



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERIA QUIMICA

**SIMULACIÓN DE UN BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE
ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO**

**APOLO CHAMBA ANGELO OMAR
INGENIERO QUIMICO**

**GONZÁLEZ CRUZ JORDY JAVIER
INGENIERO QUIMICO**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERIA QUIMICA

**SIMULACIÓN DE UN BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE
ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO**

**APOLO CHAMBA ANGELO OMAR
INGENIERO QUIMICO**

**GONZÁLEZ CRUZ JORDY JAVIER
INGENIERO QUIMICO**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERIA QUIMICA

TRABAJOS EXPERIMENTALES

**SIMULACIÓN DE UN BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN
DE ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO**

**APOLO CHAMBA ANGELO OMAR
INGENIERO QUIMICO**

**GONZÁLEZ CRUZ JORDY JAVIER
INGENIERO QUIMICO**

CARCHI TANDAZO TANYA ALEXANDRA

**MACHALA
2023**

Simulación de un bioproceso para la obtención de etanol a partir del mucílago de cacao

por Angelo Omar Apolo Chamba

Fecha de entrega: 07-mar-2024 09:03a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2314196435

Nombre del archivo: TESIS_FINAL_ENVIADA_PARA_TURNITIN.pdf (2.03M)

Total de palabras: 13428

Total de caracteres: 75550

Simulación de un bioproceso para la obtención de etanol a partir del mucílago de cacao

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.acvenisproh.com Fuente de Internet	<1 %
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1 %
3	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
4	Christiano Pedro Guirlanda, Geisa Gabriela da Silva, Jacqueline Aparecida Takahashi. "Cocoa honey: agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product?", Future Foods, 2021 Publicación	<1 %
5	Submitted to Escuela Superior Politécnica del Litoral Trabajo del estudiante	<1 %
6	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
7	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1 %

8	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1 %
9	quetzal.uis.edu.co Fuente de Internet	<1 %
10	doczz.net Fuente de Internet	<1 %
11	dokumen.pub Fuente de Internet	<1 %
12	pirhua.udep.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD, UNAD Trabajo del estudiante	<1 %
14	sites.google.com Fuente de Internet	<1 %
15	Submitted to Escuela Politecnica Nacional Trabajo del estudiante	<1 %
16	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1 %
17	repositorio.ulvr.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
18	Submitted to Universidad Privada del Norte Trabajo del estudiante	<1 %

19	Natasha Kevellyn dos Santos, Daniel Pasquini, Milla Alves Baffi. "Factors that influence the enzymatic hydrolysis of agricultural wastes for ethanol production: a review", The Journal of Engineering and Exact Sciences, 2022 Publicación	<1 %
20	archivo.asambleanacional.gob.ec Fuente de Internet	<1 %
21	digital.library.unt.edu Fuente de Internet	<1 %
22	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
23	www.economia.umich.mx Fuente de Internet	<1 %
24	www.ibm.com Fuente de Internet	<1 %
25	www.neefusa.org Fuente de Internet	<1 %
26	Submitted to Universidad Industrial de Santander UIS Trabajo del estudiante	<1 %
27	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
28	doku.pub Fuente de Internet	<1 %

29

es.unionpedia.org

Fuente de Internet

<1 %

30

es.wikihow.com

Fuente de Internet

<1 %

31

rinacional.tecnm.mx

Fuente de Internet

<1 %

32

Luis M. Romero-Rodríguez, Paloma Contreras-Pulido, M. Amor Pérez-Rodríguez. "Media competencies of university professors and students. Comparison of levels in Spain, Portugal, Brazil and Venezuela / Las competencias mediáticas de profesores y estudiantes universitarios. Comparación de niveles en España, Portugal, Brasil y Venezuela", Cultura y Educación, 2019

Publicación

<1 %

33

Por Lemus. "Estudio comparado del desarrollo Embrionario de Especies ovíparas y una ovovivípara (Gallus gallus, Coturnix c. japonica y Liolaemus tenuis t.)", Anatomia Histologia Embryologia Journal of Veterinary Medicine Series C, 9/1984

Publicación

<1 %

34

docs.google.com

Fuente de Internet

<1 %

35

dspace.sti.ufcg.edu.br:8080

Fuente de Internet

<1 %

36	dspace.unach.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
37	dtm-library.updatestar.com Fuente de Internet	<1 %
38	entrenos.eafit.edu.co Fuente de Internet	<1 %
39	grandesmarcas.cl Fuente de Internet	<1 %
40	infodisclm.com Fuente de Internet	<1 %
41	worldwidescience.org Fuente de Internet	<1 %
42	www.bcie.org Fuente de Internet	<1 %
43	www.fagro.edu.uy Fuente de Internet	<1 %
44	www.fecra.com.ar Fuente de Internet	<1 %
45	www.iie.org.mx Fuente de Internet	<1 %
46	www.mef.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
47	www.monitoreoforestal.gob.mx Fuente de Internet	<1 %

48

www.tenaris.com.ar

Fuente de Internet

<1 %

49

"FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2019/FAO annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2019/FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2019", Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2021

Publicación

<1 %

50

Claudia Conesa Domínguez. "DESARROLLOS TECNOLÓGICOS PARA LA MEJORA Y CONTROL DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE RESIDUOS AGROALIMENTARIOS", Universitat Politecnica de Valencia, 2017

Publicación

<1 %

51

Daniel A. Jacobo-Velázquez, Gerardo Castellanos-Dohnal, Porfirio Caballero-Mata, Carmen Hernández-Brenes. "Cambios bioquímicos durante el almacenamiento de puré de aguacate adicionado con antioxidantes naturales y procesado con alta presión hidrostática", CyTA - Journal of Food, 2013

