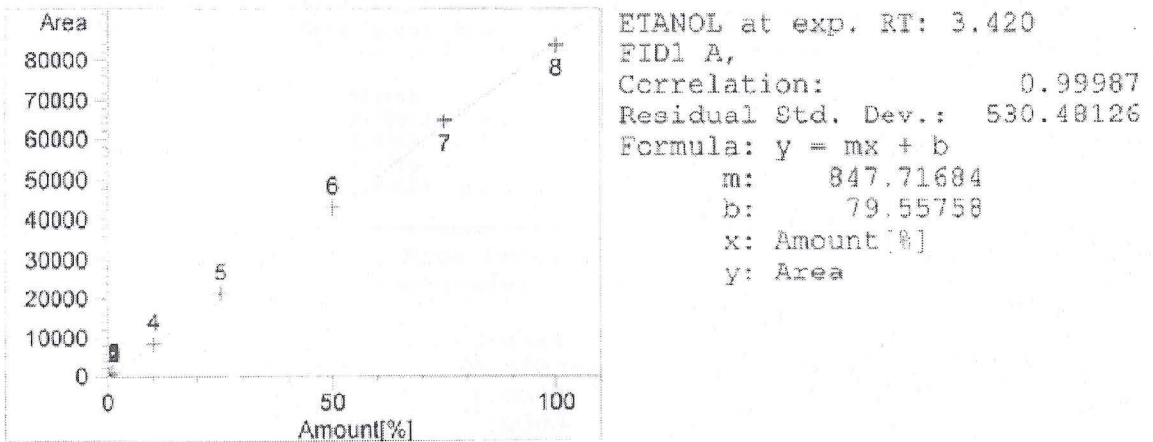
8. ANEXOS

ANEXO 1. Curva de calibración metanol.

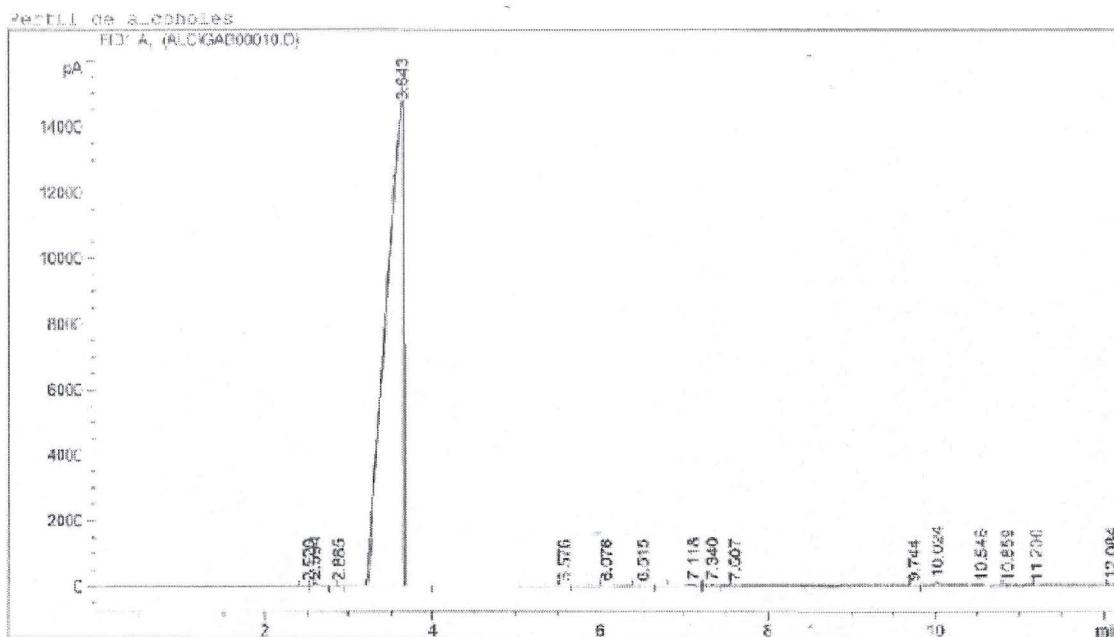
Calibration Curves



ANEXO 2. Curva de calibración etanol.



ANEXO 3. Perfil alcoholes mango Haden sin inóculo y sin tratamiento térmico.

=====
Area Percent Report
=====

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 23/09/2007 07:45:50 p.m.
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

