



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: MEDIO AMBIENTE

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
EN MEDIO AMBIENTE**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

APROVECHAMIENTO DEL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) COMO ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN LA CIUDAD DE CALCETA-BOLÍVAR-MANABÍ.

AUTORES:

**ENDARA CEDEÑO CARLOS ALEJANDRO
ZAMBRANO BRIONES GEMA ESTEFANÍA**

TUTOR:

ING. JONATHAN GERARDO CHICAIZA INTRIAGO, MSc.

CALCETA, FEBRERO 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

Carlos Alejandro Endara Cedeño con cédula de ciudadanía 1314752930 y **Gema Estefanía Zambrano Briones** con cédula de ciudadanía 1314770163, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Titulación titulado: **APROVECHAMIENTO DEL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) COMO ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN LA CIUDAD DE CALCETA-BOLÍVAR-MANABÍ** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.


CARLOS A. ENDARA CEDEÑO


GEMA E. ZAMBRANO BRIONES

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Jonathan Chicaiza Intriago, certifica haber tutelado la tesis **APROVECHAMIENTO DEL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) COMO ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN LA CUIDAD DE CALCETA - BOLÍVAR – MANABÍ**, que ha sido desarrollada por **Carlos Alejandro Endara Cedeño y Gema Estefanía Zambrano Briones**, previa la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



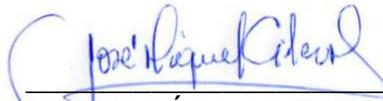
Ing. Jonathan G. Chicaiza Intriago, Mg.
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **APROVECHAMIENTO DEL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) COMO ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN LA CIUDAD DE CALCETA - BOLÍVAR – MANABÍ**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Carlos Alejandro Endara Cedeño y Gema Estefanía Zambrano Briones, previa la obtención del título de ingeniero de Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



ING. CARLOS A. VILLAFUERTE V., Mg. C.A.
MIEMBRO



ING. JOSÉ M. GILER M., MSc.
MIEMBRO



ING. CARLOS R. DELGADO V., Mg. C.A.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A Dios, por la vida, sabiduría e inteligencia que nos ha brindado y ha impulsado a seguir adelante a pesar de las adversidades y errores.

A nuestros padres por el apoyo y la paciencia en estos años de preparación.

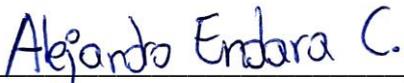
A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López por darnos la oportunidad de crecer como seres humanos a través de una educación superior de calidad.

A nuestros profesores, que transmitieron sus conocimientos que hoy nos consolidan como profesionales de Ingeniería en Medio Ambiente.

A nuestro tribunal por la paciencia y el tiempo que nos brindaron a lo largo de la realización de nuestro trabajo de titulación.

Agradecimientos especiales a nuestro tutor Ing. Jonathan Chicaiza por el apoyo otorgado en el transcurso de este trabajo.

A todos ustedes, gracias totales.


CARLOS A. ENDARA CEDEÑO


GEMA E. ZAMBRANO BRIONES

DEDICATORIA

Dedico este trabajo especialmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante en mi formación profesional.

A mis padres, Nexar Zambrano y Betsy Briones que han sabido formarme con buenos valores, hábitos y sentimientos, por ser el pilar más importante en el transcurso de mi vida, demostrándome su cariño y apoyo incondicional.

A mi abuelita, Margarita Mendoza por su apoyo incondicional durante estos años y estar conmigo siempre.

A mis hermanas Diana Zambrano y Naomi Zambrano por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral, que me han brindado a lo largo de esta etapa.

Y por último a mis amigas y amigos por confiar y ayudarme en cada decisión que he tomado en el camino, por apoyarme a crecer en el trayecto por esta vida.

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized, overlapping loops and a horizontal line at the bottom.

GEMA E. ZAMBRANO BRIONES

DEDICATORIA

A Dios, por darme fuerzas cuando más la he necesitado, por darme inteligencia y por haberme dado salud en el transcurso de mis estudios.

A mi madre Carmen Cedeño, por haberme brindado sus recursos, por hacer todo lo posible para darme los estudios de tercer nivel y por ello le dedico los triunfos que logre de aquí en adelante. La amo mamá y disculpe a veces por tan poco.

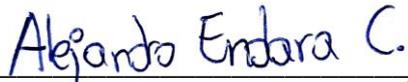
Al resto de mi familia; mi papa Carlos Endara, mi mamá (abuela) Aura Delgado, a mi hermana Karla Endara y mi sobrina Annien Carrillo, por apoyarme y guiarme, por ello quiero dedicarles este logro alcanzado en mi vida y poder ayudarlos cuando ellos también lo necesiten. Y también a mi abuelito Ernesto Endara, aunque no se encuentre físicamente conmigo, sé que en donde esté estará muy feliz de lo que he logrado.

A mi compañera de tesis Gema Zambrano, que en el transcurso de la carrera nos hicimos buenos amigos, siempre confió en mí, por ello espero que tenga muchos éxitos en su vida profesional y también gracias por ser esa compañera estricta y dedicada que me impulsaba a aprovechar más mi potencial.

A todos los docentes que pasaron a lo largo de mi trayectoria, por sus enseñanzas y conocimientos que me ayudarán en mi vida profesional.

A todos mis amigos y compañeros en Calceta, que siempre estuvieron en las buenas y en las malas, apoyándome en todas mis decisiones.

Y por último a mi grupo de amigos de Bahía de Caráquez "LOS CHOMPAS", por siempre motivarnos a salir adelante como profesionales y estar contentos en un futuro y decir ¡Lo logramos muchachos!, y que nunca falten las bromas y las noches de tertulias.



CARLOS A. ENDARA CEDEÑO

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
CONTENIDO GENERAL.....	viii
CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICOS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS.....	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
1.3. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. CACAO.....	5
2.1.1. MUCÍLAGO DE CACAO	5
2.1.2. EXTRACCIÓN DEL MUCÍLAGO DE CACAO.....	6
2.1.3. PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	7
2.1.4. PRODUCCIÓN DE CACAO EN ECUADOR	9
2.2. BIOMASA	9
2.2.1. RENDIMIENTO DE BIOMASA Y VALORACIÓN NUTRIMENTAL DE RESIDUOS POS COSECHA DE CACAO (<i>Theobroma cacao L.</i>).....	10

2.3. BIOCOMBUSTIBLE	11
2.3.1. ORIGEN DE LOS BIOCOMBUSTIBLES.....	11
2.3.2. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA PRODUCCIÓN Y EL USO DE BIOCOMBUSTIBLES.....	11
2.3.3. TIPOS DE BIOCOMBUSTIBLES	12
2.3.3.1. BIOETANOL	13
2.3.3.2. BIODIESEL.....	15
2.3.4. PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN EL MUNDO Y AMÉRICA LATINA	16
2.3.5. PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE EN ECUADOR	17
2.3.6. VOLÚMENES DE DESPERDICIO DEL MUCÍLAGO DE CACAO Y SU POTENCIAL APROVECHAMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE	18
2.4. EXTRACTO DE LEVADURA.....	19
2.5. MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN	20
2.5.1. DESHIDRATACIÓN SALINA	20
2.5.2. TAMICES MOLECULARES	21
2.6. ANTECEDENTES REFERENCIALES.....	22
2.6.1. DEMANDA ENERGÉTICA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MUCÍLAGO DE CACAO	22
2.6.2. OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO (<i>Theobroma cacao L.</i>) A TRAVÉS DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	22
2.6.3. RENDIMIENTO DE ALCOHOL DE MUCÍLAGO DE CACAO	23
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	25
3.1. UBICACIÓN	25
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO.....	26
3.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	26
3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	26

3.4.1. MÉTODOS	26
3.4.1.1. MÉTODO HIPOTÉTICO-DEDUCTIVO	26
3.4.1.2. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO	26
3.4.1.3. MÉTODO ESTADÍSTICO	27
3.4.2. TÉCNICAS	27
3.4.2.1. OBSERVACIÓN	27
3.4.2.2. REGISTRO DE DATOS O INFORMACIÓN	27
3.5. VARIABLES POR MEDIR	28
3.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	28
3.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE	28
3.6. FACTORES EN ESTUDIO	28
3.7. TRATAMIENTOS	28
3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL	29
3.9. UNIDAD EXPERIMENTAL	29
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
3.11. PROCEDIMIENTOS	30
FASE I. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA AZUCARADA DEL MUCÍLAGO DE CACAO QUE SE PUEDA CONVERTIR EN ALCOHOL POR LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA	30
Actividad 1. Toma de la muestra del mucilago del cacao en el centro de acopio “Fortaleza del Valle” de la Ciudad de Calceta	30
Actividad 2. Análisis de la muestra de mucilago de cacao	31
Actividad 4. Preparación de las unidades experimentales	32
Actividad 5. Obtención de alcohol anhidro	32
Actividad 6. Aplicación de deshidratación	32
FASE II. DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN Y LA CANTIDAD DE LEVADURA QUE MEJORE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO	34

Actividad 9. Análisis estadístico de los datos	35
FASE III. VALORACIÓN ECONÓMICA DE LOS TRATAMIENTOS CON MEJORES RENDIMIENTOS DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO	36
Actividad 10. Análisis de precio Unitario.....	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA AZUCARADA DEL MUCÍLAGO DE CACAO QUE SE PUEDA CONVERTIR EN ALCOHOL POR LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA.....	39
4.2. DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN Y LA CANTIDAD DE LEVADURA QUE MEJORE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO.....	40
4.2.1. pH.....	40
4.2.2. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL.....	42
4.2.3. OBTENCIÓN DE ALCOHOL EN RELACIÓN A LA BIOMASA	44
4.2.4. CONSUMO O RENDIMIENTO	46
4.2.5. GENERALIDADES DE LOS RESULTADOS.....	48
4.2.6. CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	50
4.3. VALORACIÓN ECONÓMICA DE LOS TRATAMIENTOS CON MEJORES RENDIMIENTOS DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO.....	51
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
5.1. CONCLUSIONES	55
5.2. RECOMENDACIONES	56
BIBLIOGRAFÍA	57
ANEXOS	67

CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICOS

TABLAS

Tabla 2. 1. Composición de la pulpa de las semillas de cacao.	6
Tabla 2. 2. Tipos, procesos y tecnologías aplicadas en los biocombustibles.....	13
Tabla 2. 3. Consumo de biocombustibles utilizados en el sector del transporte.	17
Tabla 2. 4. Características físico-químicas del extracto de levadura.	19
Tabla 3. 1. Coordenadas del área de trabajo.	25
Tabla 3. 2. Niveles en estudio por factores.	28
Tabla 3. 3. Tratamientos declarados en la investigación.....	29
Tabla 3. 4. Esquema de análisis de varianza del DCA.....	29
Tabla 3. 5. Delineamiento experimental.	30
Tabla 3. 6. Métodos de análisis a medir.....	31
Tabla 3. 7. Matriz de precios unitarios.....	38
Tabla 4. 1. Parámetros evaluados en las muestras de mucílago de cacao.....	39
Tabla 4. 2. ANOVA del pH.	41
Tabla 4. 3. ANOVA de la concentración de alcohol.	42
Tabla 4. 4. Prueba de Tukey de la interacción de los factores de la variable concentración de alcohol.....	43
Tabla 4. 5. Prueba de Tukey del factor L Extracto de levadura de la concentración de alcohol.....	43
Tabla 4. 6. Prueba de Tukey del factor D Métodos de deshidratación de la concentración de alcohol.....	43
Tabla 4. 7. ANOVA de la obtención de alcohol en relación a la bimasa.....	45
Tabla 4. 8. ANOVA del consumo o rendimiento.	46
Tabla 4. 9. Prueba de Tukey de la interacción de los factores de la variable de consumo o rendimiento.	47
Tabla 4. 10. Prueba de Tukey del factor L Extracto de levadura en la variable de consumo o rendimiento.	47
Tabla 4. 11. Prueba de Tukey del factor D Métodos de deshidratación en la variable de consumo o rendimiento.	47
Tabla 4. 12. Resultados de las muestras del laboratorio.....	49
Tabla 4. 13. Comparación de los tratamientos T ₂ , T ₄ y T ₆ sometidos a deshidratación por tamices moleculares.	50

Tabla 4. 14. Matriz de precio para la elaboración de bioetanol como combustible. .	52
Tabla 4. 15. Precio de venta	53
Tabla 4. 16. Comparación de precios biocombustibles de Ecuador, Colombia y Brasil.	54
Tabla 4. 17. Precios de combustibles convencionales Ecuador.....	54

FIGURAS

Figura 3. 1. Ubicación del proyecto de investigación, Fortaleza del Valle.....	25
Figura 3. 2. Esquema deshidratación por tamices moleculares.	33
Figura 3. 3. Esquema deshidratación salina.	33

GRÁFICOS

Gráfico 2. 1. Diagrama de flujo de la obtención de bioetanol a partir de diferentes materias primas.....	15
Gráfico 4. 1. Representación gráfica de los valores medios de pH.	41
Gráfico 4. 2. Representación gráfica de los valores medios de Concentración.	44
Gráfico 4. 3. Representación gráfica de los valores medios de relación biomasa. ..	45
Gráfico 4. 4. Representación gráfica de los valores medios de Rendimiento.	48

RESUMEN

El presente estudio tuvo como finalidad evaluar el aprovechamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*) como alternativa para la obtención de biocombustible en la ciudad de Calceta - Manabí. Para ello se tomó como punto de partida la generación considerable de desperdicio de este residuo proveniente de la actividad cacaotera, lo que ocasiona contaminación de agua y suelos. La investigación se llevó a cabo bajo los delineamientos del DCA, planteando como factor L la proporción de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*): 0,5 kg, 0,1 kg y 0,025 kg. Y como factor D, dos métodos de deshidratación: destilación salina y a tamices moleculares, la interacción generó seis tratamientos, repitiéndose cada uno 3 veces. Esto permitió deducir que existió variabilidad en los promedios de los seis tratamientos, en la variable pH el promedio osciló entre 5,04 y 5,86; en la concentración de alcohol entre 51,33% y 83%; en la obtención de alcohol en relación a la biomasa entre 46,33 ml y 76,67 ml; y en consumo o rendimiento entre 35,93% y 58,1%. Pudiendo así concluir que el tratamiento con mejores indicadores fue el T₆ con extracto de levadura de 0,025 kg y sometido a deshidratación por tamices moleculares, siendo de este modo el de mayor factibilidad para la obtención de biocombustible al presentar niveles óptimos. En cuanto a la valoración económica se determinó un costo de producción de bioetanol a partir de mucílago de cacao de \$3,54 por L y un precio de venta de \$4,13 con un margen de ganancia del 15%.

Palabras clave: Mucílago, cacao, producción, biocombustible, etanol.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to evaluate the use of cocoa mucilage (*Theobroma cacao* L.) as an alternative for obtaining biofuel in the city of Calceta - Manabí. For this, the considerable generation of waste of this residue from the cocoa activity was taken as a starting point, which causes contamination of water and soils. The research was carried out under the guidelines of the completely randomized design (CRD), considering as factor L the proportion of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): 0.5 kg, 0.1 kg and 0.025 kg. And as factor D, two dehydration methods: saline distillation and molecular sieves, the interaction generated six treatments, each repeated 3 times. This allowed us to deduce that there was variability in the averages of the six treatments, in the pH variable the average ranged between 5.04 and 5.86; in the alcohol concentration between 51.33% and 83%; in obtaining alcohol in relation to biomass between 46.33 ml and 76.67 ml; and in consumption or performance between 35.93% and 58.1%. This allowed to conclude that the treatment with the best indicators was T₆ with yeast extract of 0.025 kg and subjected to dehydration by molecular sieves, thus being the one with the highest feasibility for obtaining biofuel as it presents optimal levels. Regarding the economic valuation, a cost of bioethanol production from cocoa mucilage of \$ 3.54 per L and a sale price of \$ 4.13 with a profit margin of 15% was determined.

Keywords: Mucilage, cocoa, production, biofuel, etanol

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Debido al incremento del uso de vehículos se ha acrecentado la producción de combustibles, lo que como efecto genera una mayor emisión de gases de efecto invernadero (GEI), situación que ha sido motivo de exhaustivas indagaciones a fin de sustituir o disminuir la utilización de estos derivados del petróleo. Para lo cual se ha pretendido impulsar el uso de biocombustibles de segunda generación que tiene como base, el empleo de residuos de cultivos o productos no alimentarios (Hackenberg, 2008).

En lo que respecta al Ecuador, se ha tratado de mitigar esta situación a través de un sistema de fácil adaptación, donde el alcohol etanol producto de la fermentación de la caña de azúcar es agregado a la gasolina tradicional, pero Navas (2014) menciona que su producción no es suficiente para cubrir con la demanda nacional, del mismo modo que no es posible aumentar el porcentaje de este componente en el combustible.

Bajo esta premisa se deduce que el problema de estudio se centra en la limitación de alternativas que permitan sustituir el uso de combustibles fósiles por combustibles menos contaminantes, del mismo modo se desconoce en qué medida el aprovechamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*), puede aportar a la solución de este escenario.

Con respecto a este último, se debe mencionar que el Ecuador ha sido históricamente un país cacaotero, lo cual se sustenta en lo expuesto por Arteaga (2013) quien expuso que para 2004 el territorio nacional contaba con una superficie de 3'362.123 hectáreas sembradas de este producto, además de ello dio a conocer que dentro del tratamiento post cosecha se tiende a desperdiciar en gran medida el mucílago de cacao, ocasionando contaminación del agua y suelo, lo que se debe principalmente al desconocimiento técnico de los agricultores, originado por la ausencia de programas públicos o privados que promuevan el manejo adecuado y los múltiples beneficios de este residuo, sumado a que no existen empresas que lo demanden como materia prima.

Además de los argumentos antes descritos, Luna (2018) dio a conocer que un biocombustible a partir de la fermentación de materias primas con alto contenido de hidratos de carbono, tiene una alta adaptabilidad al sistema convencional. Del mismo modo se expone que el néctar bebible del mucílago de cacao, que no tiene ningún uso dentro de la industria, es considerado para la producción de biocombustibles de segunda generación, presentándose como una alternativa sustentable para un mejor aprovechamiento de este residuo (Puerari *et al.* 2012).

En el caso de Manabí y específicamente en el centro de acopio “Fortaleza del Valle” se produce una cantidad considerable de mucílago de cacao producto de la actividad agroindustrial, residuo que, debido al desconocimiento en su manejo y optimización, es vertido en cisternas convirtiéndose en ácido acético que contamina agua y suelos, produciéndose como efecto una contaminación cruzada en este territorio. Esto se deriva también por la limitada aplicación de la normativa ambiental por parte de la gestión administrativa y operacional del centro de acopio “Fortaleza del Valle”, además de no contar con políticas internas de mitigación que orienten hacia un adecuado control, prevención y manejo de este tipo de residuos.

De acuerdo con los razonamientos antes enunciados, ha sido necesario plantear la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué alternativa sustentable se puede generar con los residuos de cultivos con alto contenido de hidrato de carbono, que no son utilizados y producen contaminantes al suelo y al agua?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Debido a que el Ecuador es un país cacaotero por excelencia resulta imprescindible el desarrollo de estrategias que permitan mejorar la productividad de este sector, sin que ello incurra en una afectación al medio ambiente, desde dicho planteamiento, el presente trabajo se justifica de manera práctica, al permitir aprovechar el mucílago de cacao que es actualmente desperdiciado por los agricultores, como elemento para la obtención de biocombustible de segunda generación (Carrera, 2016).

Por lo tanto, a través del desarrollo del presente proyecto se busca reorientar a la industria cacaotera hacia la tendencia de no desperdicio, lo cual se logrará únicamente induciendo al conocimiento del debido manejo y tratamiento del mucílago de cacao, que, al ser un producto con potencial dentro del desarrollo de biocombustible, puede generar importantes beneficios económicos, sociales y ambientales para los productores y la comunidad (Puga, 2019). Dicho de otra forma, resulta un estudio de gran trascendencia dentro de la búsqueda de utilidad al mucílago, puesto que contrarrestaría la contaminación cruzada, permitiendo a su vez la generación de ingresos (Pezo, 2015).

En concordancia con ello, se debe mencionar que actualmente existe una alta dependencia de combustibles fósiles en el país, lo que requiere una respuesta inmediata dentro de la mitigación de los efectos que estos causan al medio ambiente, por ello es responsabilidad del Estado, las empresas y la academia, promover el uso de fuentes energéticas alternativas y renovables. Dentro de este fin se ha considerado el uso de la biomasa como mecanismo a ser evaluado como parte de la producción de dichas energías, lo cual demanda de un análisis profundo, con evidencia empírica y sustancial (Núñez, 2012).

Dentro de este análisis se ha establecido un diseño experimental que permita alcanzar altas concentraciones de bioetanol, buscando profundizar en los parámetros cinéticos de la fermentación, con modelos que orienten a predecir y mejorar rendimientos (Delgado *et al.* 2018).

La factibilidad del estudio se sustenta en primera instancia desde el ámbito legal, pues el país forma parte de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de la ONU (Organización de las Naciones Unidas) en la cual se han trazado una serie de objetivos, entre ellos, el garantizar que todas las personas puedan acceder a energías de vanguardia, seguras y sostenibles (Organización de las Naciones Unidas, 2017).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1.OBJETIVO GENERAL

Aprovechar el mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*) como alternativa para la obtención de biocombustible a partir de levaduras y métodos de deshidratación.

1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterización de la materia azucarada del mucílago de cacao que se pueda convertir en alcohol por la fermentación anaeróbica.
- Determinación del método de deshidratación y la cantidad de levadura que mejore la producción de bioetanol a partir del mucilago de cacao.
- Valoración económica de los tratamientos con mejores rendimientos de bioetanol a partir del mucilago de cacao.