Publicación

<1 %

52

rdu.unc.edu.ar

Fuente de Internet

<1 %

53	repositorio.uchile.cl Fuente de Internet	<1 %
54	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	<1 %
55	www.cyberasesor.com Fuente de Internet	<1 %
56	www.eluniversal.com Fuente de Internet	<1 %
57	www.guiafc.com Fuente de Internet	<1 %
58	www.jove.com Fuente de Internet	<1 %
59	www.mt.com Fuente de Internet	<1 %
60	www.proz.com Fuente de Internet	<1 %
61	www.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
62	Raquel Heras Mozos. "Envases activos basados en el anclaje covalente reversible de compuestos antimicrobianos en quitosano.", Universitat Politecnica de Valencia, 2022 Publicación	<1 %
63	cienciaspecuarias.inifap.gob.mx Fuente de Internet	<1 %

64

uvadoc.uva.es

Fuente de Internet

<1 %

65

"Qualitative approaches to research on plurilingual education / Enfocaments qualitativus per a la recerca en educació plurilingüe / Enfoques cualitativos para la investigación en educación plurilingüe",
Research-Publishing.net, 2017

Publicación

<1 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Apagado

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, APOLO CHAMBA ANGELO OMAR y GONZÁLEZ CRUZ JORDY JAVIER, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado SIMULACIÓN DE UN BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

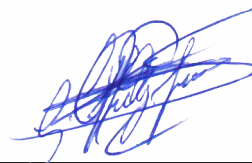
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



APOLO CHAMBA ANGELO OMAR

0706408127



GONZÁLEZ CRUZ JORDY JAVIER

0750755571

UNIVERSITAS
MAGISTROURUM
ET SCHOLARIUM

DEDICATORIA

A mi sobrino Jair Castillo, quien me demostró que en lo corta que es la vida, siempre habrá personas que llenarán de luz nuestro camino y nos motivarán a seguir mejorando.

Angelo Omar Apolo Chamba

En primer lugar, dedico este trabajo a Dios quien me ha permitido llegar donde estoy hasta ahora, me ha dado mucho bienestar para estar luchando día a día; a mi madre Ketty por siempre apoyarme en todo, darme el estudio y mucho amor; a toda mi familia por siempre creer en mí y darme todo su apoyo de manera profesional.

Jordy Javier González Cruz

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a mi tutor de tesis, la Ing. Tanya Carchi y al Ing. Humberto Ayala, quienes me guiaron y aconsejaron durante todo el desarrollo de esta investigación. Su experiencia y conocimientos fueron fundamentales para alcanzar los objetivos propuestos.

Finalmente, un agradecimiento eterno a mi familia: a mis padres María y Teófilo, por su amor, su fe en mí y sus sabios consejos. A mis hermanos por su constante aliento, a motivarme a seguir mis metas, y por último a mis amigos más cercanos, los cuales me han inspirado y dado ideas durante el desarrollo del trabajo de tesis.

Angelo Omar Apolo Chamba

Le quiero agradecer a Dios por todo lo que ha hecho por todos nosotros; a mis padres Ketty y Javier, por todo su apoyo emocional, físico y económico; a mi hermana Angie quien de manera indirecta me apoyó a realizar este trabajo; a mi abuelita Leonor y familiares; a mi novia Angie Sinche que ayudo a realizarme como persona apoyándome emocionalmente dándome fuerzas y ánimos; a mis amigos: Luis Emanuel, Angelo, Brenda, Valeria, Isabel, Nicole, Heidi, Carlos, Michael y todos quien de alguna manera ayudaron y aportaron a mi ser para dar lo mejor de mí en la carrera profesional.

Jordy Javier González Cruz

RESUMEN

El mucílago de cacao CCN-51 es un residuo orgánico generado en grandes volúmenes en las zonas cacaoteras de Ecuador, lo que representa un impacto ambiental significativo. Dada su composición rica en azúcares fermentables, en el presente trabajo se evaluó el uso del mucílago como sustrato para la producción de bioetanol mediante fermentación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* cepa *Fermivin XL*, la cual posee características cinéticas adecuadas para llevar a cabo un proceso fermentativo eficiente en tiempos cortos.

Se realizaron tres experimentos de fermentación, variando la concentración de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* *Fermivin XL* (0.5, 1 y 1.5 g/L) con adición de sulfato de amonio como nutriente, cuya cantidad dependió de los °Brix iniciales de cada muestra (8.5, 9.35 y 7.775 g/L para 17, 18.7 y 15.5 °Brix respectivamente). La relación utilizada fue 3.75 g de sulfato de amonio por cada 500 ml de muestra con 15 °Brix, equivalente a 7.5 g de $(NH_4)_2SO_4$ por litro. Estos experimentos permitieron evaluar el efecto de la concentración de inóculo y nutriente sobre la cinética fermentativa y el rendimiento en la producción de bioetanol a partir del mucílago de cacao CCN51 como sustrato.

Posteriormente, mediante simulación en el software COCO Simulator, se modeló la etapa de destilación, con el objetivo de obtener un bioetanol de alta pureza (>99%) apto para su utilización en diversas industrias como la alimentaria, química y petroquímica. La simulación también permitió optimizar la recuperación de solventes y el tratamiento de corrientes residuales maximizando el aprovechamiento de los subproductos.

Los resultados de las simulaciones demostraron la viabilidad técnica del proceso propuesto para el aprovechamiento integral del mucílago de cacao CCN-51 como materia prima en la producción de bioetanol. Esto representa una alternativa prometedora para dar valor agregado a este desecho, mitigando su impacto ambiental y generando un biocombustible de alto valor energético.

Esta valorización integral del mucílago de cacao no solo permite mitigar su impacto ambiental como desecho, sino que también promueve un enfoque de economía circular al convertirlo en un producto de valor agregado. Además, el bioetanol obtenido representa una fuente de energía renovable que contribuye al desarrollo de biocombustibles amigables con el medio ambiente, ofreciendo una alternativa más sostenible frente a los combustibles fósiles y sus efectos nocivos.

Este estudio sienta las bases para el aprovechamiento biotecnológico de otros residuos agroindustriales en la producción de bioenergía, fomentando prácticas más ecológicas y una transición hacia una economía baja en carbono.