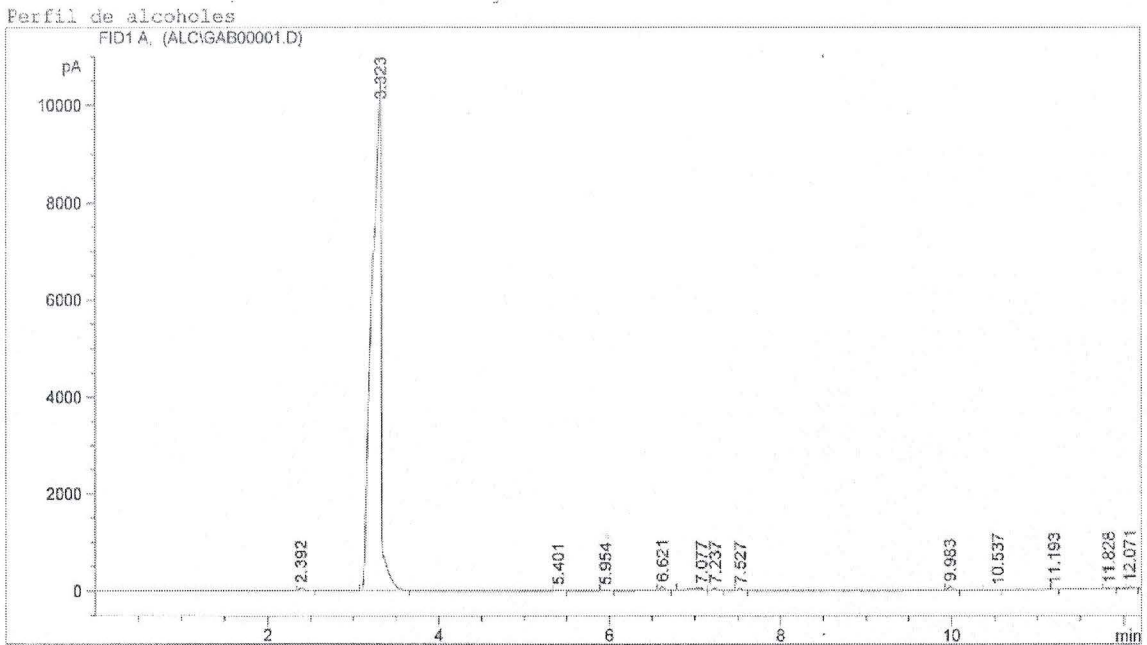
=====
Area Percent Report
=====

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 23/09/2007 07:45:50 p.m.
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %	Name
1	0.000		0.0000	0.00000	0.00000	
2	2.529	BV	0.0500	52.13043	0.02519	
3	2.594	VB	0.0557	391.53610	0.18923	
4	2.885	BB	0.0288	18.97471	0.00917	
5	3.643	PB	0.1601	2.05070e5	99.11093	
6	5.576	BP	0.0467	19.14919	0.00925	
7	6.076	BP	0.0519	48.80762	0.02359	
8	6.515	PB	0.0703	18.40611	0.00890	
9	7.118	BP	0.1126	364.77469	0.17630	

ANEXO 4. Perfil alcoholes mango semilla sin inóculo y sin tratamiento térmico.



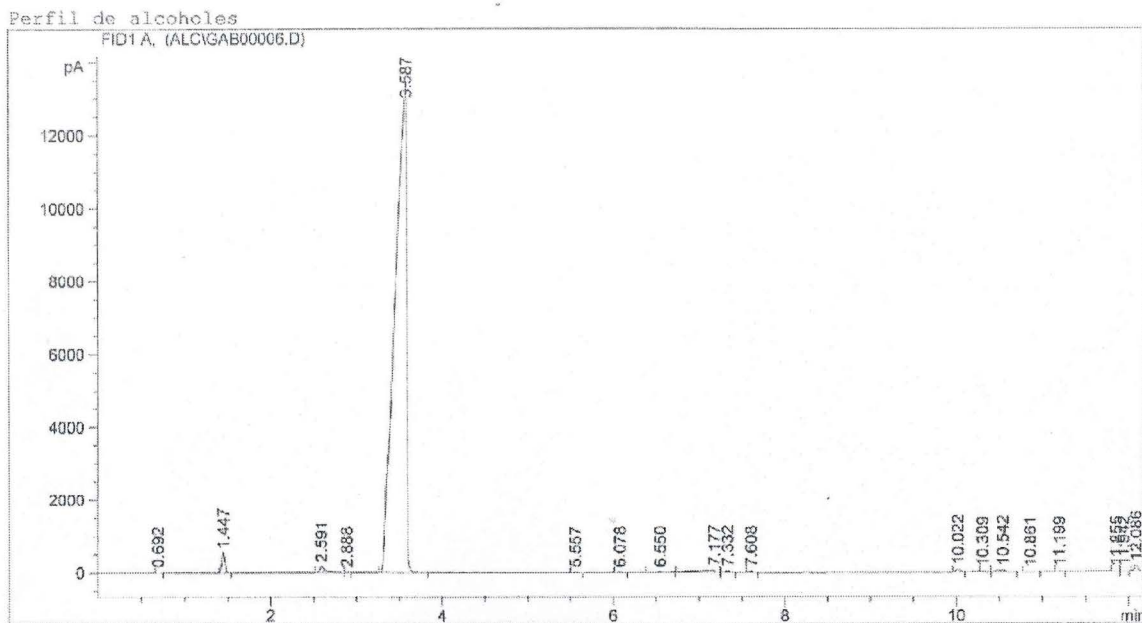
Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 23/09/2007 07:45:50 p.m.
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %	Name
1	0.000		0.0000	0.00000	0.00000	
2	2.392	PB	0.0458	211.26431	0.25955	
3	3.323	PB	0.0936	7.97963e4	98.03572	
4	5.401	PB	0.0496	49.71182	0.06107	
5	5.954	BB	0.0569	48.26218	0.05929	
6	6.621	PB	0.0494	232.21489	0.28529	
7	7.077	BP	0.1084	353.24298	0.43399	
8	7.237	VB	0.0518	142.21941	0.17473	
9	7.527	BB	0.0448	105.65387	0.12980	

ANEXO 5. Perfil alcoholes mango Palmer sin inóculo y sin tratamiento térmico



Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 23/09/2007 07:45:50 p.m.
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %	Name
1	0.000		0.0000	0.00000	0.00000	
2	0.692	PB	0.0323	4.96120	0.00384	
3	1.447	BB	0.0355	1193.15820	0.92278	
4	2.591	BB	0.0536	628.21283	0.48586	
5	2.888	BB	0.0294	10.69494	0.00827	
6	3.587	PB	0.1142	1.25290e5	96.89888	
7	5.557	PB	0.0475	16.98466	0.01314	
8	6.078	BB	0.0507	29.74389	0.02300	
9	6.550	BB	0.1529	136.33676	0.10544	