1.3. HIPÓTESIS

El método de tamices moleculares y de extractos de levadura influirá en la producción de etanol, potencializando la producción de biocombustible a base de mucílago de cacao.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CACAO

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es un producto agrícola del cual se genera una gran cantidad de residuos en la industria cacaotera nacional, entre estos el mucílago, representando así una materia prima de gran potencial para la obtención de bioetanol al contener azúcares fermentables y contar con un importante hectareaje en gran parte del territorio ecuatoriano (Delgado *et al.* 2018).

Según se ha podido evidenciar, existen diversas investigaciones que proponen la utilización del mucílago de cacao para la obtención de biocombustible, Balladares *et al.*, (2016) por ejemplo, indicó que el mucílago de cacao posee características físicas y químicas (°Brix 19.6°, pH 3.58) óptimas para utilizarse como materia prima para la producción de bioetanol.

Angulo (2017) por su parte, explicó que el posible aprovechar el mucílago de cacao para elaborar bioetanol, siempre que se controle la concentración de levaduras al 0%, 0,05% y 0,01%, y regulando el contenido de los grados alcohólicos para la obtención de un biocombustible con características físicas y químicas aceptables.

En concordancia con estos criterios, Vera y Zambrano (2018) explicaron que para el 2014 la producción de cacao se situó en 240.000 TM, de la cual el 59% correspondió a mucílago no destinado a la producción industrial, es decir que 141.600 TM de residuo se queda en el campo. Dicha cantidad resultante de la actividad cacaotera equivale a 12.320 TM de azúcares reductores. Tomando en cuenta una eficiencia de conversión, de tan solo el 60% de los azucares presenten en el mucílago permitirían producir 1'261.450 gal de etanol hidratado (4- 5% de agua).

2.1.1. MUCÍLAGO DE CACAO

Márquez y Salazar (2015) explican que el mucilago de cacao es una sustancia que cubre a las semillas de este fruto, cuyos componentes aromáticos, de azúcar y pH provienen de sus tegumentos, conformados por células esponjosas parenquimatosas (Arteaga, 2013). Este residuo se ha implementado en la actividad industrial de

diversos países, tales como Brasil, Costa Rica, Colombia, entre otros; con la finalidad de obtener productos derivados entre los que se pueden mencionar: saborizantes, jaleas, nata y fertilizantes (Vallejo *et al.*, 2015). Con base en lo antes mencionado, se puede deducir que debido a los niveles de azúcares contenidos en este subproducto, es viable obtener bioetanol aplicando métodos controlados de fermentación.

En lo que concierne al rendimiento, desde un enfoque técnico se considera que, de 100 kg de semillas de cacao, el 85% se encuentra representado por la almendra, mientras que el 15% se considera desperdicio (mucílago, granza, triturado), dentro de dicho desperdicio el 12% corresponde al mucílago (Magap-Promsa, 2019).

En la tabla 2.1 se muestran los componentes y valores de la semilla de cacao pre y post fermentación:

Tabla 2. 1. Composición de la pulpa de las semillas de cacao.

Componentes	Antes de la fermentación (%)	Después de la fermentación (%)
Agua	82-87	45-47
Sacarosa	12	0
Ácido cítrico	1-2	0,5
Pectina	1-1,5	-
pH	3,7	6,5
Alcohol etílico	-	0,5
Ácido acético	-	1,6

Fuente: Tenesaca (2019).

2.1.2. EXTRACCIÓN DEL MUCÍLAGO DE CACAO

De acuerdo con Guncay y Silva (2018) para la extracción de mucílago es preciso llevar a cabo el siguiente procedimiento:

- a) Recepción de las mazorcas cacao obtenidas del campo.
- b) Clasificación de las mazorcas separando las que se encuentran en óptimo estado.
- c) Lavado de las mazorcas para eliminar impurezas.
- d) Extracción de las semillas de cacao, para ello se cortan las mazorcas por la mitad.
- e) Se procede a quitar las venas alrededor de los granos de cacao.
- f) Recolectar las semillas con mucílago.

- g) Ablandamiento del mucílago utilizando una mezcladora de paletas.
- h) Fluidificar los granos de cacao obteniendo el mucílago como producto principal.
- i) Pasteurizar el líquido extraído, luego ponerlo en un recipiente y aspirar.
- j) Emplear el proceso de fermentación.
- k) Almacenar correctamente.

2.1.3. PROCESO DE FERMENTACIÓN

El proceso de fermentación consiste en transformar cuantitativamente a la glucosa en etanol y dióxido de carbono (CO₂) (González *et al.* 2015). La fermentación del alcohol se da en ausencia de aire, debido a las actividades de los microorganismos que convierten los carbohidratos en productos terminados, como los mencionados anteriormente, mismos que se manifiestan en forma de gas y moléculas de ATP. Según ha manifestado Gay-Lyssac la ecuación general para la fermentación es convertir un mol de glucosa en un derivado de dos moles de alcohol y dos moles de CO₂ (Luzuriaga, 2012).

Glucosa → Etanol + Gas Carbónico + Calor



Ejemplificando con las semillas de cacao, dentro de este proceso los microorganismos representan un papel esencial, puesto que participan activamente. En una primera etapa se convierten los azúcares en alcohol etílico esto empleando levaduras de los géneros *Cándida* (*Dedaryomyces*, *Hansenulaa*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* y *Torulopsis*). Cabe indicar que en casos donde existe un medio de cultivo rico en azúcar, su conversión en alcohol provoca que las levaduras no sobrevivan a una determinada concentración (Márquez y Salazar, 2015).

En lo que respecta a la fermentación anaeróbica del mucílago de cacao, este proceso se lleva a cabo considerando un pH de 3,7 considerando su alto contenido en ácido cítrico y bajo contenido en oxígeno, lo cual propicia el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y por ende la producción de etanol. Inicialmente las levaduras tienen mayor presencia con respecto al resto de la población microbiana e

incrementan los azúcares presentes en la pulpa o exudado, de forma posterior el ácido cítrico propio de dicha pulpa es metabolizado por los organismos del ácido láctico (Tenesaca, 2019).

En este proceso, la masa que se fermenta tiene una mayor absorción de oxígeno, lo que brinda las condiciones adecuadas para el crecimiento de microorganismos (Márquez y Salazar, 2015). Dentro de esta fase la combinación de ácido acético y calor mata la almendra e inhibe la germinación, a su vez, se genera un proceso de exudación en el que por efecto de gravedad la baba mucilaginosa desciende al fondo del contenedor en el que se realiza la fermentación (Luzuriaga, 2012).

Durante la fermentación de alcohol se produce una reacción moderadamente exotérmica, aumentando la temperatura de la masa entre los 35°C y 40°C, esta fase culmina una vez se hayan consumido los azúcares de la pulpa y hayan muerto los microorganismos, principalmente de las levaduras, lo que permita alcanzar una concentración de 12% a 15% de alcohol (Luzuriaga, 2012).

El proceso de fermentación puede ejecutarse de diversas formas, pero con un patrón en común que es el de obtener la cantidad adecuada de almendras frescas, para de esta manera propiciar a la producción de calor por parte de los microorganismos, lo que evita a su vez la circulación excesiva de aire. La duración de este proceso depende de factores como la cantidad de pulpa que contienen las semillas, baja acidez, entre otros (Márquez y Salazar, 2015).

Según las bases teóricas, Gay Lussac establece un rendimiento en la fermentación de 0,511 g de etanol y 0,489 g de CO₂ por cada 1 g de glucosa, aunque se considera baja la probabilidad de obtener dicho rendimiento en la práctica, esto debido a que es necesaria la absorción de glucosa para la generación de otros metabolitos. En ese sentido se evidencia que el rendimiento experimental dista del teórico, situados entre 0,469 a 0,485 g/g lo que refleja una variación de 90% a 95%. En el plano industrial, este rendimiento puede alcanzar variaciones de entre el 87% y 93% en comparación al teórico (Gbohaida *et al.*, 2016).

2.1.4. PRODUCCIÓN DE CACAO EN ECUADOR

Como se mencionó con anterioridad, para el año 2014 la producción de cacao en el Ecuador fue de 240.000 TM (Vera & Zambrano, 2018), según cifras del INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos) para el 2016 la producción de cacao en el país se situó en 177.551 TM, para el 2017 alcanzaba las 205.955 TM y en el 2018 alcanzó las 287.000 TM, para el 2020 se estima que la producción alcance las 300.000 TM (CFN, 2018; CAF, 2019; Cobos, 2019).

Con base a estas cifras, se deduce que la producción cacaotera representa un rubro importante para la economía del país, principalmente por su aporte a la generación de empleos y los volúmenes de exportaciones, dinamizando así la economía popular y solidaria de quienes forman parte de este sector (Vera *et al.*, 2015).

Cabe indicar que la producción se relaciona directamente con las condiciones medioambientales, representando un factor importante en el incremento del rendimiento del cacao. En el Ecuador se cultivan dos variedades de este fruto:

- **Cacao CCN-51:** Se caracterizan por su color rojizo en las etapas de desarrollo y madurez, posee cantidades considerables de grasa, es el de mayores niveles de producción en el país (Terenzi, 2017); con una representación total del 30% del cacao cultivado en el Ecuador (Quizhpi, 2016).
- **Cacao Nacional:** Se conoce también como el cacao fino y de aroma, posee gran reconocimiento a nivel internacional debido a su calidad, por lo que es el producido emblemático del país en la categoría de bienes tradicionales (Villamar *et al.* 2016).

2.2. BIOMASA

La biomasa es una sustancia capaz de transformarse en combustible y producir energía. Es considerada la masa total de toda materia de la que se compone un organismo, población o ecosistema, se caracteriza por mantenerse más o menos constante. Otros criterios concuerdan con que es un elemento útil en cuestiones energéticas, por medio de lo cual las plantas captan energía a través de la fotosíntesis, la cual se almacena a modo de materia orgánica (Paredes, 2015).

2.2.1. RENDIMIENTO DE BIOMASA Y VALORACIÓN NUTRIMENTAL DE RESIDUOS POS COSECHA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)

Ruales *et al.* (2011) expresaron que el cultivo de cacao se enmarca en un sistema agroforestal caracterizado por ser grandes generadores de biomasa. En este sentido, Arteaga (2013) añade que el cacao presenta un buen rendimiento de pulpa o mucílago, del cual se obtiene la biomasa, según se da a conocer, de 800 kg de semillas se pueden obtener aproximadamente 40 L de pulpa.

De acuerdo con Luna (2018) y según se ha mencionado anteriormente, existe contradicción entre el rendimiento teórico y el experimental, por un lado se sostiene que el rendimiento teórico suele ser de 0.511 g de etanol y 0.489 g CO₂ por cada 1 g de glucosa, pero existe variación de entre 90% y 95% de esto en el plano experimental. Lo mismo sucede en la práctica, donde se alcanzan rendimientos que varían entre un 87% y 93% del teórico.

En un estudio experimental desarrollado por Tenesaca (2019) pudo evidenciar que por cada hectárea de cultivo de cacao se puede alcanzar un rendimiento de 630 L de mucilago de cacao fermentable.

Por otra parte, Salazar (2016) llevó a cabo una investigación para determinar el rendimiento de la biomasa en cultivo de cacao, llegando a reconocer una diferencia ($P=0.0001$) entre tratamientos siendo el de mayor número de mazorcas T1 (53,3 kg/ha) con respecto a T2 (6,1 kg/ha). Mientras que, para el peso de la mazorca, peso del maguey, y peso total de la biomasa se observó diferencia ($P=0,0001$) entre tratamientos, observándose que el mayor peso de la mazorca, del maguey y el peso total de la biomasa lo obtuvo T1 (33,8, 2,0 y 35,9 kg/ha respectivamente). Con relación a la composición química de la cascara de la mazorca de cacao no se observó diferencia significativa ($P>0,05$) entre tratamientos para ninguno de los parámetros en estudio (MS, MO, PC, FDN, FDA y Cenizas).

2.3. BIOCOMBUSTIBLE

De acuerdo con Espinoza *et al.*, (2015) los biocombustibles hacen referencia a todos aquellos combustibles obtenidos a partir de biomasa. Entre los de mayor notoriedad se encuentran el bioetanol, biodiesel y el biogás, siendo los dos que se mencionan en primera instancia, los de mayor producción y uso en el mundo. El bioetanol se obtiene a partir de una serie de productos agrícolas entre los que destacan el maíz, caña de azúcar, remolacha y cereales, el biodiesel por su parte se obtiene de aceites vegetales, principalmente de la canola y soya.

Desde los inicios de la humanidad hasta la era moderna se han podido evidenciar las pugnas de las distintas industrias por el dominio del poder energético, viéndose comprometido así el propósito de competitividad económica, debido a la escasez de combustibles en el mundo, cuya producción se encuentra controlada por países como Rusia, Irán, Venezuela, Arabia Saudita, entre otros. Ante esta situación se han generado nuevas alternativas de combustibles biológicos, con los que se pretende cubrir las necesidades energéticas de países no productores, particularmente de los pertenecientes a América Latina e India (Morelos, 2016).

2.3.1. ORIGEN DE LOS BIOCOMBUSTIBLES

La producción de biocombustibles surgió a finales del siglo pasado como una estrategia que buscaba mitigar la crisis de producción de combustibles fósiles y sus efectos negativos al medio ambiente, a la vez que se promocionaba el desarrollo de energías renovables, limpias y sustentables que tenían como base la utilización de cultivos y sus derivados. A pesar de ser inicialmente pactada como una estrategia global, ha predominado el modelo de producción a gran escala, favoreciendo a países centrales y multinacionales, generándose un mínimo desarrollo social y eco sistémico de países en vías de desarrollo. (Agüero *et al.*, 2015).

2.3.2. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA PRODUCCIÓN Y EL USO DE BIOCOMBUSTIBLES

Las ventajas de los biocombustibles se centran principalmente en el beneficio ambiental, porque permiten reducir la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), en una comparativa con los combustibles convencionales se ha conocido que por

medio del etanol se reducen en al menos un 12%, mientras que con el biodiesel hasta en un 46%. Además de ello, los GEI liberados por los biocombustibles no causan grandes daños al medio ambiente, puesto que la cantidad de CO₂ que se emite durante su utilización, es la misma que requieren las plantas para la producción de glucosa y liberación de oxígeno (Espinoza *et al.* 2015).

De acuerdo con Álvarez *et al.* (2012) la producción de biocombustibles ofrece un importante número de ventajas tales como: fuente de energía renovable y limpia, promueven la diversificación y por ende a la transición energética, impulsan el desarrollo tecnológico y revitaliza las economías rurales.

Para el Grupo de alto nivel de expertos (HLPE, 2013) una de las ventajas de los biocombustibles es su capacidad de valorizar las plantas perennes. Sin embargo, el uso de estas puede representar una desventaja en cuanto a flexibilidad desde el punto de vista de la utilización de la tierra.

De acuerdo con este último, Young y Steffen (2009) mencionan que esta alta utilización de tierra para cultivos destinados a biocombustibles contribuye a la deforestación y por ende al calentamiento global. En este sentido se evidencia una contradicción, puesto que los biocombustibles se denominan “verdes” porque contrarrestan las emisiones de CO₂ proveniente de combustibles fósiles, pero que en sentido de sobreutilización podrían provocar deforestaciones.

Otra de las desventajas que se ha registrado corresponde a que la producción a gran escala de biocombustibles acarrea altos costos económicos si se la compara con la de los combustibles fósiles, inclusive se ha dado a conocer que podría duplicar el costo en comparación con estos últimos (Dufey, 2006).

2.3.3. TIPOS DE BIOCOMBUSTIBLES

Los principales biocombustibles se clasifican en dos tipos: de primera y segunda generación, aunque también existen de tercera y cuarta generación (Cortés *et al.* 2019). Entre los de primera generación se destacan: el bioetanol, el biodiesel y el biogás (Morelos, 2016).

El bioetanol es generado durante la fermentación de azúcares por microorganismos llamados levaduras, para esto se hace uso de especies vegetales como la caña de azúcar; el sorgo dulce, el maíz, entre otras (Díaz, 2017). El biodiesel se deriva de biomasa oleaginosas como grasas y aceites de desecho y no oleaginosas como la madera, paja y residuos orgánicos (Morelos, 2016). El biogás por su parte corresponde a una mezcla de distintos gases generados por la descomposición anaeróbica de materia orgánica, como pueden ser el estiércol y residuos orgánicos (Severiche y Acevedo, 2013).

En cuanto a los biocombustibles de tercera generación, corresponden a biomasa derivada de cultivos específicos, como microalgas. Los de cuarta generación están basados en ingeniería metabólica de microorganismos (Alder, 2018).

En la tabla 2.2 se presenta la clasificación, así como las tecnologías empleadas en la obtención de los biocombustibles (Morelos, 2016).

Tabla 2. 2. Tipos, procesos y tecnologías aplicadas en los biocombustibles.

Tipo		Insumo	Proceso conversión	Utilidad
Biocombustibles líquidos de primera generación	Bioetanol	Caña de azúcar y almidones	Fermentación	Transporte
	Biodiesel	Oleaginosas, micro algas, grasas vegetales y animales	Esterificación	Transporte
Biocombustibles líquidos de segunda generación	Bioetanol	Lignocelulosa, pasto, residuos agrícolas y forestales	Hidrólisis, gasificación (Fischer-Tropsch)	Transporte
	Biodiesel	Biomasa	Gasificación (Fischer-Tropsch)	Transporte y generación de electricidad

Fuente: Morelos (2016).

2.3.3.1. BIOETANOL

A criterio de Andrade *et al.* (2017) en un contexto mundial, el bioetanol representa el principal biocombustible obtenido a través de fermentación alcohólica. Que se emplea ya sea como aditivo de la gasolina o en estado puro. A nivel comercial, se encuentra de la siguiente manera:

- a) **E5.** Mezcla de 5 % de etanol y 95 % de gasolina. Este es el porcentaje de mezcla permitido por la regulación europea.

- b) **E10.** Mezcla de 10 % de bioetanol y 90 % de gasolina corriente. Su uso se extiende mayormente en los EE. UU., y la principal ventaja es que no se precisa modificación alguna en los vehículos.
- c) **E85.** Se compone de 85 % de bioetanol y 15 % de gasolina. Su uso se extiende a vehículos de motores especiales, principalmente en países como EE. UU., Brasil y Suecia.
- d) **E95 y E100.** Se caracteriza por estar compuesta entre un 95% y 100% de etanol según corresponde, Su uso al igual que el anterior se extiende a vehículos de motores especiales (Escalante y Fuentes, 2013, p. 7).

Para llevar a cabo la producción de bioetanol se siguen cuatro etapas:

a) Acondicionamiento de la materia prima,

Para esta primera etapa se recibe la materia prima, se la clasifica y se retiran los residuos, en algunos casos se suele realizar un lavado previo para eliminar impurezas (Montoya,2005).

b) Fermentación de azúcares, para este proceso se utilizan levaduras con la finalidad de transformar la materia azucarada en alcohol etílico y CO^2 (Andrade *et al.* 2017).

c) La destilación, en esta etapa se procede a eliminar el agua presente en el combustible, para lo cual se lleva a cabo el calentamiento de la masa provocando la evaporación (Garea, 2017).

d) Separación en la destilación

En la separación se encuentra la sal diluida a una concentración cercana a su punto azeotrópico 95,57%, para este proceso se recurre a la destilación con tamices moleculares. La destilación y la adsorción con tamices moleculares se usan para recuperar el etanol al 99,5%, para dicha recuperación se consumen entre el 50% y 80% de la energía necesaria dentro del proceso de obtención de bioetanol (Szitkal, 2002).

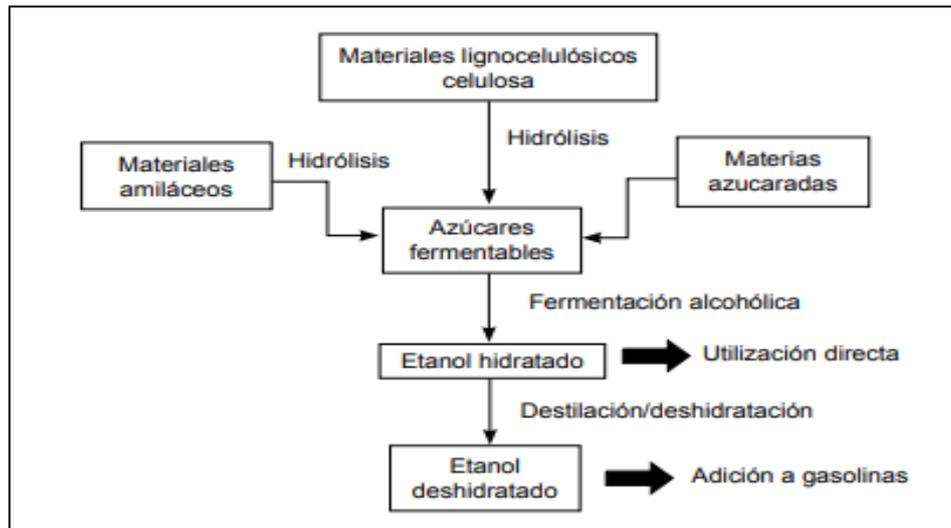


Gráfico 2. 1. Diagrama de flujo de la obtención de bioetanol a partir de diferentes materias primas.

Fuente: (Andrade *et al.* 2017).

Es importante tomar a consideración el etanol puede ser obtenido mediante distintos tipos de biomasa. Con la caña de azúcar, por ejemplo, en la etapa de fermentación se logra obtener azúcares y lignina solubles en agua, este último suele emplearse como combustible sólido. Se debe añadir además que durante este proceso se deben implementar operaciones unitarias para eliminar el agua presente producto de la fermentación, a la cual se le puede dar un uso posterior como aditivo oxigenante (Andrade *et al.* 2017, p. 105).