PALABRAS CLAVES:

Mucilago de cacao, fermentación, COCO Simulator y bioetanol.

ABSTRACT

The CCN-51 cocoa mucilage is an organic residue generated in large volumes in the cocoa-producing areas of Ecuador, representing a significant environmental impact. Given its rich composition in fermentable sugars, the present work evaluated the use of mucilage as a substrate for bioethanol production through fermentation with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain Fermivin XL, which possesses suitable kinetic characteristics to carry out an efficient fermentative process in the short times.

Three fermentation experiments were conducted varying the concentration of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin XL (0.5, 1, and 1.5 g/L) with the addition of ammonium sulfate as a nutrient, the amount of which depended on the initial °Brix of each sample (8.5, 9.35, and 7.75 g/L for 17, 18.7, and 15.5 °Brix, respectively). The ratio used was 3.75 g of ammonium sulfate per 500 ml of sample with 15 °Brix, equivalent to 7.5 g of $(NH_4)_2SO_4$ per liter. These experiments allowed evaluating the effect of inoculum and nutrient concentration on the fermentation kinetics and bioethanol production yield using cocoa mucilage CCN51 as the substrate.

Subsequently, through simulation in the COCO Simulator software, the distillation stage was modeled, with the aim of obtaining a high purity bioethanol (>99%) suitable for use in various industries such as food, chemical and petrochemical. The simulation also allowed optimizing solvent recovery and residual stream treatment, maximizing the utilization of by-products.

The simulation results demonstrated the technical feasibility of the proposed process for the integral utilization of CCN-51 cocoa mucilage as a raw material in bioethanol production. This represents a promising alternative to add value to this waste, mitigating its environmental impact and generating a high-energy value biofuel.

This integral valorization of cocoa mucilage not only allows mitigating its environmental impact as waste, but also promotes a circular economy approach by converting it into a value-added product. Furthermore, the obtained bioethanol represents a renewable energy source that contributes to the development of environmentally friendly biofuels, offering a more sustainable alternative to fossil fuels and their harmful effects. This study lays the foundation for the biotechnological utilization of other agroindustrial residues in bioenergy production, fostering more ecological practices and a transition towards a low-carbon economy.

KEY WORDS:

Cocoa mucilage, fermentation, COCO Simulator and bioethanol.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	V
LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
1. MARCO TEORICO.....	5
1.1 Cacao	5
1.1.1 <i>Producción Nacional e Internacional.</i>	5
1.1.2 <i>Partes del cacao.</i>	6
1.1.3 <i>Composición del cacao.</i>	7
1.1.4 <i>Residuos del cacao.</i>	8
1.1.4.1 <i>Mucílago de cacao.</i>	8
1.2 Fermentación del mucílago de cacao	9
1.2.1 <i>Extracción del mucílago de cacao.</i>	9
1.2.2 <i>Análisis iniciales del mucílago de cacao.</i>	10
1.2.3 <i>Fermentación alcohólica.</i>	10
1.2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	10
1.2.5 <i>Saccharomyces Cerevisiae Fermivin XL.</i>	11
1.2.6 <i>Cultivo de la Saccharomyces Cerevisiae.</i>	11
1.3 Simulación de procesos	11
1.3.1 <i>Simulación de procesos químicos.</i>	11
1.3.2 <i>Tipos de simuladores.</i>	11

1.3.2.1 Aspen Plus.	12
1.3.2.2 Aspen HYSYS.	12
1.3.2.3 ChemCAD.	12
1.3.2.4 COMSOL Multiphysics.....	13
1.3.2.5 GPROMS.	13
1.3.2.6 ProSimPlus.....	13
1.3.3 <i>Simulador COCO.</i>	13
1.3.3.1 COFE.	14
1.3.3.2 TEA.	14
1.3.3.3 CUSCUS.	14
1.3.3.4 CHEMSEP.....	14
1.3.4 <i>Modelos termodinámicos.</i>	14
1.3.4.1 WILSON.	14
1.3.4.2 UNIFAC.....	15
1.3.4.3 UNIQUAC.....	15
1.3.4.4 NRTL.....	15
1.3.4.5 Soave-Redlich-Kwon (SRK).	15
2. METODOLOGIA.....	16
2.1 Sujetos o unidades de análisis.	16
2.1.1 <i>Ubicación geográfica.</i>	16
2.1.2 <i>Identificación de variables.</i>	16
2.1.3 <i>Población y muestra.</i>	16
2.2 Materiales y métodos	17
2.2.1 <i>Obtención del mucílago.</i>	18
2.2.2 <i>Esterilización del Jugo de Mucílago.</i>	18
2.2.3 <i>Caracterización del mucílago de cacao.</i>	18
2.2.4 <i>Proceso de fermentación del mucílago de cacao CCN51.</i>	20
2.2.5 <i>Proceso de destilación en simulador COCO.</i>	22
2.2.5.1 <i>Primera Columna de destilación.</i>	23

2.2.5.2 Segunda Columna de destilación.	23
2.2.5.3 Tercera Columna de destilación.	24
2.2.5.4 Cuarta Columna de destilación.....	25
2.3 Proceso de recolección y análisis de datos	26
2.3.1 <i>Identificación de fuentes de datos.</i>	26
2.3.2 <i>Diseño del instrumento de recolección de datos.</i>	26
2.3.3 <i>Recolección de datos.</i>	26
2.3.4 <i>Organización y limpieza de datos.</i>	26
2.3.5. <i>Análisis de datos.</i>	27
2.3.5.1 <i>Análisis de tendencias temporales.</i>	27
2.3.6. <i>Interpretación de resultados.</i>	27
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
3.1 Fermentación	28
3.1.1 <i>°Brix del fermentado.</i>	28
3.1.2 <i>pH del fermentado.</i>	30
3.1.3 <i>Azúcares reductores del fermentado.</i>	31
3.1.4 <i>Acidez del fermentado.</i>	33
3.2 Simulación	35
3.2.1 <i>Proceso de Simulación del Fermentado de Mucílago de Cacao.</i>	35
3.2.2 <i>Primera Columna de Destilación.</i>	36
3.2.3 <i>Segunda Columna de Destilación</i>	39
3.2.4 <i>Tercera Columna de Destilación</i>	40
3.2.5 <i>Cuarta Columna de Destilación.</i>	40
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
4.1 Conclusiones	42
4.2 Recomendaciones	43
BIBLIOGRAFÍA	44
ANEXOS	53