2.3.3.2. BIODIESEL

El biodiesel es considerado un combustible líquido que se obtiene tomando como base aceites de origen vegetal, animal o usados en otras industrias, químicamente se compone de una combinación de cadenas largas de ácidos grasos denominados también ésteres monoalquílicos o metil ésteres de ácidos grasos. Para su comercialización se realizan mezclas con el diésel tradicional y las proporciones en porcentajes de dichas mezclas dependen de los lineamientos legales de cada país (Andrade *et al.* 2017, p. 103). Peyton (2016) detalla las mezclas más usadas y sus principales características:

- a) **B5.** Su composición es 5 % de biodiesel y 95 % de diésel. Se considera de beneficio para los motores, brinda una adecuada lubricación interna, sin que registren problemas relacionado a su operación
- b) **B20.** Se compone de 20 % de biodiesel y 80 % de diésel. Corresponde al de mayor uso, pues brinda importantes beneficios además de requerir mínimas adecuaciones de motores.
- c) **B100.** Es un biocombustible compuesto en un 100 % de biodiesel, su uso no es muy amplio puesto requiere de sistemas con temperatura controlada para evitar su gelificación (Peyton, 2016).

2.3.4. PRODUCCIÓN DE BIOCMBUSTIBLE EN EL MUNDO Y AMÉRICA LATINA

Gómez (2010) detalla que la producción de biocombustibles alrededor del mundo ha alcanzado un importante crecimiento, mostrándose como la alternativa más relevante con fines a sustituir a los combustibles fósiles y cubrir las necesidades energéticas, principalmente de países desarrollados y emergentes, con ello se busca además hacer frente a los efectos producidos por los gases de efecto invernadero. Bajo esa línea de ideas, la Agencia Internacional de Energía (AIE) ha proyectado que para el 2030 la demanda de biocombustibles se incremente hasta en un 55% en comparación con el 2004.

Con respecto a las estimaciones del periodo 2012-2021 por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), se prevé que la producción global de bioetanol y biodiesel alcance valores considerables pudiéndose duplicar; concentrándose en países o regiones como Estados Unidos, Brasil y la Unión Europea, los que han aprovechado debidamente las fuentes de energía de origen biológico para potenciar el desarrollo rural y aportar nuevas fuentes de bioenergía, cumpliendo con ello con los compromisos de reducción de GEI adquiridos bajo el Protocolo de Kioto (Gómez, 2010).

En lo correspondiente a América Latina, la producción de biocombustibles se encuentra liderada por Brasil, Argentina y Colombia, esto de acuerdo con registros del último informe dado a conocer por la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), convirtiéndose de esta manera en la alternativa de mayor potencial para reducir la dependencia del petróleo con miras a suplir las demandas energéticas de los distintos sectores de estas naciones, principalmente del sector transportista (Gómez, 2010). (tabla 2.3)

En esta región sobresale la elaboración de bioetanol, la cual alcanza valores de casi 26,3 billones de L, siendo Brasil el país con mayores volúmenes de producción con el 34,2%, le sigue muy de lejos Colombia con el 0,4%. Si se comparan estos datos con la producción de EE. UU. (54%) se puede deducir que América Latina muestra un buen desempeño en este ámbito, aunque se debe manifestar que, al existir ineficientes políticas en el manejo de insumos de la cadena productiva, puede verse comprometido dicho desempeño en un largo plazo (Morelos, 2016).

Tabla 2. 3. Consumo de biocombustibles utilizados en el sector del transporte.

País	Biocombustible (%)
Brasil	21,57
Cuba	3,06
Nicaragua	4,24
Guatemala	2,74
Argentina	1,12
Ecuador	0,92
México	0,07

Fuente: Morelos (2016).

2.3.5. PRODUCCIÓN DE BIOCMBUSTIBLE EN ECUADOR

Actualmente en el Ecuador se cuenta con la producción de etanol dentro del proyecto denominado Ecopaís, lanzado en enero de 2011, cuyo objetivo se centra en comercializar un nuevo combustible, logrado a través de la mezcla de 95% gasolina extra y 5% de etanol anhidro. El plan desarrollado inicialmente en la ciudad de Guayaquil se evaluó por dos años, y con base en sus resultados se extendió al resto de país (Castro, 2012, p.3).

En los últimos registros se estima que la producción Ecopaís se encuentra en alrededor de 80.000 gal diarios, para lo cual demanda 4.000 gal de etanol (unos

15.000 L) facilitados por Producargo, empresa productora de alcohol del ingenio estatal (La Troncal). De este modo se logró sustituir en gran medida la gasolina extra por Ecopaís en las estaciones de servicio (Castro, 2012, p.3-4).

Durante el 2013 se dio paso a un nuevo plan en el que se establecía el incremento paulatino en la mezcla de diésel con biodiésel, pasando del 5% hasta llegar al 10%, de este modo se buscaba suplir la demanda del parque automotor que hace uso de este combustible y generar una producción de responsabilidad medioambiental en el sector agrícola. La fabricación de biodiesel en el país a nivel industrial se hace principalmente a partir de la palma africana (*Elaeis guineensis*) (Llanes *et al.* 2017).

Aunque se debe indicar que la producción de biodiésel en el país se inició en 2005; para el año 2012, la totalidad de este biocombustible se destinó al mercado internacional. En la actualidad la producción de biodiésel alcanza los 140 millones de L al año, de los cuales se destinan 85 millones de L para el programa nacional de biodiésel (Pazmiño *et al.* 2017).

Se debe hacer énfasis en que los principales productores de etanol en el Ecuador son: Producargo, Codana y Soderal. Por otra parte, hasta el 2013 la única empresa que producía biodiesel era La Fabril, con plantas de producción ubicadas en Guayaquil y Montecristi (Avilés *et al.* 2018).

2.3.6. VOLÚMENES DE DESPERDICIO DEL MUCÍLAGO DE CACAO Y SU POTENCIAL APROVECHAMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE

Dentro del ámbito de la temática estudiada se han desarrollado diversas investigaciones acerca del aprovechamiento del mucílago de cacao como alternativa de biocombustible en el Ecuador, una de ellas corresponde a Márquez y Salazar (2015) tomando como muestra a los productores de cacao asociados a UNOCACE, determinando así que existe en el país un alto nivel de desperdicio del mucílago, además de que no existe la capacitación ni el financiamiento necesarios para su manejo.

Según indica Arteaga (2013) usualmente se desperdician más de 40 L de mucílago por cada 800 kg de semillas frescas de cacao.

Angulo (2017) por su parte pudo determinar que el uso del cacao CCN51 en el proceso de preparación del bioetanol, brinda mejores características (acidez, pH, °Brix, grados alcohólicos, 64 turbidez, calor específico, densidad y rendimiento) con relación a la variedad de cacao (Nacional), facilitando con ello el proceso de destilación.

2.4. EXTRACTO DE LEVADURA

Se considera extracto de levadura a aquella sustancia soluble en agua de un autolisado de células de levaduras seleccionadas (*Saccharomyces cerevisiae*). Se caracteriza por su alto componente en vitaminas, principalmente de complejo B, aminoácidos y demás factores de crecimiento (MCD LAB, 2015). Debido a ello brinda las condiciones idóneas de crecimiento en medios de cultivo diseñados para aislar microorganismos exigentes como *Haemophilus* y *Neisseria*. Se suele utilizar en formulaciones especiales para pruebas de esterilidad, siguiendo las sugerencias de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) (Laboratorio DIBICO, 2014).

En la tabla 2.4 se muestran las características físico-químicas del extracto de levadura:

Tabla 2. 4. Características físico-químicas del extracto de levadura.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	
Solubilidad en agua	Totalmente soluble
Color del producto comercial	Beige claro
Color en solución acuosa 10%	Amarillo claro
Aspecto en solución acuosa 10%	Límpido
pH (Solución al 10%)	6.8 – 7.2
Materia seca	Mayor a 94 %
Nitrógeno Total (NT)	10 – 11.8 %
Nitrógeno Amínico (NA)	4.5 – 5.8 %
Proteínas (nitrógeno total x 6.25)	62.5 – 73.8 %
Hidratos de carbono totales	7.0 – 13.0 %

Fuente: Laboratorios Britania (2017).

Cabe añadir que las levaduras han sido de gran uso a lo largo de la historia, sobre todo para la elaboración de alcoholes destinados al consumo humano, así como en el plano industrial, farmacéutico, entre otros. En la actualidad han tomado mayor protagonismo por ser indispensables en la obtención de biocombustibles (Ronda, 2015).

2.5. MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN

Según han dado a conocer Lauzurique *et al.* (2017), se tienen registros de una variedad de técnicas para llevar a cabo procesos de deshidratación de mezclas de origen orgánico, utilizadas en gran medida en el plano industrial; entre estas se mencionan: destilación por variaciones de presión, destilación azeotrópica, destilación salina, adsorción con tamices moleculares y la pervaporación. De igual modo hacen referencia a propuestas que consisten en procesos híbridos que combinan diferentes técnicas y procesos.

Con base en antes mencionado, la destilación azeotrópica se presenta como una tecnología apropiada, presenta total disponibilidad en el mercado y puede ser utilizada en simulaciones de laboratorio, así como en el plano industrial. A pesar de ello se trabaja actualmente en generar procesos más limpios y de menor impacto económico, para lo cual la industria se ha enfocado en buscar nuevas alternativas que permitan la deshidratación cumpliendo estos principios, interesándose en tecnologías como la pervaporación y la adsorción con tamices moleculares (Lauzurique *et al.* 2017).

2.5.1. DESHIDRATACIÓN SALINA

La utilización de este método surge a partir de la década de los 60's demostrando a través de varios estudios la aplicabilidad de la destilación salina en la purificación de un producto determinado o para la obtención de etanol (Cespedes y Ravagnani, 1995).

Según explican Ravagnani y Reis (2000) la utilización de las sales como agentes de separación posibilita, frente a los procesos convencionales de la separación, la reducción de las dimensiones de la columna de fraccionamiento, del consumo específico de energía y de la cantidad del agente de separación empleado. La adición de determinadas sales al sistema etanol-agua altera substancialmente la composición de la fase vapor en equilibrio, variando el punto de azeotropía de este sistema para un mayor valor de composición de etanol en la fase vapor.

Vásquez *et al.*, (2007) añaden que la deshidratación salina suele usarse en combinación con solventes como agentes de separación, lo cual conlleva a la obtención de productos de alta pureza; este tipo de proceso recurre a la destilación extractiva convencional con el principio del efecto salino, dentro del cual la disolución de la sal, la reutilización y el transporte se potencializan por el solvente, teniendo como ventaja adicional de que hace uso de un 50% menos de requerimiento energético.

2.5.2. TAMICES MOLECULARES

Los tamices moleculares son aquellos materiales adsorbentes que se caracterizan por tener un tamaño de poro definido, lo que hace posible su uso para la separación y purificación de mezclas de gases ($N_2/O_2, CH_4/CO_2$, entre otros), adsorber metales pesados, retener contaminantes ambientales, refinar materias primas e inmovilizar residuos de pesticidas y herbicidas (Gualoto, 2017). El tamiz molecular adsorbe la humedad residual (hasta un 22% de su propio peso en agua). Es el desecante que actúa más rápidamente, y el que consigue obtener ambientes con una humedad relativa más baja (Sercalia, 2019).

Usualmente se presentan como minerales de aluminosilicatos, arcillas, vidrios porosos, carbones microporosos, zeolitas, carbón activado o compuestos sintetizados con estructuras abiertas por medio de las cuales difunden moléculas pequeñas como las del agua o el nitrógeno (Soliz, 2018).

Entre las que se aconsejan emplear en los procesos de destilación extractiva de etanol se encuentra: el cloruro de calcio, cloruro de cobre, ioduro de potasio, acetato de potasio, entre otros (Otiniano *et al.*, 2014).

2.6. ANTECEDENTES REFERENCIALES

2.6.1. DEMANDA ENERGÉTICA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MUCÍLAGO DE CACAO

En concordancia con el estudio desarrollado por Tenesaca (2019) el gasto de energía en la etapa agrícola del mucílago de cacao va de 1642,6 MJ/Ha hasta 1614,3 MJ/Ha. En cuanto a la energía invertida en el área de producción el autor elaboró dos experimentos, uno con el fermentador Biotron Smart GX obteniendo un requerimiento de energía en esta instancia de 8132,65 MJ/Ha, y el otro a través de un fermentador poco sofisticado, pero que cumplía con las cualidades idóneas de operación para alcanzar el mayor rendimiento de fermentación, en este caso se registró una demanda energética de 1090,51 MJ/Ha. Por último, se analizó la cantidad de energía invertida en el etanol obtenido según cada cultivo por hectárea en un tiempo estimado de un año de producción, obteniéndose un valor de 106,51 MJ/Ha para el cultivo de cacao.

2.6.2. OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) A TRAVÉS DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Para la explicación de este apartado se toman a consideración investigaciones previas bajo los mismos lineamientos del presente estudio, en primera instancia Luna (2018) llevó a cabo un proceso de investigación mediante tres tratamientos a 25°C, 28°C y 30°C, concluyendo que el de mejores resultados correspondió al de 30°C, puesto que a través de este se consumió la mayor parte de los azúcares del mucílago de cacao, obteniendo mayor rendimiento de etanol en un menor lapso de tiempo.

Seguidamente se considera el estudio efectuado por Angulo (2017) que consistió en evaluar el proceso fermentativo del mucílago de cacao empleando levadura silvestre (*Saccharomyces cerevisiae*) en diferentes porcentajes de inoculación. Para esta

finalidad llevó a cabo 12 tratamientos con lo cual pudo deducir que el de mejores resultados correspondió al que combinaba cacao tipo CCN51, 0,05% de levadura y materia prima líquida, puesto que presentó pH, °Brix, acidez, °GL, turbidez, calor específico, densidad y rendimiento en valores óptimos.

En un análisis similar Delgado *et al.* (2018) evaluaron la optimización de la producción de bioetanol mediante en la fermentación de mucilago de Cacao CCN-51 utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Para este procedimiento se tomó un periodo entre 72 a 120 horas, determinando que el tiempo óptimo de producción de biomasa y bioetanol fue de 34,5 horas a una temperatura de 35°C, pH de 4 y concentración de levadura de 3 g/L, alcanzando con ello una concentración de bioetanol de 22,06 g/L con una velocidad máxima de producción de bioetanol (rpm) de 1,30 g/ (L.h).

Pacheco y Trujillo (2019) por su parte, desarrollaron un estudio mediante cuatro procesos de fermentación empleando una cepa del fruto de cacao al 1% y 5 %, una cepa de la uva al 1% y una cepa de levadura *Saccharomices cerevisiae* al 1%, posteriormente estos fermentados fueron destilados en las mismas condiciones. A través de ello se pudo determinar que las muestras tratadas con cepa de uva y *Saccharomyces cerevisiae* presentaron mayor concentración de etanol 45,33% y 36,96% respectivamente.

2.6.3. RENDIMIENTO DE ALCOHOL DE MUCÍLAGO DE CACAO

Con relación a este apartado, Cárdenas (2017) realizó un estudio para determinar el rendimiento del mucílago de cacao considerando las variedades CCN-51 e IMC-67, para ello consideró como factores el uso de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el tiempo de fermentación y la variación de grados Brix y pH. Para este fin realizó un diseño completamente al azar (DCA), determinando que en el caso de la variedad CCN-51 el tratamiento de mayor rendimiento consistió en 0,5% de levadura y un tiempo de fermentación de 84 horas, llegando a alcanzar 6° Brix, 3,25 pH y 13,00 GL (grado Gay-Lussac), mientras que para la variedad IMC-67 el tratamiento idóneo consistió en el uso de 0,5% de levadura, 84 horas de fermentación, alcanzando 6,5° Brix, 3,31 pH y 13,00 GL.

López (2013) así mismo llevó a cabo un estudio que evaluaba el rendimiento de dos cepas de cacao, CCN-51 y variedad nacional. En este caso determinó que mediante la variedad nacional se puede alcanzar un mayor rendimiento, pues mediante muestras del 1.000 ml logró obtener hasta 205,5 ml de etanol.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La investigación se ejecutó en centro de acopio “Fortaleza del Valle”, ubicada en el Km 1 ½ de la vía Calceta - Canuto, provincia de Manabí, cuyas coordenadas UTM 17 m.s.n.m. 590795; 9908686.

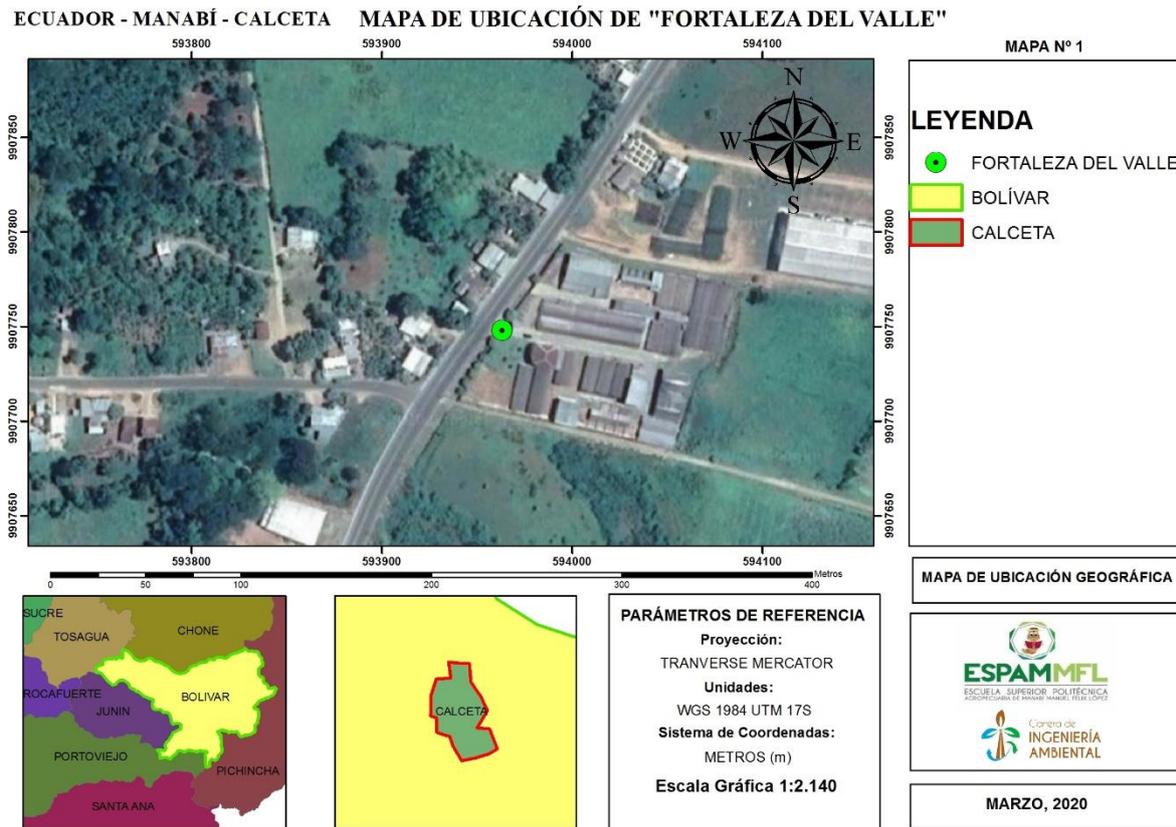


Figura 3. 1. Ubicación del proyecto de investigación, Fortaleza del Valle

Fuente: Google Maps.

Tabla 3. 1. Coordenadas del área de trabajo.

Coordenadas UTM		Lugar de trabajo
X	590795	Centro de Acopio “Fortaleza del Valle”
Y	9908686	

Fuente: Google Earth (2020).

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

La investigación tuvo una duración aproximada de 9 meses, siendo desde junio del 2019 a noviembre del 2020, a partir de la aprobación del trabajo de investigación para la realización de los trabajos de ejecución, toma y análisis de información.

3.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es de tipo experimental, debido a que el investigador estudia diversas variables empleando procedimientos a realizar en el laboratorio, con ello se pretende comprobar la hipótesis previamente planteada. Explicado de otro modo, este tipo de investigación se basa en realizar una alteración en una variable (variable independiente) para identificar su efecto en otra variable (variable dependiente) (Alonso *et al.*, 2018).

3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS

3.4.1. MÉTODOS

Dentro del presente estudio se utilizaron los métodos: hipotético-deductivo, método bibliográfico y método estadístico.

3.4.1.1. MÉTODO HIPOTÉTICO-DEDUCTIVO

Este método permite partir desde la identificación de una problemática para establecer posteriormente una hipótesis que será demostrada a través de un proceso científico empleando la experimentación. Para el caso del presente estudio, se observó la incidencia que causa en el ambiente el mucílago de cacao como residuo agrícola, determinando que puede ser utilizado como materia prima para la obtención de biocombustible, tesis que se sometió a proceso experimental para ser contrastada.

3.4.1.2. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

El método bibliográfico representa una fuente de información teórica de importancia, pues permite conocer datos referenciales ligados a la temática de estudio, así como de las variables que este aborda. Para el presente caso este método permitió tomar a consideración una serie de premisas, ideas y conceptos que permitieron sustentar

los distintos argumentos y directrices, fue esencial además para la discusión de resultados y la comprobación de la hipótesis planteada.

3.4.1.3. MÉTODO ESTADÍSTICO

El método estadístico recurre al uso de una serie de técnicas y procedimientos para la recolección, organización, resumen, análisis y presentación de datos para hacer inferencias (Villa *et al.* 2012). En el presente estudio se utilizó la Estadística Descriptiva para la recolección, tabulación y análisis de datos, así mismo la Estadística Inferencial para determinar la diferencia estadística entre tratamientos, a partir de los estadísticos ANOVA y prueba múltiple de media Tukey, a fin de identificar el tratamiento con mejores indicadores en las variables analizadas.