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contenido en las semillas del cacao por 100 g	7
Tabla 2. Reactivos, materiales y equipos	17
Tabla 3. Parámetros de fermentación utilizados en los experimentos	22
Tabla 4. Resultados de los Brix	29
Tabla 5. Resultados del pH	30
Tabla 6. Resultados de los azúcares reductores	32
Tabla 7. Resultados de Porcentaje de Acidez	34
Tabla 8. Costo total anual de una columna de destilación simple en función del número de platos	38
Tabla 9. Procedimiento para el cálculo del costo total anual	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales Productos No Petroleros (millones de dólares)	6
Figura 2. Partes del fruto del cacao	7
Figura 3. Composición en peso de la mazorca de cacao	9
Figura 4. Lugar de recolección del mucílago de cacao	16
Figura 5. Especificaciones de la Primera Columna de destilación.	23
Figura 6. Especificaciones de la Segunda Columna de destilación.	24
Figura 7. Especificaciones de la Tercera Columna de destilación.	25
Figura 8. Especificaciones de la Cuarta Columna de destilación.	26
Figura 9. Resultados de los Brix	29
Figura 10. Variación del pH durante la fermentación	31
Figura 11. Consumo de sustrato en A, B y C vs Tiempo	32
Figura 12. Curva de Calibración	33
Figura 13. Variación de la acidez durante la fermentación	35

Figura 14. Proceso completo de la Simulación de un bioproceso para la obtención de etanol a partir de mucílago de cacao.....	36
Figura 15. Tabla de corrientes y sus composiciones del proceso de destilación de etanol a partir del fermentado de mucílago de cacao.	36
Figura 16. Torre de destilación simple. Primera Columna.	37
Figura 17. Columna de destilación extractiva. Segunda Columna.	39
Figura 18. Torre de destilación simple 2. Tercera Columna.....	40
Figura 19. Torre de destilación simple 3. Cuarta Columna.	41
Figura 20. Mezclador para Glicerina y para Agua de Residuo.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

DNS: ácido 3,5-dinitrosalicílico

UV: ultravioleta

ATP: Adenosín Trifosfato

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido

ASPEN: Advanced System for Process Engineering

HYSYS: Hyprotech's Plant Design Software

COCO: Cape-Open to Cape-Open

COFE: Cape-Open Flowsheet Environment

TEA: Termodinámica para aplicaciones

SRK: Soave-Redlich-Kwon

INTRODUCCIÓN

La producción de cacao ecuatoriana tiene un gran peso sobre su economía, solo en el 2020, el cacao fue el tercer producto que más se exportó, llegan a representar el 11% del total de productos exportados en el país. Esto se refleja en un ingreso de 816.392 miles de dólares, que apoya a la economía interna, sin embargo, la competitividad del sector es bajo, categorizándolo con un sector sin potencial, debido a la exportación prima sin valor agregado.¹

Incluso con una competitividad baja, este sector es de gran importancia para la economía de Ecuador. Los diferentes países exportadores de cacao en el mundo se centran en diferentes estrategias para mejorar la comercialización, en el caso ecuatoriano, existe una tendencia en enfocarse en producir cacao fino de aroma de alta calidad.²

Ecuador, como uno de los principales productores de cacao a nivel mundial, enfrenta desafíos significativos en la gestión de sus subproductos, en particular el mucílago, un desecho que constituye el 87% del grano de cacao.³ A pesar de su potencial valor, la baja aplicación de tecnologías en el ámbito industrial, la falta de información y el desconocimiento de las propiedades del mucílago han limitado su aprovechamiento óptimo.⁴ Esta problemática se traduce no solo en la subutilización de un recurso valioso, sino también en consecuencias ambientales adversas.

Incluso cuando se logra la aplicación de capacitaciones sobre el cultivo, solo existe una mejora en la calidad y producción del cacao, y no en una mejora directa sobre la industria. Es justo en esto en lo que más se han estado enfocando, en la maximización de la producción, que deja de lado la innovación y el emprendimiento en otras áreas que aprovechen al cacao en su totalidad.⁵

El mucílago, al ser tratado de manera inadecuada mediante métodos tradicionales, representa un riesgo significativo para la calidad ambiental.⁶ Este desaprovechamiento de los desechos agrícolas que poseen una composición nutricional excepcional, contribuye a la generación de gases de efecto invernadero al acumularse e incinerarse.^{7,8} Los residuos lignocelulósicos, preponderantes en los desechos orgánicos, destacan como generadores de problemas ambientales adicionales.⁸

En este contexto, surge la pregunta crucial: ¿Es posible simular condiciones óptimas para producir bioetanol de alta calidad a través de la fermentación del mucílago de cacao? La respuesta a esta interrogante no solo se presenta como una oportunidad para

maximizar la utilización de los recursos disponibles, sino también como una alternativa sostenible que podría mitigar los impactos ambientales asociados con la gestión inadecuada de los desechos del cacao.

La justificación de esta investigación se fundamenta en la necesidad apremiante de abordar los problemas generados por la acumulación de desechos de cacao a nivel nacional.⁸ La falta de técnicas efectivas de tratamiento de sólidos orgánicos ha creado condiciones propicias para el aumento de plagas y la emisión de olores desagradables.⁹ Además de los problemas ambientales, esta situación plantea la urgencia de encontrar soluciones que optimicen el aprovechamiento de los residuos de cacao, centrándose especialmente en el mucílago.