3.4.2. TÉCNICAS

Las técnicas empleadas para el desarrollo de la presente investigación fueron: la observación y el registro de datos.

3.4.2.1. OBSERVACIÓN

La observación permite registrar de forma sistematizada y lógica lo percibido visualmente, sirve como medio de verificación del fenómeno estudiado (Campos y Lule, 2012). Dentro de la investigación se ha recurrido a esta técnica con la finalidad de tener contacto directo con el objeto de estudio e identificar sus características, condiciones que intervienen en los procesos, entre otros elementos de gran importancia.

3.4.2.2. REGISTRO DE DATOS O INFORMACIÓN

El registro de datos por su parte permitió llevar un control ordenado de la información recopilada en las distintas etapas del proceso investigativo, sirviendo como sustento de los datos cualitativos y cuantitativos explicados en el documento. Fue empleado desde la toma de muestras de mucílago de cacao hasta el proceso de obtención de bioetanol con base a los seis tratamientos analizados, facilitando el procesamiento y análisis de la información.

3.5. VARIABLES POR MEDIR

3.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

- Levadura y método de deshidratación.

3.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Obtención de biocombustible.

3.6. FACTORES EN ESTUDIO

- **Factor L.** Extracto de levadura.
- **Factor D.** Método de deshidratación.

Tabla 3. 2. Niveles en estudio por factores.

Factor L. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Referencia	Factor D. método de deshidratación	Referencia
L ₁ = 0,5 kg		D ₁ = Destilador salino	
L ₂ = 0,1 kg	(Rojas <i>et al.</i> 2015)		(Pérez y Garrido, 2011)
L ₃ = 0,025 kg		D ₂ = Tamices moleculares	

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

En lo concerniente al Factor L. Extracto de Levadura, se utilizan tres niveles de concentración: L₁. de 0,5 kg, L₂. 0,1 kg y L₃. 0,025 kg.

En cuanto al Factor D. Método de deshidratación se recurre al uso de dos métodos: D₁. Destilador salino y D₂. Tamices moleculares.

Estos factores de estudio parten de resultados basados en experiencias tomadas de investigaciones previas, aplicadas por Rojas *et al.* (2015) y Pérez y Garrido (2011), mostrando fiabilidad en la purificación de bioetanol para biocombustibles a través de estos procesos específicos.

3.7. TRATAMIENTOS

La investigación está compuesta de 6 tratamientos, los mismos que fueron conformados entre la combinación de los factores L y D antes mencionados.

Tabla 3. 3. Tratamientos declarados en la investigación.

Unidad Experimental	Nomenclatura	Dosis de Mucilago
L ₁ x D ₁	T ₁	700 ml
L ₁ x D ₂	T ₂	700 ml
L ₂ x D ₁	T ₃	700 ml
L ₂ x D ₂	T ₄	700 ml
L ₃ x D ₁	T ₅	700 ml
L ₃ x D ₂	T ₆	700 ml

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló bajo los delineamientos del diseño completamente al azar (DCA) bifactorial 3 x 2 (con 3 repeticiones). Diseño utilizado cuando las unidades experimentales son suficientemente homogéneas entre sí, es decir, que la variabilidad se manifiesta de forma similar en todas las unidades experimentales, de modo que el efecto que se da en el tratamiento de una variable de estudio, es el mismo efecto obtenido en cualquiera de las unidades experimentales, excepto por variaciones aleatorias, debidas a fuentes de error en la investigación (Gasga, 2015). Por otra parte, para el análisis de los resultados del laboratorio se utilizó la estadística inferencial para determinar la significancia entre tratamientos (ANOVA y prueba múltiple de media – Tukey al 5% de probabilidad de error), haciendo uso del software InfoStat 2019 de versión libre.

Tabla 3. 4. Esquema de análisis de varianza del DCA.

Fuente de variación	Grado de libertad (n-1)
Factor Levadura (L – 1)	2
Factor Deshidratación (D – 1)	1
Interacción L x D (L-1) (D-1)	2
Error Experimental (L X D -1) (R-1)	12
Total (L X D X R) – 1	17

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

3.9. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para este caso se procedió a emplear la metodología propuesta por Rodríguez (2010), la cual consiste en que cada unidad experimental se encuentra constituida por 700 ml de mucílago de cacao de la variedad CCN-51 en combinación con las levaduras y el método de deshidratación, alcanzando un total de 18 unidades experimentales; a cada una se le adicionó 0,2 % de sulfato de amonio.

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se recurrió al uso de la Estadística Descriptiva, técnica que permitió recopilar, presentar y caracterizar un conjunto de datos con la finalidad de describir adecuadamente las distintas características de dicho conjunto (Becerra, 2010). Y como parte de la Estadística Inferencial se realizó el ANOVA de los datos para los factores y su interacción, una vez constatado los supuestos del ANOVA, se llevó a cabo la prueba de normalidad de datos mediante Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas – Test de Levene.

Posterior a la comprobación de las diferencias significativas se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de media Tukey con un 5% de probabilidad de error, mediante el software estadístico InfoStat y se realizaron gráficas estadísticas de los resultados.

Tabla 3. 5. Delineamiento experimental.

DCA Bifactorial			Niveles		
Prueba de Tukey	Número de Tratamientos	Número de Repeticiones	Número de Unidades experimentales	Extracto de levadura	Métodos de Deshidratación
95%	6	3	18	L ₁ = 0,025 kg L ₂ = 0,5 kg L ₃ = 0,10 kg	D ₁ =Destilador salino D ₂ =Tamices M

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

3.11. PROCEDIMIENTOS

FASE I. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA AZUCARADA DEL MUCÍLAGO DE CACAO QUE SE PUEDA CONVERTIR EN ALCOHOL POR LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA

Actividad 1. Toma de la muestra del mucilago del cacao en el centro de acopio “Fortaleza del Valle” de la Ciudad de Calceta

La selección de la muestra de mucilago de cacao se la realizó de forma aleatoria, utilizando para ello la variedad de cacao CCN-51, para ello se tomaron al azar gavetas con agujeros que contenían almendras con mucilago de cacao y se extrajo el mucilago drenado evitando daños o trituración de las almendras de cacao, este procedimiento se llevó a cabo en horarios de entre 8 a.m. y 11 am., debido a que el mucilago debe estar fresco evitando su fermentación. En total se recolectaron 4 L de

mucílago para los distintos análisis físicos y químicos (Arteaga, 2013). Las muestras colectadas se almacenaron en botellas de boca ancha al momento de tomarlas (Anexo 3), mismas que debieron ser preservadas tan pronto como se recolectaron.

Actividad 2. Análisis de la muestra de mucílago de cacao

Los parámetros se analizaron en el laboratorio de Química Ambiental de la ESPAM "MFL", se evaluó la muestra de mucílago recolectada determinando la concentración de azúcares (Grados Brix) y el pH; se envió en un envase previamente esterilizado y rotulado, de tal manera que todas las muestras fueran preservadas tan pronto como se recolectaron.

Se realizó el filtrado de la muestra (Luna, 2018). La muestra se pasteurizó a 88°C por un lapso de 3 minutos en la hornilla, para posteriormente envasar y sellar, posteriormente se aplicó baño María para el evacuado del recipiente por un lapso de 15 minutos y por último se almacenó a un ambiente de -18°C (Tenesaca, 2019).

Tabla 3. 6. Métodos de análisis a medir.

Parámetro	Instrumento	Método
pH	Potenciómetro	Potenciometría
Grados Brix	Refractómetro	Refractometría
Acidez	Erlenmeyer	Titulación
Humedad	Estufa	termogravimétrico

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

Actividad 3. Construcción de reactor

El biorreactor es un elemento fundamental para la fermentación alcohólica, para ello se construyó una instalación simple utilizando envases cilíndricos (botellas de vidrio), el mismo estuvo equipado con sistema de medida para la temperatura, pH, volumen, y de entrada se encontraba agua y mucílago de cacao; de salida el mucílago de cacao por lo que permitió la evacuación del aire, CO₂ y levaduras (Anexo 5).

Se utilizó un contenedor de vidrio con tapón de corcho natural, adicionándose en la parte central una llave de tres pasos de ANNTOM, se le implementó una manguera para la salida de dióxido de carbono e impedir el ingreso de agentes contaminantes, y otra para la toma de muestras (Luna, 2018).

Actividad 4. Preparación de las unidades experimentales

De acuerdo a los delineamientos del diseño experimental aplicado, se realizó la preparación de las 18 unidades experimentales, cada una compuesta de 700 ml de mucílago de cacao, mismas que se colocaron en el reactor en el orden mucilago-levadura, esta última en una solución previamente al 10% de sacarosa durante una hora a temperatura ambiente (Luna, 2018). Se aplicaron componentes ácidos o básicos hasta tener un pH de 4,5 para mejorar el proceso de fermentación.

Actividad 5. Obtención de alcohol anhidro

En primer lugar, se realizó la fermentación. El proceso se llevó a cabo a 7 días, a temperatura estable (30°C), controlado mediante su colocación a temperatura ambiente en un lugar fresco y seco (Luna, 2018).

El producto obtenido en la fermentación se sometió a destilación simple, lo cual fue realizado mediante destilaciones consecutivas de 1 L, se procedió a recolectar el destilado a la vez que la temperatura se mantenía constante. El resultado de la destilación simple se sometió a rectificación mediante un equipo conformado por un balón compuesto de tres vías acopladas en la cabeza y un refrigerante de agua. Para el procedimiento de rectificación se llevó a cabo un calentamiento y se ajustaron las llaves del balón hasta que se obtuvo un equilibrio, lo cual no registró cambios en la temperatura en la columna de la destilación. Se extrajo el destilado bajo una temperatura constante (Albarracin *et al.* 2019).

Una vez terminado este proceso se realizó la medición de los indicadores de la variable dependiente.

Actividad 6. Aplicación de deshidratación

Se aplicó la deshidratación de dos formas: deshidratación salina y por tamices moleculares.

Se utilizó la zeolita 3A que es la más utilizada industrialmente, permite la adsorción de moléculas cuyo diámetro esté por debajo de 0,32 nm con una capacidad del 20% y una superficie activa de 800 m²/g. El proceso consistió en la colocación de lecho adsorbente entre la columna de deshidratación y el condensador, empleando dos

lechos paralelos para que uno eliminase agua a la vez que el otro se encargaba de la regeneración de alcohol (Pérez y Garrido, 2011), esto bajo el esquema mostrado en la figura 3.2:

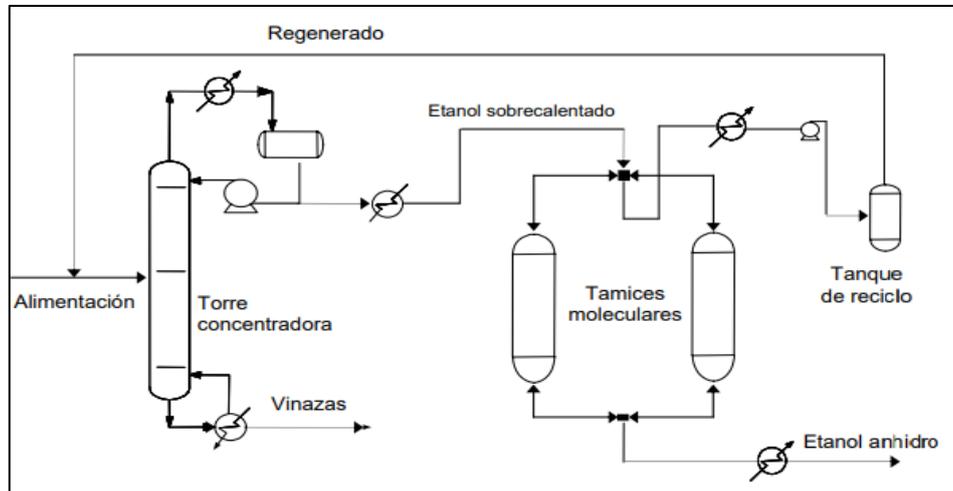


Figura 3. 2. Esquema deshidratación por tamices moleculares.
Fuente: Montoya y Quintero (2005).

Por otro lado, se llevó a cabo la deshidratación salina, la cual consistió en la realización de una nueva destilación con la adición de cloruro de calcio, el cual modificó el comportamiento de la fase líquida de la mezcla separada, por lo que se aplicó una sal en una concentración de 0,09% (p/v) (Uyazán *et al.* 2004). El proceso tuvo el esquema mostrado en la figura 3.3:

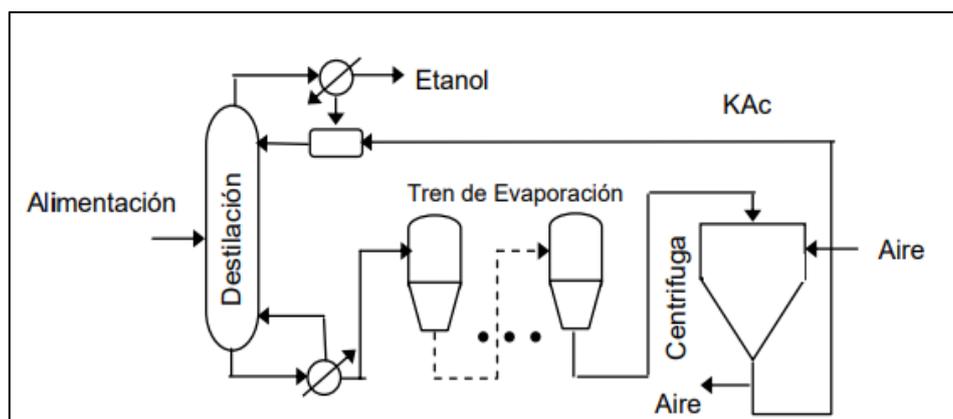


Figura 3. 3. Esquema deshidratación salina.
Fuente: Montoya y Quintero (2005).

FASE II. DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN Y LA CANTIDAD DE LEVADURA QUE MEJORE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO

Actividad 7: Toma de datos de las variables a medir

Se llevó un registro de variables determinando el alcance de las características para obtención de bioetanol, por lo cual se tomaron en cuenta las siguientes variables:

- **pH:** Una de las variables evaluadas dentro del estudio correspondió al grado de acidez dentro de la obtención de bioetanol, es por ello que durante el proceso de fermentación se evalúa por medio del equipo potenciómetro los rangos de esta variable, la cual debe situarse entre 5.1 a 6, puesto que un alto contenido ácido cítrico y bajos niveles de oxígeno, propicia el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, produciendo etanol a partir de los azúcares presentes en el medio (Suárez *et al.* 2016).
- **Concentración de alcohol:** Los procesos de destilación en los métodos de deshidratación son propicios de tal forma que permiten un destilado con contenidos mínimos de agua. Sin embargo, se acopla a una columna de deshidratación (rectificación) para aplicar un alcohol totalmente puro. Una vez culminadas las destilaciones se transvasa a un matraz de 50ml para hacer el respectivo análisis de alcoholímetro (Gay-Lussac) con el fin de conocer la concentración de alcohol (expresado en % v) por cada tratamiento efectuado (Quintero *et al.* 2007).
- **Obtención de alcohol en relación a la biomasa:** Dentro de esta variable Cárdenas (2017) cita a Mejía y Arguello (2010) para explicar que, dentro del rendimiento del mucílago, por cada kg de semilla fresca de cacao se logra obtener hasta 50 ml de pulpa. Con base en ello se pudo establecer dentro del presente estudio que, por cada kg de grano fresco se obtienen 114 ml de mucilago, de esta forma se deduce que las concentraciones estimadas de las unidades experimentales inhiben el crecimiento de la *S. cerevisiae* al 80%, lo que conlleva a que se active la fermentación y por ende se produzcan altos rendimientos de etanol tal como menciona Hernández (2017).

- **Consumo o Rendimiento:** En esta fase se procede a medir el nivel de rendimiento de alcohol obtenido por medio de la destilación, ello con la finalidad de identificar cuál de los tratamientos y bajo qué interacción de componentes se generó mayor volumen de alcohol por cada 700 ml de mucílago analizado (Cárdenas, 2017). Para calcular esta variable se utiliza la ecuación 3.1:

$$\% \text{ rendimiento} = \left(\frac{\text{Peso obtenido}}{\text{Cantidad de materia prima}} \right) \times 100 \quad [3.1]$$

Actividad 8. Tabulación de datos

La tabulación de datos consistió en la toma de resultados de la fase experimental para posteriormente ser procesados y analizados en la herramienta Microsoft Excel, mediante la cual se realizaron las tablas con los indicadores alcanzados en cada variable de estudio, el promedio de dichas variables y su representación mediante gráficos estadísticos.

Actividad 9. Análisis estadístico de los datos

Para el análisis estadístico de los datos se realizará la distribución de los datos, a partir de comprobar los supuestos del ANOVA. Luego en función de su naturaleza se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para los datos no paramétricos y ANOVA con prueba de Tukey para los paramétricos, todos con significancia a $\alpha \leq 0,05$ (Arce, 2001).

De acuerdo con los resultados obtenidos y a las pruebas estadísticas realizadas, se procede a concluir si se acepta o rechazar la hipótesis planteada previamente y siendo fundamentada con las tablas y gráficos elaborados.

FASE III. VALORACIÓN ECONÓMICA DE LOS TRATAMIENTOS CON MEJORES RENDIMIENTOS DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO

Actividad 10. Análisis de precio Unitario

Con miras de determinar el costo de producción de biocombustible (bioetanol) a partir de mucilago de cacao, se toman los resultados del estudio como punto de partida para establecer el precio unitario, para este caso se realiza el análisis de precio del T₆ de tamices moleculares y 0,025 kg de extracto de levadura, puesto que fue el que alcanzó mayor concentración de alcohol y mejores indicadores de pH, rendimiento y relación biomasa, dentro de dicho análisis se consideran los costos directos e indirectos, así mismo se hace uso de una matriz (tabla 3.6.) a través de la cual se asignan los recursos necesarios para la obtención de bioetanol, considerando los siguientes ítems:

a) Membrete.

- a.1. Registro del nombre del proyecto a ejecutarse.
- a.2. Descripción del rubro a tratar.
- a.3. Unidad de medida.

b) Costo Directo.

- b.1. Equipos. – Se detalló la información de los equipos que se utilizaron para la producción de bioetanol.
- b.2. Mano de obra. – Se detalló la información del personal necesario para la obtención del bioetanol. La información presentada aquí tiene una clasificación de categorías de personal.
- b.3. Materiales. – Se describió la información de los materiales que se utilizaron durante la obtención del bioetanol.
- b.4. Transporte. - En este ítem se tomó en cuenta la información del transporte que es necesario para el traslado de la materia prima.

c) Resultados.

- c.1. Total de Costos Directos. – Se obtuvo de sumando elementos como: costos directos, mano de obra, materiales, equipos y transporte, tal como se muestra en la ecuación 3.2:

$$\text{Costos directos} = (b1+b2+b3+b4) \quad [3.2]$$

c2. Total, Costos Indirectos. – Se consideraron los costos adicionales que afectan indirectamente al proceso productivo del bioetanol.

c.3. Costo total. – Se obtuvo de la suma del Costo Directo más el Costo Indirecto tal como se observa en la ecuación 3.3:

$$\text{Costo total} = (\text{CD} + \text{CI}) \quad [3.3]$$

Tabla 3. 7. Matriz de precios unitarios.

ÁNALISIS DE PRECIOS UNITARIOS					
Rubro:	PRODUCCIÓN DE BIOETANOL			Unidad:	cm ³
EQUIPOS					
Descripción	Cantidad	Tarifa	Costo hora	Rendimiento	Costo
	A	B	$C=A*B$	R	$D=C*R$
Destilador					
Alcoholímetro					
Analizador de grasa					
SUBTOTAL M					
MANO DE OBRA					
Descripción	Cantidad	Jornal/h	Costo hora	Rendimiento	Costo
	A	B	$C=A*B$	R	$D=C*R$
Laboratorista					
SUBTOTAL N					
MATERIALES					
Descripción		Unidad	Cantidad	Precio unitario	Costo
			A	B	$C=A*B$
Mucilago de cacao					
Zeolita 3A					
Cloruro de Potasio					
Sulfato de amonio					
Levadura					
Reactor Batch					
SUBTOTAL O					
TRANSPORTE					
Descripción		Unidad	Cantidad	Tarifa	Costo
			A	B	$C=A*B$
SUBTOTAL P					
TOTAL, COSTO DIRECTO (M+N+O+P)					
INDIRECTOS 5 %					
COSTO TOTAL DEL RUBRO					
VALOR OFERTADO					

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA AZUCARADA DEL MUCÍLAGO DE CACAO QUE SE PUEDA CONVERTIR EN ALCOHOL POR LA FERMENTACIÓN ANAERÓBICA.

En la tabla 4.1. se detallan los parámetros fisicoquímicos de las diferentes muestras analizadas, tomando a consideración factores como el pH, humedad, brix y acidez, así como el promedio alcanzado por cada uno de dichos factores.

Tabla 4. 1. Parámetros evaluados en las muestras de mucílago de cacao.

Parámetro	Unidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Método	Resultados
pH	---	3,41	3,54	3,22	Potenciometría	3,39
Grados Brix	---	10	13	12	Refractometría	11,67
Acidez	%	0,83	0,58	0,55	Bureta	0,65
Humedad	%	55,89	82,92	53,12	Tensiómetro	63,98

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

Según se observa en la tabla 4.1 el rango de pH alcanzado dentro del estudio de las muestras se situó entre 3,22 y 3,54, obteniéndose un promedio de 3,39, valor que indica una caracterización idónea de las muestras, pues en concordancia con Álvarez *et al.*, (2010) y Araujo *et al.*, (2010), el pH óptimo del mucílago de cacao debe ubicarse entre 3,2 y 3,5.