El objetivo principal de este estudio es identificar el parámetro esencial para la fermentación del mucílago de cacao, como es la concentración de levadura. Este factor es crucial para desarrollar un proceso bioquímico eficiente que permita la destilación y obtención de bioetanol de alta calidad. Los resultados de esta investigación aspiran a proporcionar datos fundamentales para que el sector agrícola y empresarial cuente con evidencia suficiente para explorar nuevas oportunidades de producción de productos con valor agregado a partir de estos residuos.

La investigación no abordará aspectos más amplios de la cadena de valor del cacao ni se adentrará en la comercialización del bioetanol resultante. Además, no se explorarán a fondo otros subproductos del cacao ni sus posibles aplicaciones.

Es importante destacar que la investigación se llevará a cabo a nivel de laboratorio, utilizando muestras representativas de mucílago de cacao. No se realizarán pruebas a escala industrial, y los resultados se interpretarán en el contexto de la viabilidad técnica y económica de implementar un proceso de fermentación a mayor escala.

Este estudio también proporcionará parámetros y modelos termodinámicos específicos para la destilación para obtener alcohol a partir del fermentado de mucílago de cacao. No incluirá consideraciones detalladas sobre otros procesos de destilación o aspectos más amplios de la ingeniería química.

Hay que reconocer que no hace unas décadas, los diseños de nuevos procesos seguían el recorrido de laboratorio a proceso industrial, lo cual incluía plantas piloto. Pero con la adición de las herramientas tecnológicas como son los simuladores de procesos, se produjo muchos cambios, ahora se puede modelar diagramas de flujo, que dan acceso a modificaciones sobre los mismos procesos, modificaciones que son capaces de iterar y aproximar el comportamiento de las operaciones a niveles cercanos a la realidad. Es justo esto lo que permite la toma de decisiones sobre el diseño, costos y riesgos que conlleva la implementación de un nuevo proceso.¹⁰

En la actualidad la simulación de procesos se destaca como una herramienta tecnológica que se utiliza para desarrollar, diseñar y optimizar procesos químicos a nivel industrial. También tiene su protagonismo en otras áreas como la petroquímica, la alimentaria, farmacéuticas y cosmética. Y esto se debe a que en todas estas áreas es necesario el uso de modelos matemáticos para el cálculo de balances de materia y energía.¹¹

OBJETIVOS

Objetivo general

Simular un bioproceso del fermentado de mucílago de cacao para la obtención de bioetanol de alta pureza mediante el programa COCO Simulator.

Objetivos específicos

- Caracterizar la composición fisicoquímica del mucílago de cacao para evaluar su influencia en la fermentación.
- Determinar los parámetros de fermentación que maximizan la producción de bioetanol a partir del mucílago de cacao.
- Simular la obtención de bioetanol deshidratado a partir del fermentado de mucilago de cacao en COCO Simulator.

1. MARCO TEORICO

1.1 Cacao

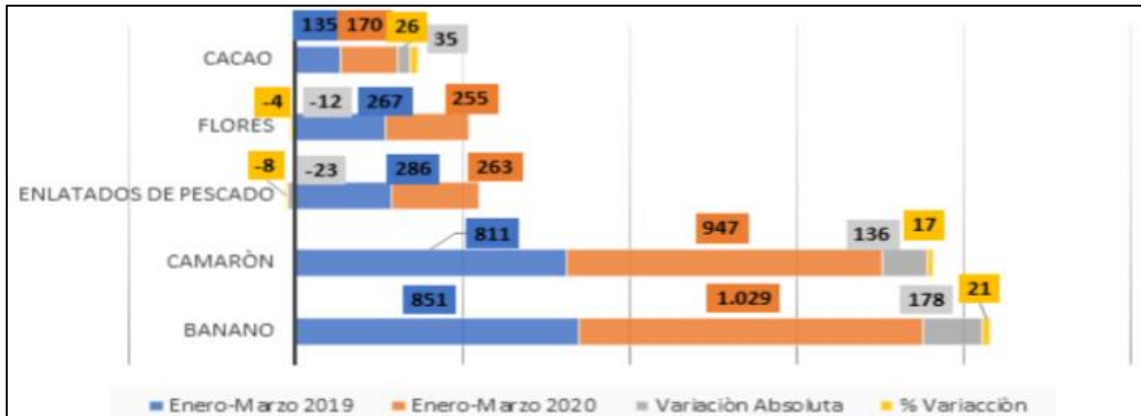
El cacao (*Theobroma cacao L.*) es una especie de planta perteneciente al género de familia *Theobroma* y *Malvaceae*, que tiene un alto valor económico debido a que sus granos se utilizan en la producción principal de chocolate, cosméticos, subproductos del chocolate, entre otros.¹² La cosecha de esta planta empieza alrededor de tres a cinco años desde la siembra, esto va a depender siempre de su variedad o tipo de cacao y esta alcanza el punto máximo de rendimiento a partir del octavo y décimo año; así mismo se realizan dos cosechas anuales denominadas: la cosecha principal y la intermedia, es así como en Ecuador se pueden definir dos tipos principales de cultivos de cacao, el primero es el Cacao Criollo o Nacional que tiene buenas características como su aroma y sabor increíble, y el CNN51 que aunque tenga aspectos de calidad menores que el criollo, tiene un elevado rendimiento de producción, incluso siendo este el doble que el del tipo anterior ya mencionado.¹³

1.1.1 Producción Nacional e Internacional. Se estima que la producción de cacao a nivel mundial fue de 4,7 millones de toneladas en el periodo de 2019-2020, la cual, tan solo en Latino América representa el 18.4% correspondientes a 0.9 millones de toneladas de este fruto, Costa de Marfil tiene una producción de 2.1 millones de toneladas y 0.8 millones de toneladas pertenecientes a Ghana, siendo estos los dos países de mayor producción cacaotera en el mundo; mientras que en Ecuador se produce alrededor de 0.32 millones de toneladas siendo aproximadamente el tercer o cuarto productor de cacao, estando casi a la par que Brasil.¹⁴

A nivel internacional, el grano de cacao y su respectiva producción ha registrado en el 2020 una cantidad de 850\$ millones de dólares, superando la cifra del 2019 con tan solo 720\$ millones de dólares, reflejando un claro incremento y demanda del producto y materia prima misma, que principalmente se viene generando en el continente africano; así mismo, representando aproximadamente el 4% de la participación de la producción mundial de cacao. Ecuador ha logrado convertirse en uno de los principales exportadores en Latino América, este crecimiento ha permitido un desarrollo en las zonas costeras generando así varios sustentos hacia los cientos de familias ecuatorianas, que hoy en día se enfrentan a grandes discordias enfocadas principalmente a los precios que recibe el producto, también cabe destacar sobre la generación de desechos en masa que esta materia prima libera.¹⁵

En la Figura 1 se muestra el peso que tiene la producción de cacao sobre la economía ecuatoriana, la cual se muy significativa.

Figura 1. Principales Productos No Petroleros (millones de dólares)

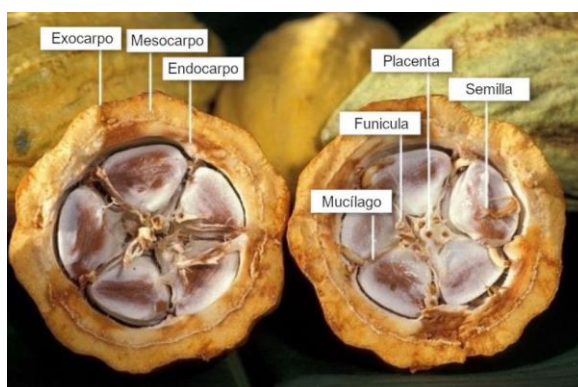


Fuente: ¹⁶

1.1.2 *Partes del cacao.* En lo que corresponde el cacao, se puede distinguir tres componentes que desempeñan papeles fundamentales en su conformación, el primero es la cáscara exterior o vaina del cacao que está compuesta por: exocarpo (capa más externa y dura que actúa como protector), mesocarpo (capa de textura fibrosa que se encuentra exactamente debajo del exocarpo) y el endocarpo (capa interna con textura muy suave que tiene contacto directo con el mucílago del fruto); la pulpa mucilaginosa o mucílago, que es aquel que aporta el sabor y aroma característico del cacao, esta parte se representa como una sustancia viscosa en el influirá en el sabor final del producto y corresponde alrededor del 40% en peso del grano crudo; finalmente se tiene las semillas o granos de cacao que están contenidos dentro del mucílago, este elemento es el más valioso, debido a que se utiliza para la producción de chocolate y conlleva del 78 al 82% aproximadamente del peso del grano de cacao.¹⁷

Como se puede observar en la Figura 2, el recubrimiento de las pepas de cacao es lo que se denomina mucílago, el cual presenta un cierto contenido de azúcares los cuales se van a aprovechar para la producción de etanol.

Figura 2. Partes del fruto del cacao



Fuente: ¹⁸

1.1.3 *Composición del cacao.* Los granos o semillas frescas del cacao (*Theobroma cacao L.*), más específicamente del tipo clon CCN-51, contienen 35.46% de humedad, 38% de grasa, 16.84% de carbohidratos, 7.9% de proteínas, 1.8% de ceniza y 1.16% de fibra, estos valores de análisis de composición química proximal del cacao en fresco se obtuvieron mediante una investigación realizada en la ciudad de Puerto Maldonado, provincia de Tambopata, Perú.¹⁹

En la Tabla 1, se observa la composición de las semillas de cacao, en referencia al peso total.

Tabla 1. Contenido en las semillas del cacao por 100 g

Componentes	Cantidad
Calorías	456
Agua	3.6 g
Proteína	12.0 g
Grasa	46.3 g
Carbohidratos (totales)	34.7 g
Fibra	8.6 g
Glucosa	8-13 g
Sucrosa	0.4-0.9 g
Calcio	106 mg
Fósforo	537 mg
Hierro	3.6 mg
Tiamina	0.17-0.24 mg
Riboflavina	0.14-0.41 mg
Niacina	1.7 mg
Ácido Ascórbico	3.0 mg

Fuente: ¹⁹

Tabla 1. (Continuación)

Componentes	Cantidad
Piridoxina	0.9 mg
Nicotinamida	2.1 mg
Ácido Pantoténico	1.35 mg
Histidina	0.04-0.08 g
Arginina	0.03-0.08 g
Serina	0.88-1.99 g
Ácido Glutámico	1.02-1.77 g
Prolina	0.72-1.97 g
Glicina	0.09-0.35 g
Alanina	1.04-3.61 g
Valina	0.57-2.60 g
Lisina	0.08-0.56 g
Leucina	0.45-4.75 g
Isoleucina	0.56-1.68
Tirosina	0.57-1.27 g
Fenilalanina	0.56-3.36 g