Otro de los factores analizados en la tabla corresponde a los grados brix, que de acuerdo con Coronado (2001) y Gutiérrez (2002), el mucílago de cacao debe alcanzar entre 10 y 15 grados brix para ubicarse dentro del rango de seguridad, evitando con ello la fermentación y el desarrollo de hongos. Para el presente caso, las muestras recolectadas y analizadas alcanzaron un promedio de 11,67° brix, ubicándose dentro de los rangos establecidos según el criterio de los autores antes mencionados.

En ese mismo sentido se hace énfasis en el factor de acidez, obteniéndose como resultado que el mucílago del cacao proporcionó un mayor nivel de acidez en la muestra 1, lo cual se debe según Cubrero *et al.*, (2002) a la adición del ácido cítrico mismo que fue utilizado para regular el pH, por otra parte, a medida que se

aumentaron los porcentajes de azúcar los niveles de acidez disminuyeron, obteniéndose finalmente un promedio de acidez de 0,65% el cual se ubica dentro del índice adecuado que de acuerdo con Sandoval (2002) y Jahurul *et al.*, (2013), no debe exceder el 0.8%.

Por último, se procede a analizar el factor de humedad, registrándose valores muestrales de entre 53,12% - 82,92%, cabe indicar que en los valores de mayor humedad se utilizó el nivel más alto de azúcar 45%. En ese sentido se alcanza un promedio de humedad en las muestras del 63,98% coincidiendo con Arteaga (2013); Vallejo *et al.*, (2015) y Villa K (2015) quienes explican que el mucílago de cacao puede alcanzar una humedad de hasta 84,5%.

En concordancia con estos datos y parámetros referentes a las unidades experimentales, es importante acotar que se alcanzan las características óptimas para la obtención de bioetanol siguiendo los parámetros de la norma INEN 2 478:2009.

4.2. DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE DESHIDRATACIÓN Y LA CANTIDAD DE LEVADURA QUE MEJORE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCILAGO DE CACAO.

A continuación, se presenta el análisis estadístico de las variables a medir declaradas en la metodología, respecto a cada uno de los tratamientos.

4.2.1. pH

Según ha detallado Luna (2018) el pH dentro del proceso de fermentación se relaciona con el nivel de acidez o alcalinidad del medio, con base en ello se puede deducir que el etanol es producto prácticamente alcalino que eleva su concentración a medida que pasa el tiempo. Para el seguimiento adecuado de este proceso, Suárez *et al.* (2016) explican que se debe realizar un control cada 12 horas, tomando muestras que permitan analizar la variabilidad de los niveles de pH.

Tabla 4. 2. ANOVA del pH.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Levadura	1,49	2	0,73	263,62	<0,0001
Deshidratación	0,12	1	0,12	42,89	<0,0001
Levadura * Deshidratación	0,01	2	0,01	2,05	0,1709
Error Experimental	0,03	12	2,8E-03		
Total	1,62	17			

Fuente: InfoStat (2019).

Con base en el ANOVA realizado para la variable pH se observa en la tabla 4.2 que el p-valor para los factores independientes de levadura y métodos de deshidratación es de 0,001 siendo $<0,05$, por otra en la interacción de dichos factores se alcanza un p-valor de 0,1709 siendo $>0,05$ de margen de error, lo que conlleva a aceptar la hipótesis nula de que no existe diferencia significativa en las medias del pH en los tratamientos de estudio.

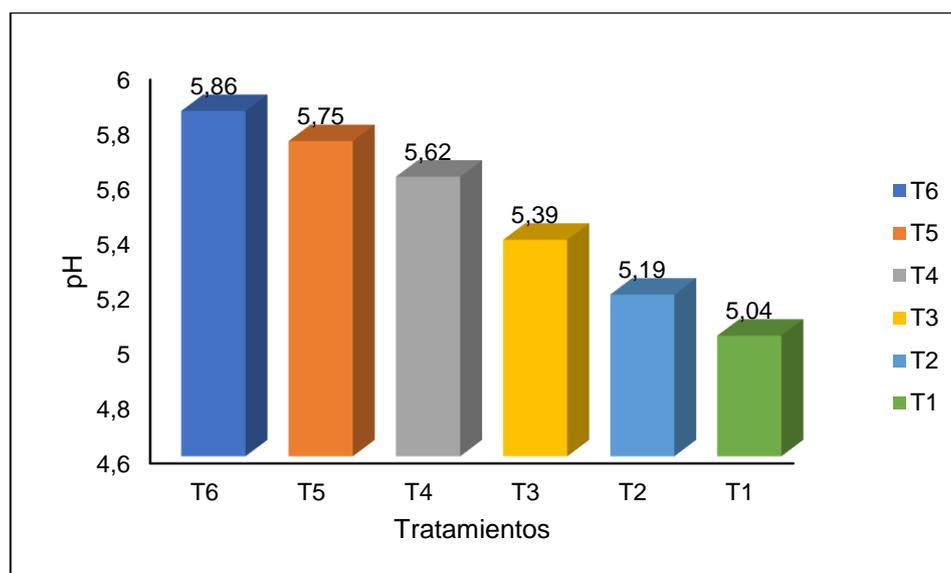


Gráfico 4. 1. Representación gráfica de los valores medios de pH.

Fuente: Endara y Zambrano, (2020).

El gráfico 4.1 representa los datos referentes a las medias de los valores de pH alcanzados en el experimento, con lo cual se determina que, a pesar de no existir diferencia estadística, sí se alcanza diferencia numérica de los índices de pH por cada tratamiento, siendo el T₆ el que alcanzó mayor nivel de pH con 5,86. En general los valores de pH registrados se situaron entre 5,04 y 5,86, existiendo mayor variabilidad entre el T₁ y T₆.

Los resultados alcanzados se encuentran dentro de los rangos aceptables de pH en el proceso de obtención de bioetanol, pues tal como detallan Suárez *et al.* (2016) las levaduras responden mejor a un medio ligeramente ácido con niveles de pH entre 5,1 a 6. Aunque existen registros de otros autores que han alcanzado distintos niveles de pH de acuerdo a la temperatura empleada y los tiempos de fermentación, como es el caso de Delgado *et al.* (2018) que en su estudio para obtener bioetanol a partir de mucílago de cacao alcanzaron un pH de 4. En este sentido se debe argumentar que es favorable alcanzar altos contenidos de ácido cítrico lo que combinado a bajos niveles de oxígeno permiten el crecimiento de la levadura y por ende obtener etanol con características idóneas.

4.2.2. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL

La concentración corresponde a la variable que permite establecer los grados de alcohol alcanzados en los diferentes tratamientos dentro del estudio, según ha señalado Pérez y Gozá (2003) durante un proceso de destilación se puede alcanzar purezas de hasta 89,4% de alcohol, aunque para ello señala que es importante utilizar métodos que permitan eliminar el agua como impureza. En este sentido Tenesaca (2019) evaluó la producción de bioetanol a partir de mucílago de cacao, alcanzando una concentración de hasta 92° mediante el método Gay Lussac.

Tabla 4. 3. ANOVA de la concentración de alcohol.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Levadura	1727,44	2	863,72	121,49	<0,0001
Deshidratación	227,56	1	227,56	32,00	0,0001
Levadura * Deshidratación	119,44	2	59,72	8,40	0,0052
Error Experimental	85,33	12	7,11		
Total	2159,78	17			

Fuente: InfoStat (2019).

Centrándose en los resultados del estudio, se puede evidenciar según el ANOVA de la tabla 4.3 que el p-valor para los factores independientes de levadura y métodos de deshidratación alcanzado es de 0,0001, mientras que el p-valor de la interacción de dichos factores fue de 0,0052, siendo estos <0,05 del margen de error, con lo cual se acepta la hipótesis alternativa determinando que todas las fuentes de interés presentan diferencia estadística en la concentración de alcohol de los tratamientos

analizados, lo cual se debe a la interacción de los factores empleados, por ende, es pertinente realizar la prueba de Tukey explicada en la siguiente tabla:

Tabla 4. 4. Prueba de Tukey de la interacción de los factores de la variable concentración de alcohol.

FACTOR L	FACTOR D	Medias	n	E. E	
0,25	Tamices	83,00	3	1,54	A
0,25	Salina	80,33	3	1,54	A B
0,10	Tamices	77,67	3	1,54	A B
0,10	Salina	73,33	3	1,54	B
0,5	Tamices	65,67	3	1,54	C
0,5	Salina	51,33	3	1,54	D

Fuente: InfoStat (2019).

Tabla 4. 5. Prueba de Tukey del factor L Extracto de levadura de la concentración de alcohol.

Levadura	CONCENTRACIÓN DEL ALCOHOL		
	Medias	N	E.E
0,025	81,67	6	1,09
0,10	75,50	6	1,09
0,5	58,5	6	1,09

Fuente: InfoStat (2019).

Tabla 4. 6. Prueba de Tukey del factor D Métodos de deshidratación de la concentración de alcohol.

Deshidratación	CONCENTRACIÓN DEL ALCOHOL		
	Medias	N	E. E
D. Tamices (D ₁)	75,44	9	0,89
D. Salina (D ₂)	68,33	9	0,89

Fuente: InfoStat (2019).

Según se evidencia, la prueba de Tukey determina diferencia en las medias correspondientes a la interacción de los factores L y D empleados en el proceso de obtención de bioetanol, por lo cual se forman cuatro grupos. Se establece a su vez que la concentración de levadura idónea es de 0,025 kg, que conjuntamente con la deshidratación por tamices moleculares permiten alcanzar una mayor concentración alcohólica.

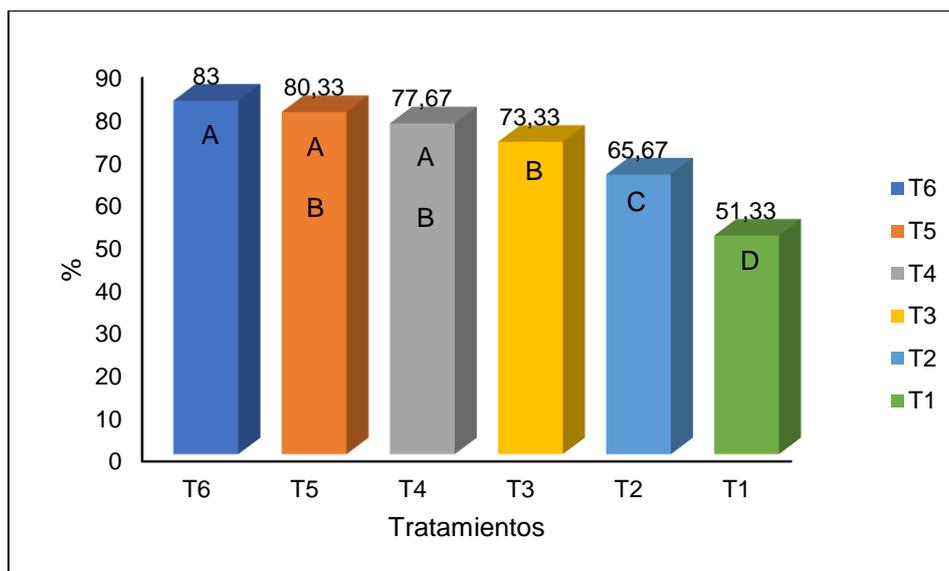


Gráfico 4. 2. Representación gráfica de los valores medios de Concentración.
Fuente: Endara y Zambrano (2020).

En el gráfico 4.2 se muestran los resultados obtenidos mediante la prueba de Tukey con respecto a la concentración de alcohol, con lo cual se identifican cuatro grupos diferentes, a su vez se registran valores de entre 51,33% y 83%, por lo cual se concluyen variaciones importantes en la combinación de los factores L y D. Para este caso se puede notar que el T₆ es mediante el cual se alcanzan mayores grados de alcohol en la obtención de bioetanol a partir de mucílago de cacao, mientras que el T₁ fue el de menores índices con el 51,33% de concentración alcohólica.

Estos resultados se encuentran dentro de los rangos adecuados, pues de acuerdo con Castillo *et al.* (2012) el etanol es el biocombustible más utilizado en el mundo el cual suele alcanzar una concentración de hasta 85%. Además, Pérez y Garrido (2011) han explicado que para posibilitar el uso del etanol como combustible es preciso la eliminación de agua presente en el mismo, pudiendo de esta manera alcanzar grados de alcohol de hasta 92%. Los rangos alcanzados en el estudio coinciden con el marco de aplicabilidad en el Ecuador, puesto que en el país el combustible bioetanol es de E85 que es 85% de etanol y 15% de gasolina, de modo que sí se podría utilizar como alternativa.

4.2.3. OBTENCIÓN DE ALCOHOL EN RELACIÓN A LA BIOMASA

Para determinar la relación biomasa se toma a consideración la cantidad de materia prima utilizada y la cantidad de producto obtenido de esta, es decir que la presente

variable permite conocer cuál es la cantidad obtenida de etanol por cada muestra de 700 ml de mucílago de cacao. Viñals *et al.* (2012) señalan que la producción de etanol a partir de biomasa representa un beneficio importante en el sentido ambiental, pero destaca que para que este sea competitivo ante los combustibles fósiles, es necesario obtener etanol de biomasa a bajo costo.

Tabla 4. 7. ANOVA de la obtención de alcohol en relación a la bimsa.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Levadura	1884,33	2	942,17	105,34	<0,0001
Deshidratación	156,06	1	156,06	17,45	0,0013
Levadura * Deshidratación	14,78	2	7,39	0,83	0,4612
Error Experimental	107,33	12	8,94		
Total	2162,50	17			

Fuente: InfoStat (2019).

Según indica el ANOVA de la tabla 4.7, el p-valor para el factor levadura es = 0,0001, mientras que el de los métodos de deshidratación es = 0,0013 siendo estos <0,05 del margen de error, por ende se establece que de forma independiente estos factores muestran diferencia significativa, por otra parte en la interacción de los factores L y D se alcanzó un p-valor de 0,4612 siendo >0,05 lo que conlleva a aceptar la hipótesis nula de que no existe diferencia estadística en la combinación de dichos factores en los tratamientos para la obtención de bioetanol a partir de mucílago de cacao.

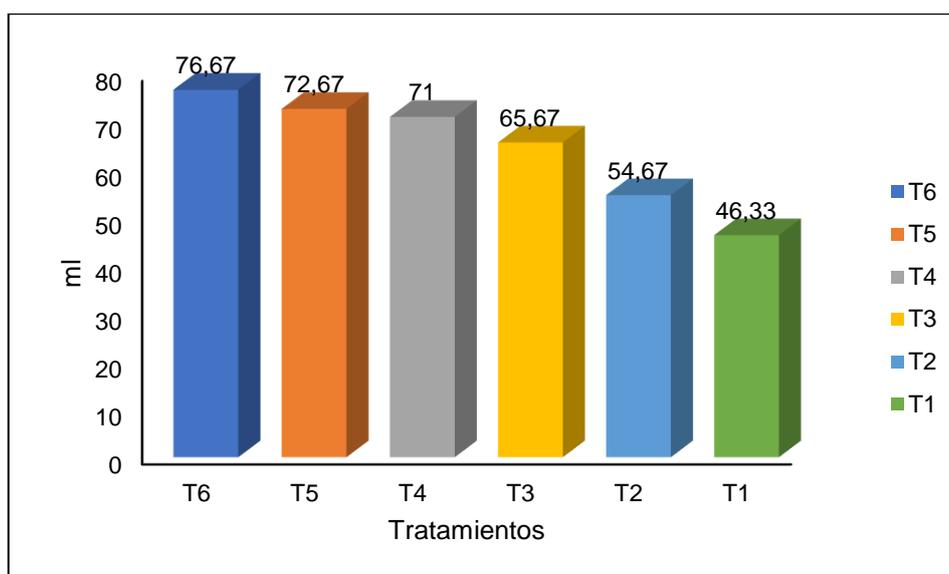


Gráfico 4. 3. Representación gráfica de los valores medios de relación biomasa.

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

Según muestra el gráfico 4.3 a pesar de no existir diferencia significativa entre las muestras con respecto a la relación biomasa, sí se registra diferencia numérica entre estas, siendo el T6 el mediante el cual se obtuvo mayor cantidad de alcohol. Se detalla a su vez que la mayor diferencia se encontró entre el T₁ y T₆.

Con base en estos datos, Cárdenas (2017) pudo determinar que dentro de la evaluación de la relación biomasa, el mucílago de cacao puede llegar a generar hasta 13 ml de alcohol por cada 100 ml de muestra, valor que se relaciona con los datos alcanzados dentro del presente estudio. Pacheco y Trujillo (2019) por su parte realizaron un proceso de obtención de bioetanol a partir de mucílago de cacao, determinando que por cada 500 ml de biomasa se pueden alcanzar entre 60 y 80 ml de etanol, esto de acuerdo a la cepa utilizada, la cantidad de levadura y el método de deshidratación.

4.2.4. CONSUMO O RENDIMIENTO

El mucílago de cacao es un derivado de la actividad cacaotera que genera un importante rendimiento como materia prima, según han explicado Vera y Zambrano (2018) es posible obtener hasta 70 L por TM de cacao, estableciéndose como una oportunidad en la producción de biocombustible a partir de este exudado.

Con respecto al rendimiento como etanol Gbohaida *et al.* (2016) explicaron que existen discrepancias entre el rendimiento experimental y teórico, habiendo diferencias significativas de 90% y 95% entre estos. Mientras que, en el ámbito industrial el rendimiento puede llegar distar entre el 87% y 93% del rendimiento teórico.

Tabla 4. 8. ANOVA del consumo o rendimiento.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Levadura	846,45	2	423,22	121,46	<0,0001
Deshidratación	111,50	1	111,50	32,00	0,0001
Levadura * Deshidratación	58,53	2	29,26	8,40	0,0052
Error Experimental	41,81	12	3,48		
Total	1058,29	17			

Fuente: InfoStat (2019).

Centrando el análisis en el caso de estudio, el ANOVA de la tabla 4.8 indica un p-valor tanto para el factor levadura como para el método de deshidratación fue igual a 0,0001, por otra parte el p-valor correspondiente a la interacción de los factores fue de 0,0052 siendo $<0,05$ lo que conlleva a aceptar la hipótesis alternativa de que existe diferencia significativa de rendimiento en los tratamientos analizados, según la interacción de los factores extracto de levadura y método de deshidratación; por lo tanto, se procede a realizar la prueba de Tukey.

Tabla 4. 9. Prueba de Tukey de la interacción de los factores de la variable de consumo o rendimiento.

FACTOR L	FACTOR D	Medias	n	E. E	
0,25	Tamices	58,10	3	1,08	A
0,25	Salina	56,23	3	1,08	A B
0,10	Tamices	54,37	3	1,08	A B
0,10	Salina	51,33	3	1,08	B
0,5	Tamices	45,97	3	1,08	C
0,5	Salina	35,93	3	1,08	D

Fuente: InfoStat (2019).

Tabla 4. 10. Prueba de Tukey del factor L Extracto de levadura en la variable de consumo o rendimiento.

Levadura	CONSUMO O RENDIMIENTO			
	Medias	N	E.E	
0,025	57,17	6	0,76	A
0,10	52,58	6	0,76	B
0,5	40,95	6	0,76	C

Fuente: InfoStat (2019).

Tabla 4. 11. Prueba de Tukey del factor D Métodos de deshidratación en la variable de consumo o rendimiento.

Deshidratación	CONSUMO O RENDIMIENTO			
	Medias	N	E. E	
D. Tamices (D ₁)	52,81	9	0,62	A
D. Salina (D ₂)	47,83	9	0,62	B

Fuente: InfoStat (2019).

Según se muestra en la tabla 4.9, la prueba de Tukey ha determinado diferencia significativa en la interacción de los factores L y D, determinándose que la concentración idónea de levadura es de 0,025 kg en interacción con el método de deshidratación por tamices moleculares, proporcionando de esta manera un mayor rendimiento en el proceso de obtención de bioetanol.

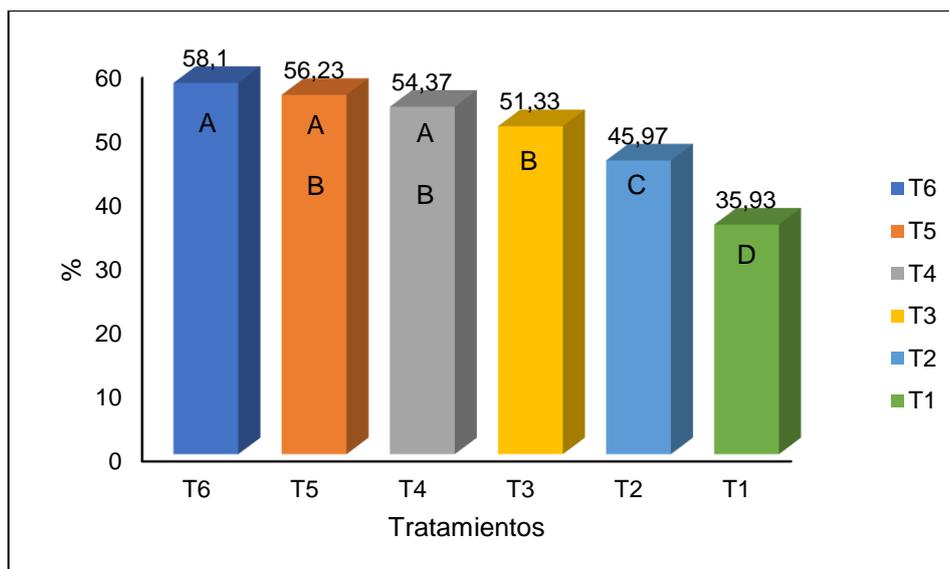


Gráfico 4. 4. Representación gráfica de los valores medios de Rendimiento.
Fuente: Endara y Zambrano (2020).