Fuente: ¹⁹

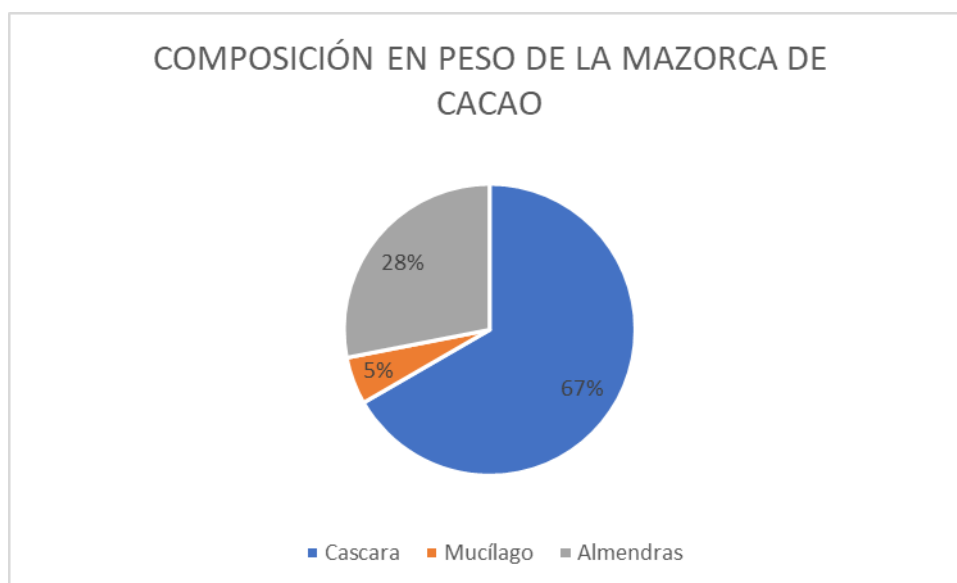
1.1.4 Residuos del cacao. La producción en masa de cacao está generando cantidades considerables de residuos orgánicos que son expulsados en el proceso después de la cosecha, desechos que lamentablemente son retirados hacia el medio ambiente sin darle un pretratamiento o llegar a aprovecharlos.²⁰ Por lo tanto, es fundamental que se permitan analizar los residuos con el objetivo de poder implementarlos dentro del ámbito alimenticio, para el ámbito ganadero y/o entre otras alternativas que permitan mejorar los agro sistemas y plantear procesos sostenibles de manera ambiental-económico.²¹ Los principales residuos de la extracción de los granos de cacao incluyen la cáscara, la cascarilla y el mucílago, que son representativos en las industrias cacaoteras donde los volúmenes de producción son significativos.²² Además de aquello se puede generar una biomasa residual que puede presentar un gran riesgo ambiental y a la vez presentar un impacto negativo hacia la salud de los seres humanos y animales.²³

1.1.4.1 Mucílago de cacao. El mucílago de cacao es una sustancia vegetal que es considerado por muchos productores como desecho.²⁴ Lo que ha conllevado a que apenas se logre usar un 28% de toda la producción nacional como fuente de materia prima para otros procesos, debido a la poca inversión que tiene este sector.²⁵

En la producción de etanol, se ha reconocido a través de los diferentes estudios hechos a la producción de la cerveza, que la materia prima fermentable debe poseer al menos un 60% de almidón, denotando la importancia del porcentaje de azúcares en la producción de alcoholes.²⁶

Lo que justifica la utilidad del mucílago de cacao, en vista de que tiene cerca de 4.35% de sacarosa, 3% de glucosa y 3.8% fructuosa.²⁷ Tal como se muestra en la Figura 3, el mucílago representa el 5% en peso del peso total de la mazorca de cacao, lo cual valida que este desecho si es representativo a nivel industrial y de producción.

Figura 3. Composición en peso de la mazorca de cacao



Fuente: ^{28, 29}

1.2 Fermentación del mucílago de cacao

1.2.1 Extracción del mucílago de cacao. En la mayoría de las investigaciones en las que se ha logrado producir etanol mediante la fermentación del mucílago de cacao, se ha extraído manualmente el jugo de cacao.³⁰ Pero esto no impide que se pueda obtener a través de un extractor de pulpa del cual de toda la pulpa que ingresa solo se obtiene un 20 % de jugo de cacao.³¹ Después de la extracción del jugo se usan lonas para filtrar cualquier sólido suspendido en el mucílago.^{32,33} Al cabo de este proceso, se suele congelar el jugo por debajo de los 0°C, para evitar la fermentación inmediata del mismo.³² A partir de otros autores, si el mucílago se mantiene a temperatura ambiente, solo necesita 3 días para comenzar a tener una presencia de alcohol en su composición, dado que el jugo se vuelve ácido de acuerdo con gente que lo ha consumido en ese tiempo.³⁴

1.2.2 *Análisis iniciales del mucílago de cacao.* Una vez que las muestras de mucílago llegan al laboratorio y se congelan durante el tiempo necesario para preparar la fermentación, previamente se realiza ciertos análisis a las muestras iniciales, como es el caso de los azúcares reductores, calculándolos mediante ecuación de regresión, que es una curva simple con glucosa (1 mg/ml).³⁰

En varios estudios también suelen hacer uso el método DNS, el cual a través de una solución del ácido 3,5-dinitrosalicílico, se logra cuantificar la cantidad de azúcares reductores gracias al uso de espectrofotómetro UV.³²

1.2.3 *Fermentación alcohólica.* La fermentación alcohólica necesita estar desprovista de aire, a causa de que los microorganismos como las *Saccharomyces* son anaerobios. Es en este medio en el cual pueden transformar los azúcares contenidos en el mucílago en etanol y en productos secundarios como el dióxido de carbono.³¹ Sin embargo, este proceso necesita de un debido cuidado puesto que si no se controla el alcohol terminará convirtiéndose en ácido acético, y llegando a esta etapa los microorganismos mueren debido a su incapacidad de resistir las condiciones de pH.³⁵

La fermentación está influenciada por una variedad de factores, incluida la concentración de la solución (jugo de cacao), la cantidad de sustancias nutritivas tales como el carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, hierro, etc., la temperatura y el pH. Estos factores deben manejarse debido a su impacto en el tiempo de fermentado y de la concentración final del alcohol obtenido.³⁶

1.2.4 *Saccharomyces cerevisiae.* El material genético nuclear de *Saccharomyces cerevisiae*, un hongo unicelular, está dispuesto en 16 cromosomas y tiene un tamaño total de 12068 kilobases (kb). En cierto estudio, se llevó a cabo la secuencia completa de su genoma, el cual comprende aproximadamente de 6000 genes, de los cuales se estima que alrededor de 5570 son genes que codifican proteínas.³⁷ Se han establecido instalaciones de producción de estas células de levadura con el propósito de generar proteínas recombinantes, biocombustibles, compuestos químicos a gran escala, productos químicos de alta pureza, así como sustancias tanto naturales como sintéticas.³⁸