En este caso se identifican cuatro grupos dentro de la variable rendimiento y se registran valores de entre 35,93% y 58,10%, lo que indica diferencia significativa en el rendimiento entre cada uno de los tratamientos de estudio. Se puede concluir con base a ello, que el T₆ es el que muestra mayor rendimiento, seguido del T₅ y T₄, mientras que el de menor rendimiento corresponde al T₁. Estos valores indican que a menor cantidad de extracto de levadura se alcanza mayor índice de rendimiento de bioetanol.

Como parte del encuadre de resultados se toman a consideración los datos alcanzados por otros autores en estudios similares, mismos que denotan importantes variaciones en el rendimiento, Angulo (2017) por ejemplo alcanzó rendimientos de hasta un 42%, Vera y Zambrano (2018) alcanzaron un rendimiento del 19,49% y Cárdenas (2017) alcanzó rendimientos de hasta 13%. Este tipo de variaciones según explica López (2013) se debe al porcentaje de levadura utilizada y a los tiempos de fermentación, mismos que influyen en el rendimiento de producto terminado (etanol) a partir de mucílago de cacao.

4.2.5. GENERALIDADES DE LOS RESULTADOS

Una vez explicados los principales hallazgos en la etapa experimental, se procede a elaborar la tabla 4.12 en la que se agrupan los resultados de cada una de las variables analizadas con relación a los tratamientos abordados dentro del estudio, los que han

sido obtenidos a través del análisis de categorías mediante prueba de Tukey con margen de error del 5%.

Tabla 4. 12. Resultados de las muestras del laboratorio.

Tratamientos	pH	Categorías	Concentración (%)	Categorías	Relación Biomasa	Categorías	Rendimiento (%)	Categorías
T1	5,04	-	51,33	D	46,33	-	53,93	D
T2	5,19	-	65,67	C	54,67	-	45,97	C
T3	5,39	-	73,33	B	65,67	-	51,33	B
T4	5,62	-	77,67	A B	71,00	-	54,37	A B
T5	5,75	-	80,33	A B	72,67	-	56,23	A B
T6	5,86	-	83	A	76,67	-	58,10	A

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

La tabla anterior evidencia los datos facilitados por la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, en la cual se puede identificar que existió diferencia significativa en las variables concentración y rendimiento, por el contrario, en variables como pH y relación biomasa no se registraron variables estadísticas de significancia. Esto se constató mediante la prueba de Tukey mediante la cual se evaluó la interacción de los factores extracto de levadura (Factor L) y métodos de deshidratación (Factor D) en cada uno de los tratamientos. Con base a los resultados obtenidos se pudo concluir que el mejor tratamiento correspondió al T₆ seguido del T₅ los cuales mostraron mejores condiciones en el proceso de obtención de bioetanol a base de mucílago de cacao.

Como puede observarse, la obtención de bioetanol a partir de mucílago de cacao es factible considerando los resultados de laboratorio efectuados en el presente estudio, además de muestra viabilidad en la implementación de un biocombustible de esta naturaleza, ejemplo de ello es el caso de Colombia que mediante decreto 1135 firmado en 2009 y puesto en marcha a partir del 2012, dio paso a las condiciones para que automotores de hasta 2.000 cm³ comercializados en dicho país cuenten con acondicionamiento de sus motores para que funcionen con sistema flex-fuel E85, de este modo se cumple con la posibilidad de implementar este tipo de sistema dentro del Ecuador.

4.2.6. CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Partiendo de los resultados que se han alcanzado por medio del análisis de las variables sujetas de estudio, se procede a contrastar dichos datos con la hipótesis previamente planteada, en la cual se estableció que el método de tamices moleculares y de extractos de levadura influiría en la producción de etanol, potencializando la producción de biocombustible a base de mucílago de cacao. Para comprobar dicha premisa se procede a hacer la comparación de los tres tratamientos sometidos a deshidratación por tamices moleculares como son: T₂, T₄ y T₆, determinando de esta manera el cumplimiento o no de la hipótesis.

Tabla 4. 13. Comparación de los tratamientos T₂, T₄ y T₆ sometidos a deshidratación por tamices moleculares.

Variable	Unidad	T ₂	Categoría	T ₄	Categoría	T ₆	Categoría	Cumplimiento
pH	S/U	5,19	-	5,62	-	5,86	-	Cumple
Concentración	%	65,67	C	77,67	A B	83	A	Cumple
Relación biomasa	ml	54,67	-	71	-	76,67	-	Cumple
Rendimiento	%	54,97	C	54,37	A B	58,10	A	Cumple

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

Como se muestra en la tabla 4.13 existen diferencias entre los tratamientos T₂, T₄ y T₆ en cada una de las variables de estudio; a su vez se evidencia que el tratamiento T₆ ha sido el de mejores niveles de pH, concentración, relación biomasa y rendimiento, alcanzando en cada uno de ellos categoría A, lo que sugiere su idoneidad en el proceso de obtención de bioetanol. Con base a estos datos se puede manifestar que se cumple la hipótesis de estudio en cada una de las variables antes descritas.

La aceptación de esta hipótesis se sustenta además por los resultados que se muestran en los Análisis de la varianza (ANOVA) y en las pruebas de Tukey aplicadas a las variables de estudio, mediante los cuales se determinó diferencias significativas en cada uno de los tratamientos, debido a la interacción de los factores L y D, es decir que la cantidad de extracto de levadura y el método de deshidratación influyen considerablemente en la obtención de niveles óptimos de las características de bioetanol a base de mucílago de cacao.

4.3. VALORACIÓN ECONÓMICA DE LOS TRATAMIENTOS CON MEJORES RENDIMIENTOS DE BIOETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

En la tabla 4.14 se representa al análisis económico realizado por medio de una matriz de precios unitarios para obtención de bioetanol con el tratamiento escogido (T₆).

- a) **Equipos:** Los equipos que se utilizaron para la elaboración del bioetanol fueron un destilador con un analizador de grasa, los cuales fueron solicitados a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.
- b) **Materiales:** Se utilizaron materiales como Zeolita 3A, Cloruro de potasio, sulfato de amonio, levadura *Saccharomyces cerevisiae* y reactor batch.
- c) **Mano de obra:** La mano de obra se conformó por el ingeniero encargado del laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la ULEAM correspondiente a una jornada de 8 horas diarias.
- d) **Producción de bioetanol a escala de laboratorio:** Una vez detallado y sumado los subtotales de los equipos (M) \$ 0,09, mano de obra (N) \$ 1,21, Materiales (O) \$2,13, el valor de producción de bioetanol en escala laboratorio fue de \$3,54 por L.

Tabla 4. 14. Matriz de precio para la elaboración de bioetanol como combustible.

ANÁLISIS DE PRECIOS UNITARIOS					
Rubro:	PRODUCCIÓN DE BIOETANOL			Unidad:	cm ³
EQUIPOS					
Descripción	Cantidad	Tarifa	Costo hora	Rendimiento	Costo
	A	B	C=A*B	R	D=C*R
Destilador	1	0,01	0,01	3	0,03
Alcoholímetro	1	0,01	0,01	3	0,03
Analizador de grasa	1	0,01	0,01	3	0,03
SUBTOTAL M					0,09
MANO DE OBRA					
Descripción	Cantidad	Jornal/h	Costo hora	Rendimiento	Costo
	A	B	C=A*B	R	D=C*R
Laboratorista	0,1	4,04	0,40	3	1,21
SUBTOTAL N					1,21
MATERIALES					
Descripción	Unidad	Cantidad	Precio unitario	Costo	
		A	B	C=A*B	
Mucilago de cacao	l	28	0,001	0,028	
Zeolita 3A	g	325	0,001	0,325	
Cloruro de Potasio	g	200	0,001	0,2	
Sulfato de amonio	g	453	0,001	0,453	
Levadura	g	350	0,0015	0,525	
Reactor Batch	l	18	0,035	0,63	
SUBTOTAL O					2,13
TRANSPORTE					
Descripción	Unidad	Cantidad	Tarifa	Costo	
		A	B	C=A*B	
				0	
SUBTOTAL P				0	
	TOTAL, COSTO DIRECTO (M+N+O+P)				3,43
	INDIRECTOS 5 %				0,11
	COSTO TOTAL DEL RUBRO				3,54
	VALOR OFERTADO				3,54

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

Los costos indirectos pertenecen a los materiales procedentes del proceso, en donde se identifican el uso de esferos, papeles para hacer las anotaciones respectivas del proceso; resultando un costo de \$0,11 este representa el 5% del costo.

Bajo estos parámetros se viabiliza la oportunidad de producir bioetanol a precios competitivos, considerando a su vez el aprovechamiento de los residuos agrícolas como el mucílago de cacao que se genera en grandes cantidades en el país.

En la tabla 4.15 se representa el precio de venta del mercado de la producción de bioetanol a escala laboratorio, donde se alcanzó una utilidad de 15%.

Tabla 4. 15. Precio de venta

Materiales	2,13
Mano de obra	1,21
Costos indirectos	0,11
	=3,45
Unidades producidas	1
Costo unitario de producción	=3,45
Gastos de producción	92
Total, de unidades producidas	18
Gastos unitarios de producción	=0,05
Margen de utilidad	15%

Fuente: Endara y Zambrano (2020).

El precio de venta se calculó de acuerdo con la ecuación 4.1:

$$pv = (\text{Costos unitarios} + \text{gastos unitarios}) \% \text{ de utilidad} \quad [4.1]$$

$$pv = (3,54 + 0,05) 1,15\% = 4,13 \$$$

El precio de venta generado en el presente estudio es de \$4,13 por L. En una investigación similar Vera y Zambrano (2018) determinaron un precio de venta de \$8,25 por 500 ml de este biocombustible a base de mucílago de cacao, cabe indicar que este valor fue tomado a consideración bajo un esquema de producción a gran escala evaluando el rendimiento por hectárea, por lo cual sus costos a escala de laboratorio suelen ser más elevados.

Partiendo de dichos valores es necesario realizar una comparación de precios con otros biocombustibles de países como Colombia, Brasil y Ecuador; además de los precios del combustible convencional, tal como se detalla a continuación:

Tabla 4. 16. Comparación de precios biocombustibles de Ecuador, Colombia y Brasil.

País	Biocombustible	Precio (Galón)
Ecuador	Bioetanol	\$3,12
Colombia	Alcohol carburante	\$2,27
Brasil	Etanol anhidro	\$1,92

Fuente: Agencia de Regulación y Control Hidrocarburífero – ARCH (2020); Centro de Estudios Avanzados en Economía Aplicada-CEPEA (2020); Fedebiocombustibles (2020).

Tabla 4. 17. Precios de combustibles convencionales Ecuador.

Combustible	Precio (Galón)
Gasolina Extra	\$1,75
Gasolina Ecopaís (E5)	\$1,75
Gasolina Super	\$2,27

Fuente: Agencia de Regulación y Control Hidrocarburífero – ARCH (2020).

Como se puede observar, el precio de biocombustible del Ecuador supera al de los países como Colombia y Brasil, debido en gran medida a que dichas naciones cuentan con mayor nivel de producción y uso de los mismos.

Por su parte el bioetanol obtenido de la caña de azúcar que es utilizado actualmente en el Ecuador para la gasolina Ecopaís, mantiene un precio cercano al generado en el presente estudio, por ende, es importante que se tome a consideración el mucílago de cacao como una fuente potencial que permite aportar al desarrollo energético sustentable, así como a una agricultura responsable desde el punto de vista medioambiental. Tal como han indicado Anvoh *et al.* (2010) la valorización del mucílago de cacao podría también generar beneficios económicos para los pequeños agricultores, comerciantes y demás miembros de la cadena de producción por medio de la creación de destilerías para la producción de bioetanol, haciendo con ello frente a la caída en precio del cacao en el mercado internacional. Esta perspectiva además podría reducir la utilización excesiva de otros productos agrícolas para la obtención de etanol, permitiendo de este modo diversificar los recursos productivos.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos dentro de la presente investigación se procede a concluir lo siguiente:

- Con respecto a la caracterización de la materia azucarada se pudo conocer que el mucílago de cacao cumple con los parámetros idóneos de pH, grados brix, acidez y humedad de acuerdo con la norma INEN 2 478:2009, lo que permite su conversión a alcohol por medio de fermentación anaeróbica.
- Dentro del estudio se procedió a obtener bioetanol a partir de mucílago de cacao, en un experimento mediante el cual se diseñaron seis tratamientos con concentraciones de levadura de 0,5 kg, 0,1 kg y 0,025 kg, sometiendo las muestras a deshidratación salina y tamices moleculares. Con lo cual se pudo determinar mediante ANOVA y prueba de Tukey que con el T₆ (0,025 kg extracto de levadura y deshidratación por tamices moleculares) se obtuvieron los mejores indicadores en variables como: pH, concentración, relación biomasa y rendimiento.
- En cuanto a la valoración económica se pudo determinar que el valor de producción de bioetanol en escala laboratorio fue de \$3,54 por L, incluyendo los costos unitarios y gastos unitarios. El precio de venta generado dentro del cálculo fue de 4,13 incluido el 15% de margen de utilidad; de este modo se concluye que el bioetanol a partir de mucílago de cacao puede ser procesado a escala industrial a precios competitivos con relación a los combustibles fósiles.

5.2. RECOMENDACIONES

Habiendo concluido los principales hallazgos dentro del estudio, se puede recomendar lo siguiente:

- Evaluar que la materia prima utilizada en el proceso de elaboración de biocombustible no contenga líquidos ajenos al mucílago, puesto que transcurridos los tres días el mucílago de cacao pierde sus propiedades y se convierte en ácido acético por ende no sería viable someterlo a la obtención de etanol.
- Tomar los datos del presente estudio como punto de partida para profundizar en la factibilidad de la producción de bioetanol a base de mucílago de cacao a escala industrial.
- Medir los gases de efecto invernadero del producto final para determinar el impacto que genera el aprovechamiento de este residuo agrícola, conjuntamente es necesario que se mida el consumo del biocombustible en motores de dos tiempos.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia de Regulación y Control Hidrocarburífero – ARCH. (2020). *Precios combustibles*. Obtenido de www.controlhidrocarburos.gob.ec: <https://www.controlhidrocarburos.gob.ec/precios-combustibles/>
- Albarracin, K., Jaramillo, L., & Albuja, M. (2019). Obtención de bioetanol a partir de paja (*Stipa ichu*). *Revista Politécnica*, 36(2), pp. 1-9.
- Alder, V. (2018). Energías renovables, biocombustibles y microalgas marinas. *Revista Ciencia e Investigación*, pp. 29-42.
- Alonso, A., García, L., León, I., García, E., Gil, B., & Ríos, L. (2018). *Métodos de investigación de enfoque experimental*. Lima, Perú: Universidad Nacional de Educación Enrique Guzmán y Valle.
- Álvarez, A., Montes, N., Jazcilevich, A., Manríquez, J., Delgado, G., & de Diego, L. (2012). *Biocombustibles en México: Una alternativa para la reducción de la dependencia de los hidrocarburos y la mitigación de los gases efecto invernadero*. Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México, Programa de Investigación en Cambio Climático.
- Andrade, C., Corredor, A., Buitrago, L., & Lache, A. (2017). Procesos bioquímicos utilizados para la producción de bioetanol, biodiésel y biogás y su estado en Colombia. *Semilleros Formación Investigativa*, 3(1), pp. 101-117.
- Angulo, G. (2017). *Evaluación del proceso fermentativo del mucílago del cacao aplicando *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de bioetanol*. Quevedo, Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad Ciencias de la Ingeniería, Carrera Ingeniería Industrial.
- Anvoh, K., Guéhis, T., Beugré, G., Kinimo, J., & Gnakri, D. (2010). Comparison of biochemical changes during alcoholic fermentation of cocoa juice conducted by spontaneous and induced processes for the production of ethanol. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, pp. 2740-2754.

- Arce, G. (2001). *Evaluación técnica del vinagre para el manejo de malezas*. Zamorano, Honduras: ZAMORANO.
- Arteaga, Y. (2013). Estudio del desperdicio del mucilago de cacao en el cantón Naranjal (provincia del Guayas). *Revista ECA Sinergia. Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas. U.T.M*, 4(4), pp. 49-59.
- Avilés, P., Orellana, A., Suraty, M., Mackay, R., & Poveda, G. (2018). *Revisión a la sustentabilidad energética de los biocombustibles en el Ecuador*. Guayaquil, Ecuador: I Congreso Virtual Internacional sobre Economía Social y Desarrollo Local Sostenible.
- Balladares, C., Chóez, I., García, J., Sosa, D., Pérez, S., González, J., . . . Manzano, P. (2016). Physicochemical characterization of Theobroma cacao L. sweatings in Ecuadorian coast. *Revista Emirates Journal of Food and Agriculture*, pp. 741-745.
- Becerra, J. (2010). *Estadística descriptiva*. Ciudad de México, México: UNAM, Facultad de Contaduría y Administración.
- CAF. (2019). *Cacao fino de aroma, un producto latinoamericano de exportación*. Lima, Perú: Observatorio del Cacao Fino y de Aroma para América Latina.
- Campos, G., & Lule, N. (2012). La observación, un método para el estudio de la realidad. *Revista Xihmai*, pp. 45-60.
- Cárdenas, Y. (2017). *Rendimiento de alcohol del mucilago de cacao (Theobroma cacao L.) de los clones CCN-51 e IMC-67 con el uso de levadura comercial (Saccharomyces cerevisiae Meyen ex E.C. Hansen)*. Pullalca, Perú: Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Carrera, D. (2016). *Efecto del extracto del mucilago de cacao (Theobroma cacao L.) Como herbicida orgánico en paja peluda (Rottboellia cochinchinensis)*. Tumbes, Perú: Universidad Nacional de Tumbes, Escuela de Posgrado, Doctorado en Ciencias mención: Ciencias Ambientales.

- Castillo, P., Mendoza, A., & Caballero, P. (2012). Análisis de las propiedades fisicoquímicas de gasolina y diésel mexicanos reformulados con Etanol. *Revista Ingeniería Investigación y Tecnología*, pp. 293-306.
- Castro, M. (2012). Reflexiones en torno al desarrollo de los biocombustibles en Ecuador. *Centro Ecuatoriano de Derecho Ambiental* (25), pp. 1-6.
- Centro de Estudios Avanzados en Economía Aplicada-CEPEA. (2020). *Demanda por etanol aumenta e aquece mercado em São Paulo*. Obtenido de www.novacana.com:
<https://www.novacana.com/n/etanol/mercado/precos/cepea-demanda-etanol-aumenta-aquece-mercado-sao-paulo-250820>
- Cespedes, A., & Ravagnani, S. (1995). Modelo y simulación del proceso de destilación extractiva salina de etanol. *Revista Información Tecnológica*, pp. 17-20.
- CFN. (2018). *Ficha sectorial: Cacao y chocolate*. Quito, Ecuador: Subgerencia de Análisis e Información de la Corporación Financiera Nacional.
- Cobos, C. (2019). *Propuesta de un plan de exportación de chocolate con macadamia al mercado alemán*. Quito, Ecuador: Universidad Internacional del Ecuador, Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas.
- Cortés, M., Gata, E., Pipió, A., Rodríguez, A., & Sánchez, J. (2019). Biocombustibles: tipos y estrategias de producción. *MoleQla revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, pp. 1-6.
- Delgado, J., Soler, J., & Peña, J. (2018). Optimización de la producción de bioetanol en procesos fermentativos del mucílago de Cacao CCN – 51 en un biorreactor tipo batch. *Revista "Jornada de Jóvenes Investigadores del I3A"*, pp. 1-3.
- Díaz, M. (2017). Biocombustibles para el transporte. *Revista Ciencia*, pp. 55-61.
- Dufey, A. (2006). *Producción y comercio de biocombustibles y desarrollo sustentable: los grandes temas*. London, Inglaterra: Instituto Internacional para el Medio Ambiente y el Desarrollo.

- Escalante, J., & Fuentes, H. (2013). *Estudio experimental de obtención de bioetanol a partir de residuos agrícolas de banano orgánico en Piura (tesis de pregrado)*. Piura, Perú: Universidad de Piura.
- Espinoza, O., Ramírez, J., & Lugo, G. (2015). Ética en Biocombustibles. *Verano de la Investigación Científica*, 1(2), pp. 1-5.
- Fedebiocombustibles. (2020). *Resoluciones de precios*. Obtenido de www.fedebiocombustibles.com/:
<http://www.fedebiocombustibles.com/v3/main-pagina-id-30.htm>
- Garea, A. (2017). *Estudio de la obtención de bioetanol a partir de diferentes tipos de biomasa lignocelulósica. Matriz de reacciones y optimización*. Cantabria, España: Universidad de Cantabria.
- Gasga, R. (2015). *Modelos de un solo factor. Diseño Completamente al Azar*. Acatlán de Osorio, México: Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario.
- Gbohaida, V., Mossi, I., Adjou, E., Dossa, C., Wotto, D., Avlessi, F., & Sohounhloue, D. (2016). Évaluation du pouvoir fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* et de *S. carlsbergensis* dans la production de bioéthanol à partir du jus de la pomme cajou. *Journal of Applied Biosciences*, 101(1), pp. 9643-9652.
- Gómez, D. (2010). Suramérica y la seguridad energética: Una visión a la luz del sistema político internacional. *Díkaion*, 19(1), pp. 195-217.
- González, M., Hernández, F., & Perea, M. (2015). *Efecto del sustrato en la liberación DE CO2 por: Saccharomyces cerevisiae*. Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Grupo de alto nivel de expertos. (2013). *Los biocombustibles y la seguridad alimentaria*. Roma, Italia: Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial.
- Gualoto, M. (2017). *Tamices moleculares*. Obtenido de [es.slideshare.net](https://es.slideshare.net/MijailKirochka/tamices-moleculares-77464537):
<https://es.slideshare.net/MijailKirochka/tamices-moleculares-77464537>

- Guncay, J., & Silva, M. (2018). *Optimización de la producción de biomasa en procesos fermentativos del mucílago de cacao CCN – 51 aplicando la ecuación logística integrada y el modelo de Andrew y Levenspiel, bajo diferentes condiciones de operación*. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca.
- Hackenberg, N. (2008). Biocombustibles de segunda generación. *Revista Virtual REDESMA*, pp. 49-61.
- Hernández, C. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de hidrolizados de residuos de fruta*. Oviedo, España: Universidad de Oviedo, Master Universitario en Biotecnología Alimentaria.
- Laboratorio DIBICO. (2014). *Extracto de levadura*. Ciudad de México, México.
- Laboratorios Britania. (2017). *Extracto de levadura*. Buenos Aires, Argentina.
- Lauzurique, Y., Zumalacárregui, L., Pérez, O., & Molina, G. (2017). Evaluación de técnicas de deshidratación de etanol aplicando la simulación. *Revista DYNA*, PP. 185-192.
- Llanes, E., Rocha, J., Salazar, P., & Medrano, J. (2017). Producción e Impacto del Biodiesel: Una Revisión. *Revista mensual de la UIDE extensión Guayaquil*, pp. 59-76.
- López, J. (2013). *Obtención de una bebida alcohólica a partir de la fermentación de mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) En la planta de frutas y hortalizas de la Universidad Estatal de Bolívar*. Guaranda, Ecuador: Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Medio Ambiente.
- Luna, T. (2018). *Producción de etanol a partir del mucílago de cacao (Theobroma cacao) mediante fermentación alcohólica*. Machala, Ecuador: Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud.
- Luzuriaga, D. (2012). *Extracción y aprovechamiento del mucílago de cacao como materia prima en la elaboración de vino*. Quito, Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial.

- Márquez, A., & Salazar, E. (2015). *Análisis de los niveles de desperdicio del mucílago de cacao y su aprovechamiento como alternativa de biocombustible*. Milagro, Ecuador: Universidad Estatal de Milagro, Facultad Ciencias de la Ingeniería.
- MCD LAB. (2015). *Extracto de levadura*. Tlalnepantla de Baz, México: Universidad Autónoma de Baja California.
- Montoya, I., & Quintero, J. (2005). *Esquema tecnológico integral de la producción de bioetanol carburante*. Manizales, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Morelos, J. (2016). Análisis de la variación de la eficiencia en la producción de biocombustibles en América Latina. *Estudios Gerenciales*, 32(139), pp. 120-126.
- Navas, C. (2014). *La Industria de los Biocombustibles en Ecuador: caso producción y comercialización de etanol anhidro en la provincia de Bolívar*. Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Economía.
- Núñez, D. (2012). Uso de residuos agrícolas para la producción de biocombustibles en el departamento del Meta. *Revista Tecnura*, pp. 142-156.
- Otiniano, M., Romero, P., Guerrero, M., Linares, T., Salas, G., Lombira, L., . . . Cárdenas, J. (2014). Estudio experimental preliminar de la deshidratación del etanol con cloruro de sodio en un equipo de destilación discontinua con columna empacada de acero inoxidable. *Revista Per. Quím. Ing. Quím*, pp. 29-35.
- Pacheco, N., & Trujillo, J. (2019). *Obtención de etanol por fermentación alcohólica a partir del exudado de la pulpa de cacao (Theobroma cacao L.)*. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Paredes, J. (2015). Investigación en materia de bioenergía para la industria energética. *Revista Opción*, 31(4), pp. 709-716.

- Pazmiño, J., Vargas, Y., & Dávila, J. (2017). Perspectivas de las biorrefinerías y situación actual de los biocombustibles en Ecuador como país emergente. *Revista Científica Perfiles*, pp. 51-76.
- Pérez, I., & Garrido, N. (2011). Aspectos a tener en cuenta en la operación de un sistema de deshidratación de alcohol por tamices moleculares. *Revista ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 45(1), pp. 57-63.
- Pérez, O., & Gozá, O. (2003). *Producción de alcohol por vía fermentativa*. La Habana, Cuba: Universidad Tecnológica de La Habana "José Antonio Echeverría", Cujae.
- Peyton, K. (2016). *Nalco Champion Fuel Field manual*. New York, EE.UU.: Editorial McGraw-Hil.
- Pezo, R. (2015). *Utilización de cepas genéricas (Saccharomyces Cerevisiae) en mucilago de cacao (Theobroma Cacao L.) CCNN - 51 para obtener etanol por destilación fraccionada*. Tingo María, Perú: Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Industrias Alimentarias.
- Puerari, C., Teixeira, K., & Freitas, R. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Revista Food Research International*, pp. 634-640.
- Puga, J. (2019). *Creación de una bebida espumante alcohólica fermentada en base al mucílago de cacao*. Quito, Ecuador: Universidad de las Américas.
- Quintero, J., Montoya, M., Sánchez, O., & Cardona, C. (2007). Evaluación de la deshidratación de alcohol carburante mediante simulación de procesos. *Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias*, pp. 72-83.
- Quizhpi, E. (2016). *Caracterización del mucílago de Cacao CCN-51 mediante Espectrofotometría Uv-Visible y Absorción Atómica*. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Ingeniería Química.
- Ravagnani, S., & Reis, P. (2000). Modelo de orden reducido aplicado a una columna de destilación extractiva salina. *Revista Información Tecnológica*, pp. 43-50.

- Rodríguez, C., Díaz, D., Salvador, F., Ruiz, O., Arzola, C., Flores, A., . . . Elías, A. (2010). Efecto del nivel de urea y pasta de soya en la concentración de proteínas durante la fermentación en estado sólido de manzana de desecho (*Malus domestica*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(1), pp. 23-25.
- Rojas, A., Montaña, L., & Bastidas, M. (2015). Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. *Revista Colombiana de Química*, 44(3), pp. 5-10.
- Ronda, L. (2015). *Los nuevos usos de las levaduras*. Madrid, España: Axón Comunicación.
- Ruales, J., Burbano, H., & Ballesteros, W. (2011). Efecto de la fertilización con diversas fuentes sobre el rendimiento de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas*, pp. 81-94.
- Salazar, J. (2016). *Rendimiento de biomasa y valoración nutrimental de residuos pos cosecha de cacao (Theobroma cacao L)*. Ecuador: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.
- Sercalia. (2019). *Tamiz Molecular*. Obtenido de www.sercalia.com: <https://www.sercalia.com/tamiz-molecular/>
- Severiche, C., & Acevedo, R. (2013). Biogás a partir de residuos orgánicos y su apuesta como combustibles de segunda generación. *Revista INGENIUM*, pp. 6-15.
- Soliz, C. (2018). *Tamiz molecular*. Obtenido de es.scribd.com: <https://es.scribd.com/document/327496083/314424665-Tamiz-Molecular-docx>
- Suárez, C., Garrido, N., & Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *Revista ICIDCA*, pp. 20-28.

- Tenesaca, D. (2019). *Balance energético de la producción de bioetanol a partir de mucílago de cacao CCN-51 en los cantones Camilo Ponce Enríquez y La Troncal*. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca.
- Terenzi, S. (2017). *The Good, The Bad And The Ugly Of Cacao CCN-51*. Ecuador.
- Uyazán, A., Gil, I., Aguilar, J., Rodríguez, G., & Caicedo, L. (2004). Deshidratación del etanol. *Revista Ingeniería e Investigación*, 24(3), pp. 49-59.
- Vallejo, C., Ocampo, R., Morales, W., Soria, R., Vera, J., & Barén, C. (2015). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. *Revista ESPAM Ciencia*, pp. 51-58.
- Vásquez, C., Ruiz, C., Arango, D., Caicedo, R., Sánchez, M., Ríos, L., & Restrepo, G. (2007). Producción de etanol absoluto por destilación extractiva combinada con efecto salino. *Revista Dyna*, pp. 53-59.
- Vera, C., & Zambrano, I. (2018). *Evaluación de las características del mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) En la obtención de alcohol etílico*. Santo Domingo, Ecuador: Universidad de las Fuerzas Armadas, Departamento de Ciencias de la Vida y de las Agricultura, Carrera de Ingeniería Agropecuaria.
- Vera, J., Vallejo, C., Párraga, D., Macías, D., Ramos, R., & Morales, W. (2015). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (Theobroma cacao L.) en el Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), pp. 21-34.
- Villa, A., Moreno, L., & García, G. (2012). *Epidemiología y estadística en salud pública*. Ciudad de México, México: Editorial Mc Graw Hill.
- Villa, K. (2015). *Representación matemática de la operación de secado de cacao (Theobroma Cacao L.), empleando hojas de cálculo (Excel)*. Machala, Ecuador: Universidad Técnica de Machala.
- Villamar, F., Salazar, J., & Quinteros, E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en

Ecuador/Strategies for cultivation, marketing and export of aroma fine cocoa in Ecuador. *Ciencia Unemi*, 9(18), pp. 45-55.

Viñals, M., Bell, A., V, G., & Ramil, M. (2012). Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *Revista ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, pp. 7-16.

Young, C., & Steffen, P. (2009). Biocombustibles como estrategia de desarrollo ¿Rumbo hacia la sustentabilidad o hacia una nueva periferia? *Revista Latinoamericana Polis*, pp. 1-11.

ANEXOS

ANEXO 1. Recolección de la materia prima.

Imagen 1. Sacos de mucílago de cacao en el centro de acopio Fortaleza del Valle.

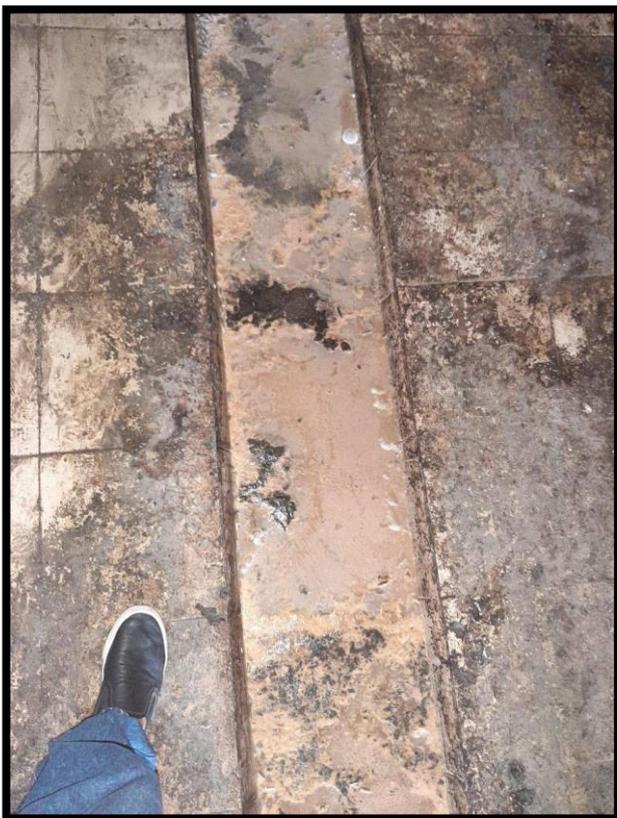
ANEXO 2. Observación de la problemática de la materia prima.

Imagen 2. Cisterna de la materia prima.



Imagen 3. Cisterna de residuo líquido.

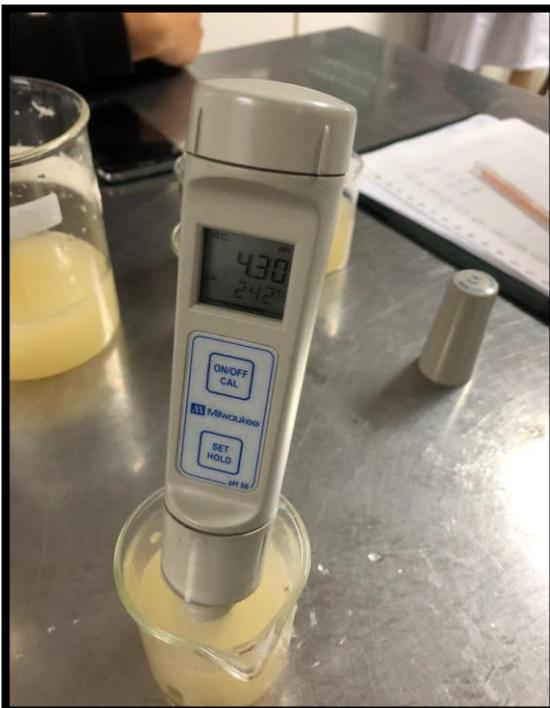
ANEXO 3. Toma de la muestra.**Imagen 4.** Muestra del residuo líquido.**Imagen 5.** Muestra en el laboratorio.**ANEXO 4. Análisis de la muestra de mucílago de cacao.****Imagen 6.** Análisis de la muestra.**Imagen 7.** Análisis grados Brix.

Imagen 8. Las muestras respectivas.



Imagen 9. Análisis de humedad.



Imagen 10. Determinar el pH de la muestra de mucilago de cacao.

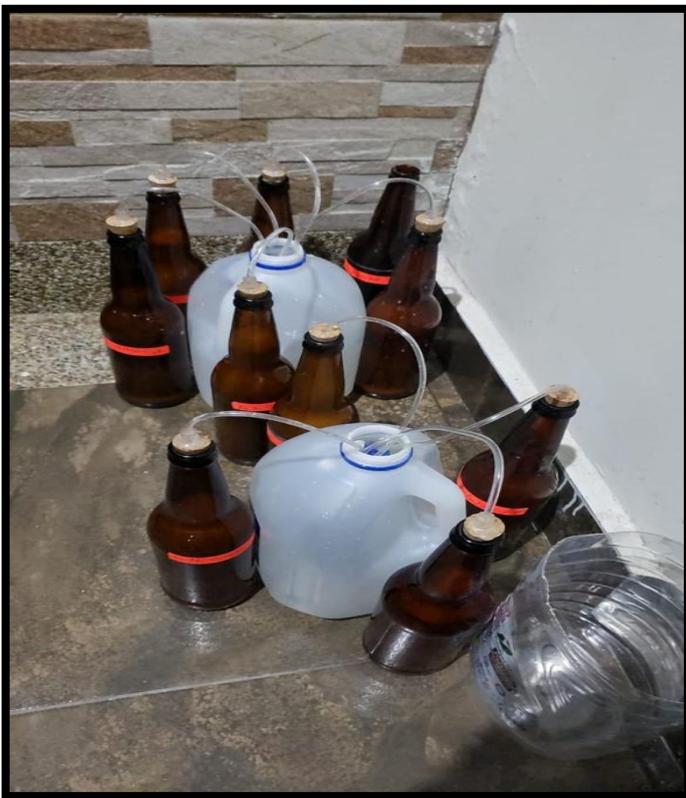
ANEXO 5. Proceso de fermentación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.**Imagen 11.** Reactor en construcción.**Imagen 12.** Preparación de las unidades experimentales.**Imagen 13.** Fermentación.**Imagen 14.** Listas para fermentar.



Imagen 15. Destilación Simple.

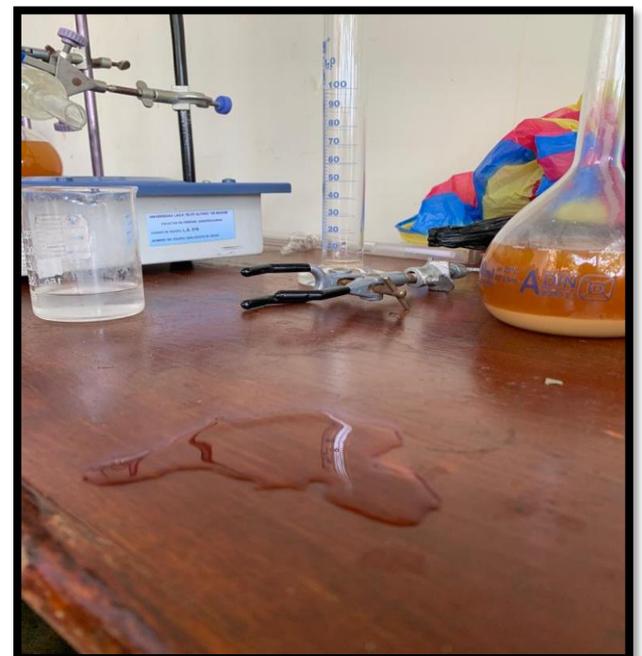
ANEXO 6. Deshidratación por tamices moleculares.



Imagen 16. Añadiendo el tamiz.



Imagen17. Destilación por tamices M.

ANEXO 7. Deshidratación salina.**Imagen 18. Añadiendo Cloruro de Calcio.****Imagen 19. Destilación Salina.****Imagen 20. Grados Alcohólicos.****Imagen 21. Prueba de grados Alcohólicos.**

ANEXO 9. Tabla de las variables a medir.

Fecha	Tratamiento	Deshidratación	Levadura	pH	Concentración	Unidad	Relación/ Biomasa	Unidad	Rendimiento	Unidad
13/7/2020	T1	Salina	0,5	5,01	47	%	40	ml	32,9	%
13/7/2020	T1	Salina	0,5	5,02	51	%	48	ml	35,7	%
13/7/2020	T1	Salina	0,5	5,09	56	%	51	ml	39,2	%
Promedio				5,04	51,33	%	46,33	ml	35,93	%
14/7/2020	T2	Tamices M	0,5	5,14	62	%	53	ml	43,4	%
14/7/2020	T2	Tamices M	0,5	5,17	66	%	56	ml	46,2	%
16/7/2020	T2	Tamices M	0,5	5,25	69	%	55	ml	48,3	%
Promedio				5,19	65,67	%	54,67	ml	45,97	%
16/7/2020	T3	Salina	0,10	5,33	71	%	63	ml	49,7	%
16/7/2020	T3	Salina	0,10	5,38	73	%	65	ml	51,1	%
18/7/2020	T3	Salina	0,10	5,45	76	%	69	ml	53,2	%
Promedio				5,387	73,333	%	65,667	ml	51,333	%
18/7/2020	T4	Tamices M	0,10	5,56	78	%	70	ml	54,6	%
18/7/2020	T4	Tamices M	0,10	5,61	78	%	73	ml	54,6	%
20/7/2020	T4	Tamices M	0,10	5,68	77	%	70	ml	53,9	%
Promedio				5,62	77,67	%	71,00	ml	54,37	%
20/7/2020	T5	Salina	0,025	5,71	80	%	71	ml	56,0	%
20/7/2020	T5	Salina	0,025	5,76	81	%	75	ml	56,7	%
21/7/2020	T5	Salina	0,025	5,79	80	%	72	ml	56,0	%
Promedio				5,75	80,33	%	72,67	ml	56,23	%
21/7/2020	T6	Tamices M	0,025	5,81	82	%	77	ml	57,4	%
21/7/2020	T6	Tamices M	0,025	5,87	82	%	75	ml	57,4	%
21/7/2020	T6	Tamices M	0,025	5,91	85	%	78	ml	59,5	%
Promedio				5,86	83,00	%	76,67	ml	58,10	%

ANEXO 10. Pruebas en InfoStat de Shapiro Wilks y Homosteceidad.

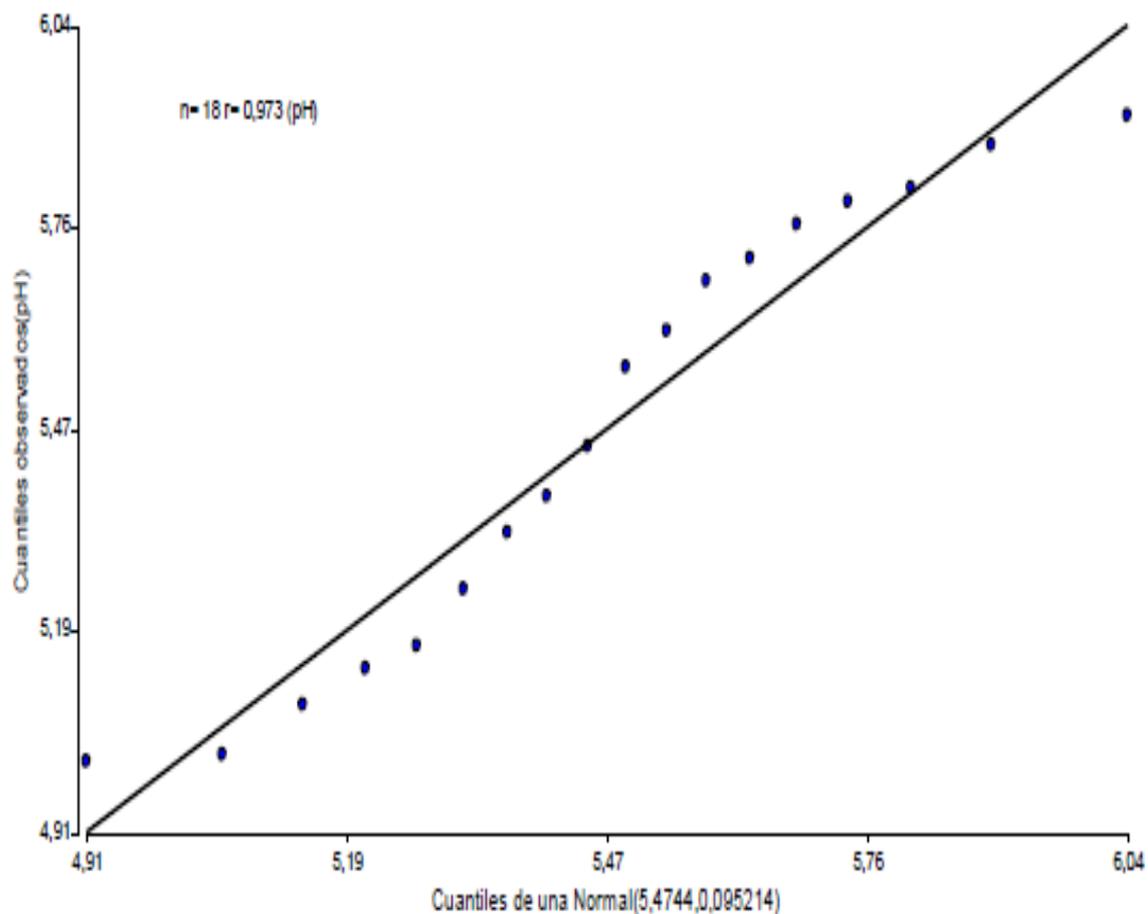
C:\Users\Usuario\Desktop\Nueva carpeta (3)\Nueva.tabla.IDB2 : 27/7/2020 - 20:27:42 - [Versión : 30/4/2020]

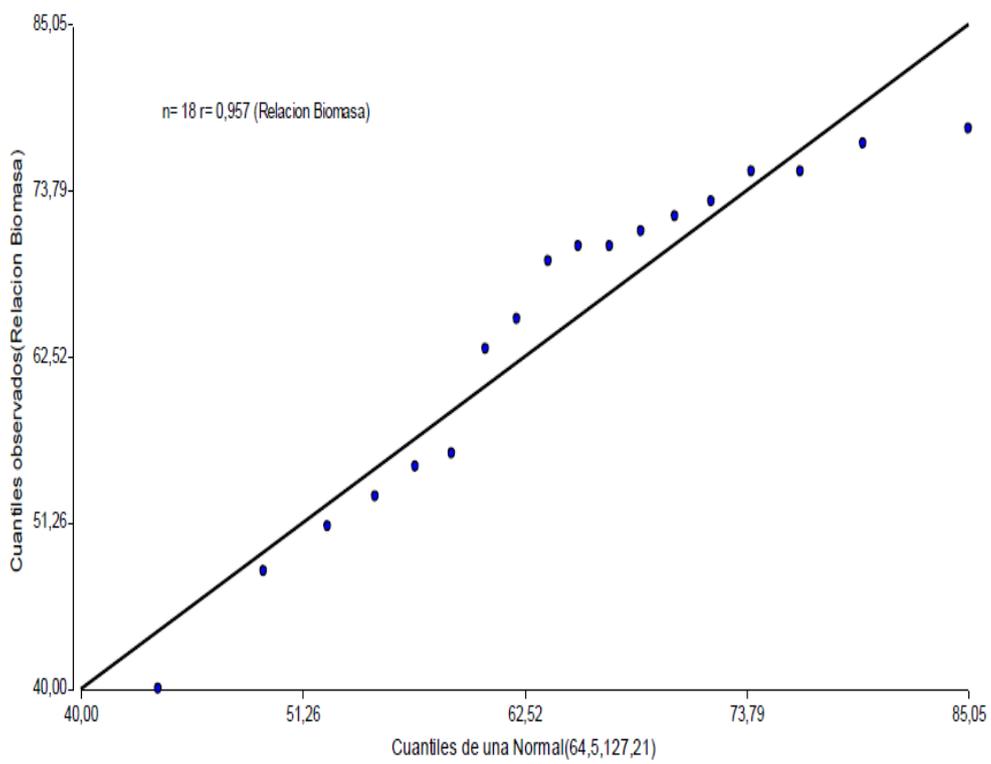
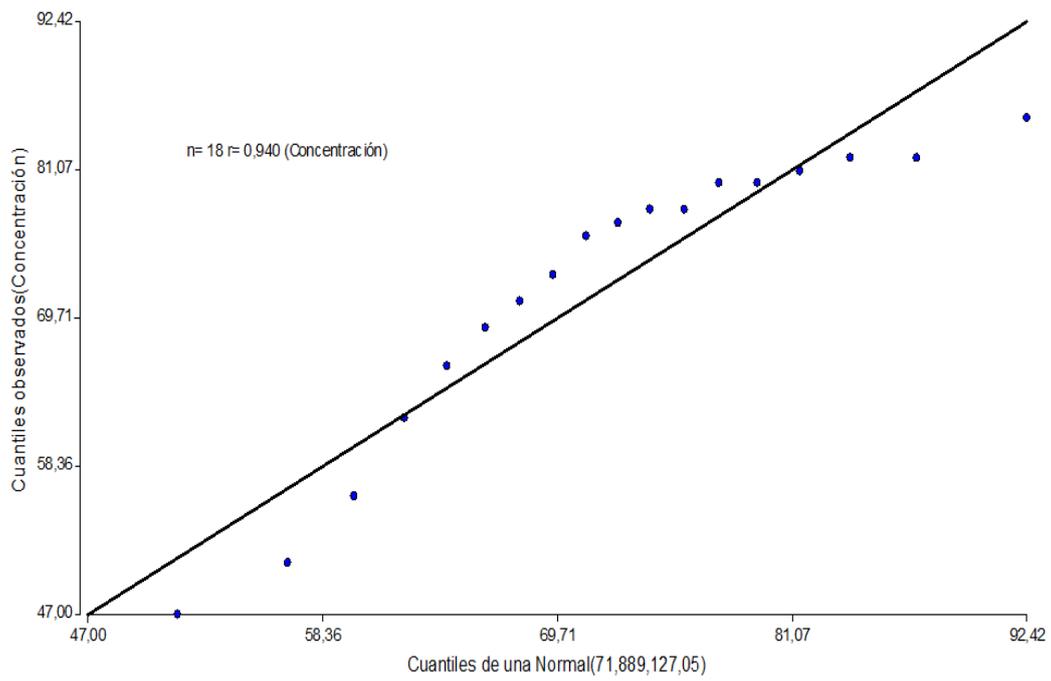
Shapiro-Wilks (modificado)

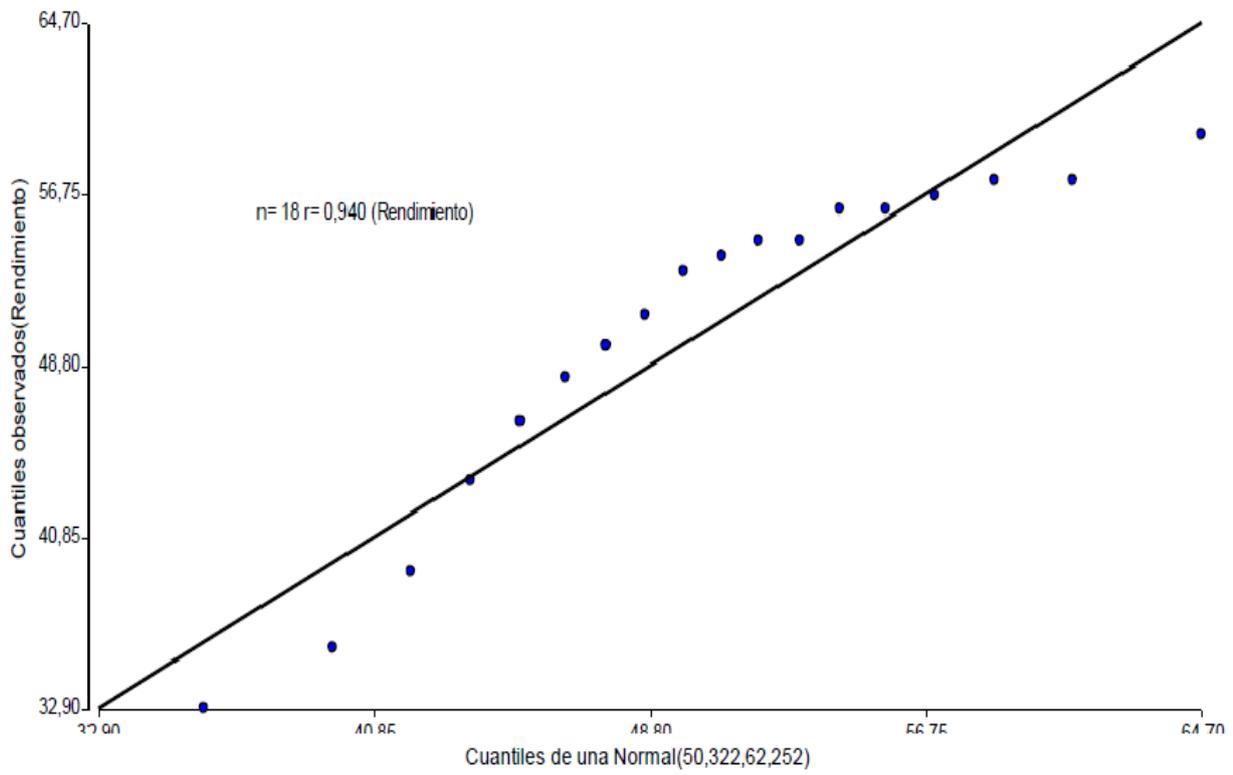
Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
pH	18	5,47	0,31	0,88	0,0626
Concentracion	18	71,89	11,27	0,86	0,0203
Relacion Biomasa	18	64,50	11,28	0,88	0,0660
Rendimiento	18	50,32	7,89	0,86	0,0203

H0: las observaciones tienen distribución normal.

H1: las observaciones no tienen distribución normal







ANEXO 11. ANOVA de cada una de las variables.

Nueva tabla : 25/8/2020 - 20:30:16 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	18	0,98	0,97	0,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,59	5	0,32	114,85	<0,0001
FACTOR L	1,46	2	0,73	263,62	<0,0001
FACTOR D	0,12	1	0,12	42,89	<0,0001
FACTOR L*FACTOR D	0,01	2	0,01	2,05	0,1709
Error	0,03	12	2,8E-03		
Total	1,62	17			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,08094

Error: 0,0028 gl: 12

FACTOR L Medias n E.E.

0,025	5,81	6	0,02	A
0,10	5,50	6	0,02	B
0,5	5,11	6	0,02	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05397

Error: 0,0028 gl: 12

FACTOR D Medias n E.E.

tamices	5,56	9	0,02	A
salinas	5,39	9	0,02	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14411

Error: 0,0028 gl: 12

FACTOR L FACTOR D Medias n E.E.

0,025	tamices	5,86	3	0,03	A
0,025	salinas	5,75	3	0,03	A B
0,10	tamices	5,62	3	0,03	B
0,10	salinas	5,39	3	0,03	C
0,5	tamices	5,19	3	0,03	D
0,5	salinas	5,04	3	0,03	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CONCENTRACION	18	0,96	0,94	3,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2074,44	5	414,89	58,34	<0,0001
FACTOR L	1727,44	2	863,72	121,46	<0,0001
FACTOR D	227,56	1	227,56	32,00	0,0001
FACTOR L*FACTOR D	119,44	2	59,72	8,40	0,0052
Error	85,33	12	7,11		
Total	2159,78	17			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,10744

Error: 7,1111 gl: 12

FACTOR L Medias n E.E.

0,025	81,67	6	1,09	A
0,10	75,50	6	1,09	B
0,5	58,50	6	1,09	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,73894

Error: 7,1111 gl: 12

FACTOR D Medias n E.E.

tamices	75,44	9	0,89	A
salinas	68,33	9	0,89	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,31346

Error: 7,1111 gl: 12

FACTOR L FACTOR D Medias n E.E.

0,025	tamices	83,00	3	1,54	A
0,025	salinas	80,33	3	1,54	A B
0,10	tamices	77,67	3	1,54	A B
0,10	salinas	73,33	3	1,54	B
0,5	tamices	65,67	3	1,54	C
0,5	salinas	51,33	3	1,54	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RENDIMIENTO	18	0,96	0,94	3,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1016,48	5	203,30	58,34	<0,0001
FACTOR L	846,45	2	423,22	121,46	<0,0001
FACTOR D	111,50	1	111,50	32,00	0,0001
FACTOR L*FACTOR D	58,53	2	29,26	8,40	0,0052
Error	41,81	12	3,48		
Total	1058,29	17			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,87521

Error: 3,4844 gl: 12

FACTOR L Medias n E.E.

0,025	57,17	6	0,76	A
0,10	52,85	6	0,76	B
0,5	40,95	6	0,76	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,91726

Error: 3,4844 gl: 12

FACTOR D Medias n E.E.

tamices	52,81	9	0,62	A
salinas	47,83	9	0,62	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,11942

Error: 3,4844 gl: 12

FACTOR L FACTOR D Medias n E.E.

0,025	tamices	58,10	3	1,08	A
0,025	salinas	56,23	3	1,08	A B
0,10	tamices	54,37	3	1,08	A B
0,10	salinas	51,33	3	1,08	B
0,5	tamices	45,97	3	1,08	C
0,5	salinas	35,93	3	1,08	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RELACION BIOMASA	18	0,95	0,93	4,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2055,17	5	411,03	45,95	<0,0001
FACTOR L	1884,33	2	942,17	105,34	<0,0001
FACTOR D	156,06	1	156,06	17,45	0,0013
FACTOR L*FACTOR D	14,78	2	7,39	0,83	0,4612
Error	107,33	12	8,94		
Total	2162,50	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,60659

Error: 8,9444 gl: 12

FACTOR L	Medias	n	E.E.	
0,025	74,67	6	1,22	A
0,100	68,33	6	1,22	B
0,500	50,50	6	1,22	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,07178

Error: 8,9444 gl: 12

FACTOR D	Medias	n	E.E.	
tamices	67,44	9	1,00	A
salinas	61,56	9	1,00	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

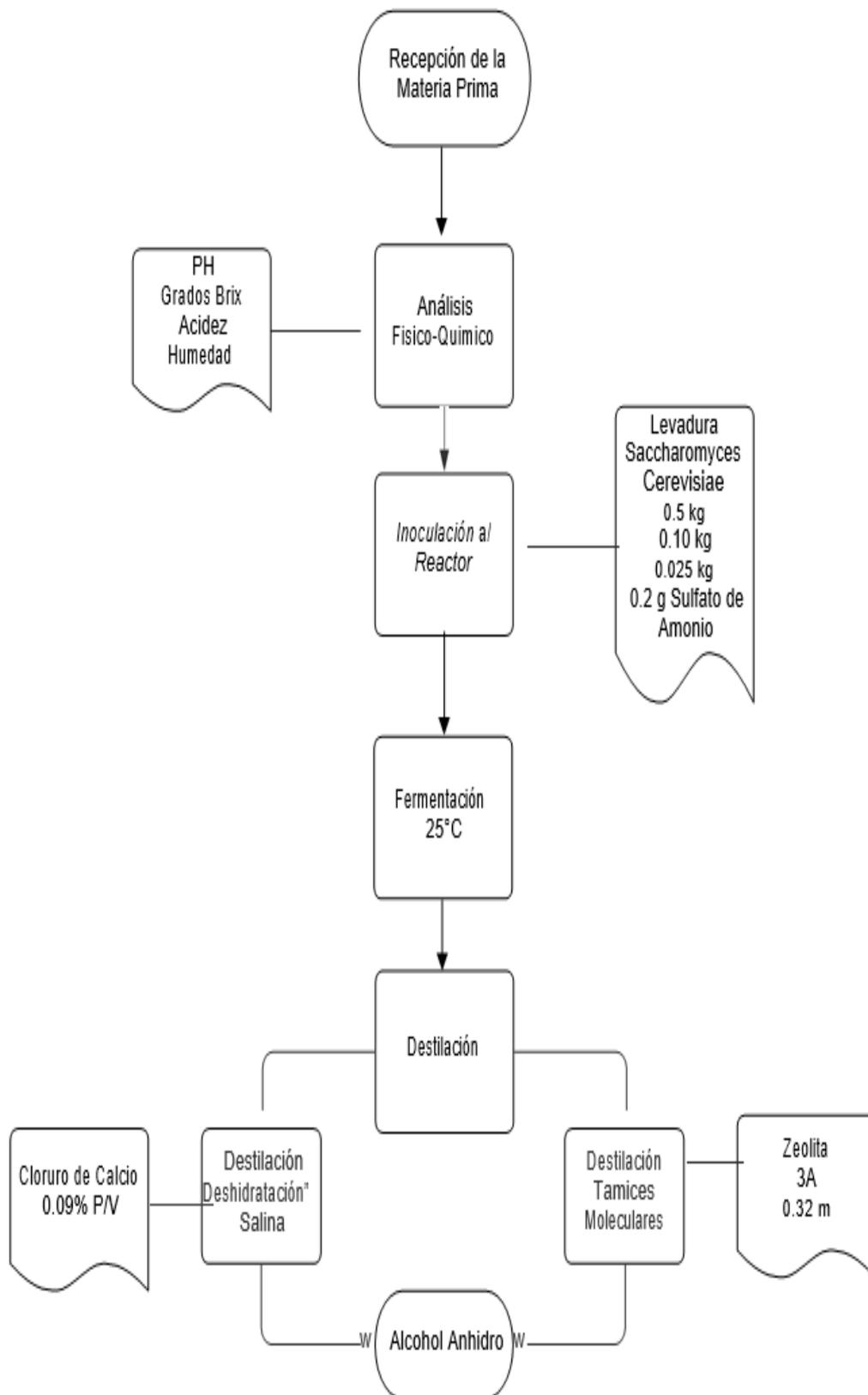
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,20221

Error: 8,9444 gl: 12

FACTOR L	FACTOR D	Medias	n	E.E.	
0,025	tamices	76,67	3	1,73	A
0,025	salinas	72,67	3	1,73	A B
0,10	tamices	71,00	3	1,73	A B
0,10	salinas	65,67	3	1,73	B
0,5	tamices	54,67	3	1,73	C
0,5	salinas	46,33	3	1,73	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO 12. Diagrama de flujo del proceso del mucílago de cacao para la producción de bioetanol.



ANEXO 13. Análisis de Laboratorio.



Facultad Ciencias Agropecuarias

CERTIFICADO: N°00-001

Manta, 23 de julio del 2020

**LOS LABORATORIOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CERTIFICAN LOS RESULTADOS DE LOS SIGUIENTES ANÁLISIS**

Los resultados presentados en este documento corresponden a **Zambrano Briones Gema** y **Endara Cedeño Carlos Alejandro**. Estudiantes egresados de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Escuela Politécnica Superior Agropecuaria de Manabí. El estudio fue realizado en el Lab. De Análisis de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la (ULEAM), siendo estos los siguientes: destilación de los diferentes tratamientos, determinar pH y concentración, dichos análisis corresponden al trabajo de titulación “Aprovechamiento del mucilago de cacao (teobroma cacao) como alternativa de producción de biocombustible en la ciudad de Canuto-Manabí”.

		pH		
		Factor D: Método de Deshidratación		
		D1. Deshidratación Salina	D2. Deshidratación de taníes moleculares	
Factor L: Extracto de Levadura	L1. 0,5 kg	T1R1	5,01	
		T1R2	5,02	
		T1R3	5,09	
		T2R1		5,14
		T2R2		5,17
		T2R3		5,25
	L2. 0,1 kg	T3R1	5,33	
		T3R2	5,38	
		T3R3	5,45	
		T4R1		5,56
		T4R2		5,61
		T4R3		5,68
	L3. 0,025 kg	T5R1	5,71	
		T5R2	5,76	
		T5R3	5,79	
		T6R1	5,81	
		T6R2	5,87	
		T6R3	5,91	

CERTIFICADO: N°00-001

GRADOS ALCOHÓLICOS				
		Factor D: Método de Deshidratación		
		D1.Deshidratación Salina	D2.Deshidratación de tamices moleculares	
		Factor L: Extracto de Levadura	L1. 0,5 kg	T1R1
T1R2	51%			
T1R3	56%			
T2R1				62%
T2R2				66%
T2R3				69%
L2. 0,1 kg	T3R1		71%	
	T3R2		73%	
	T3R3		76%	
	T4R1			78%
	T4R2			78%
	T4R3			77%
L3. 0,025kg	T5R1	80%		
	T5R2	81%		
	T5R3	80%		
	T6R1		82%	
	T6R2		82%	
	T6R3		85%	

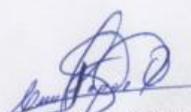
OBTENCIÓN DE ALCOHOL EN RELACIÓN A LA BIOMASA				
		Factor D: Método de Deshidratación		
		D1. Deshidratación Salina	D2. Deshidratación de tamices moleculares	
		Factor L: Extracto de Levadura	L1. 0,5 kg	T1R1
T1R2	48ml			
T1R3	51ml			
T2R1				53ml
T2R2				56ml
T2R3				55ml
L2. 0,1 kg	T3R1		63ml	
	T3R2		65ml	
	T3R3		69ml	
	T4R1			70ml
	T4R2			73ml
	T4R3			70ml
L3. 0,025 kg	T5R1		71ml	
	T5R2		75ml	
	T5R3		72ml	
	T6R1			77ml
	T6R2			75ml
	T6R3			76ml

CERTIFICADO: N°00-001

RENDIMIENTO			
		Factor D: Método de Deshidratación	
		D1. Deshidratación Salina	D2. Deshidratación de tamices moleculares
Factor L: Extracto de Levadura	L1. 0,5 kg	T1R1	32,9ml
		T1R2	35,7ml
		T1R3	39,2ml
		T2R1	43,4ml
		T2R2	46,2ml
		T2R3	48,3ml
	L2.0,1 kg	T3R1	49,7ml
		T3R2	51,1ml
		T3R3	53,2ml
		T4R1	54,6ml
		T4R2	54,6ml
		T4R3	53,9ml
	L3.0,025 kg	T5R1	56,0 ml
		T5R2	56,7ml
		T5R3	56,0ml
		T6R1	57,4ml
		T6R2	57,4ml
		T6R3	59,5ml

Particular que informamos para fines pertinentes.

Atentamente


 Ing. César López Zambrano Mg.
 Técnico de Laboratorio de F.C.A
 Email: a1312043159@uleam.edu.ec

 Ing. Marlon Castro García Mg.
 Asistente de Investigación de F.C.A
 Email: a1311071094@uleam.edu.ec

 Cc.: Archivo
 Ing. George García Mera Mg. - Decano Facultad Ciencias Agropecuarias

Responsables	Nombres	Fecha
Elaborado por	Dra. Natacha Vizuetta Arévalo Técnico Docente F. C. A	23/07/2020
Autorizado por	Ing. George García	