Su patrón de vida, identificado como "producir-acumular-consumir", es una causa relevante de su particular uso a nivel industrial. El fenómeno conocido como efecto Crabtree, que se deriva de esto, se refiere a la capacidad de *S. cerevisiae* para emplear el piruvato en la producción de etanol y otros compuestos de dos carbonos en lugar de

utilizar el proceso respiratorio para descomponer azúcares y fomentar el crecimiento de biomasa, incluso en ambientes con presencia de oxígeno.³⁷

La vía metabólica fundamental en la generación de etanol en *S. cerevisiae* es la glucólisis, un conjunto de procesos bioquímicos que se desarrollan exclusivamente en el citoplasma. En esta vía, una molécula de glucosa se metaboliza, dando como resultado la producción de dos moléculas de piruvato, junto con la generación de 2 moles de ATP y 2 moles de NADH.³⁹

1.2.5 Saccharomyces Cerevisiae Fermivin XL. Fermivin XL comprende más de 10 mil millones de células secas activa por gramo, corresponde a la cepa CECTA 11947 XL desarrollada en la Universidad de Santiago ubicada en Chile, esta presenta propiedades enológicas excepcionales tales cual, su alta tolerancia al alcohol, alcanzando un punto máximo de hasta el 15.5%, tiene una rápida cinética de fermentación, también consta de medianas necesidades nutricionales y resistencia a temperaturas en el rango de 20 a 30 °C, estas características son las más adecuadas para realizar una maceración corta, generando alcohol en menor tiempo.⁴⁰

1.2.6 Cultivo de la Saccharomyces Cerevisiae. Para lograr que la fermentación se lleve de manera correcta, es necesario que primero los microorganismos (*Saccharomyces Cerevisiae*) se adapten al medio, por lo que se activan agregando una cantidad pequeña de levadura con una alícuota de 10 ml de mucílago de cacao a la temperatura con la que se trabajará la posterior fermentación.⁴¹ Si la fermentación se llevará con adición de suplementos, se puede agregar a esa primera activación peptona y dextrosa.³²

1.3 Simulación de procesos

1.3.1 Simulación de procesos químicos. Los programas informáticos de simulación son softwares muy útiles para los ingenieros en vista de que simulan procesos de diversas áreas industriales, siendo relevante su evaluación, diseños y equipos de plantas de estas operaciones unitarias aplicadas en el ámbito químico, petroquímico, farmacéutico, entre otros, donde se desarrolla la transformación de determinada materia prima para su posterior obtención y fabricación de productos finales que se les pueden añadir un valor agregado para su comercio.⁴²

1.3.2 Tipos de simuladores. En la actualidad, hay muchos simuladores de procesos químicos en el mercado, y dependiendo del área de investigación o trabajo, se elige el que tenga las características más adecuadas, sin mencionar el precio de la adquisición de cada uno.

1.3.2.1 Aspen Plus. ASPEN es la sigla de Sistemas de Ingeniería de Procesos Avanzados (Advanced System for Process Engineering) y se basa en un programa de simulación mediante un diagrama de flujo. En las versiones más recientes, Aspen se ha reemplazado por Aspen Plus. Para modelar cuantitativamente una instalación de procesamiento químico, se emplea un programa de informático denominado “simulación de diagrama de flujo”. Esta simulación abarca no solo la unidad del reactor primario sino también las etapas de pre y post tratamiento. Cada ícono representa una operación unitaria, un proceso químico, un flujo de material, un flujo de energía o una entrada y salida de señal eléctrica, sirve para representar simbólicamente todo el proceso químico, desde la materia prima hasta el producto final.⁴³

De tal manera que se puede diseñar un diagrama de flujo para la producción de etanol, que cuenta con las herramientas necesarias para el monitoreo y optimización del rendimiento de la planta piloto.⁴⁴

1.3.2.2 Aspen HYSYS. Aspen HYSYS ocupa una posición destacada como herramienta líder en el mercado para el modelado de procesos en diversas industrias clave, como la producción de petróleo y gas, el procesamiento de gas, la refinación de petróleo y la separación de aire. Es ampliamente reconocido por su función crucial en la concepción de proyectos, el perfeccionamiento de procesos, la administración de activos y la evaluación de desempeño.⁴⁵ Se ha consolidado como un simulador de procesos extremadamente accesible y de fácil manejo en la industria de la refinación de petróleo y gas.⁴⁶ Incluso aquellos usuarios con limitados conocimientos previos pueden adquirir competencia en su capacidad de modelado. Entre las características particularmente sencillas de usar se incluye un diagrama de flujo de proceso altamente interactivo para crear y navegar simulaciones extensas. Además, ofrece un proceso de trabajo eficaz para llevar a cabo el diseño de procesos, determinar las dimensiones de los equipos y realizar estimaciones preliminares de costos.⁴⁷

1.3.2.3 ChemCAD. ChemCAD es un software de acceso libre, que facilita los cálculos de balance de materia y energía, además de permitir la determinación de variables de diseño en una cantidad extensa de operaciones unitarias que se usan muy comúnmente.⁴⁸ Gracias a esto se logra buscar puntos de optimización que eleven la eficiencia de los procesos unitarios que se estén simulando.⁴⁹

Estas acciones se logran en conjunto con el manejo de una enorme base de datos de componentes, a la cual incluso se le puede añadir nueva información de operación y propiedades.⁵⁰

1.3.2.4 COMSOL Multiphysics. Los dos estilos de funcionamiento que proporciona COMSOL Multiphysics a través de la elaboración de guiones son la modalidad de interfaz gráfica de usuario y la modalidad de comandos. Ambos enfoques benefician a los usuarios. La modalidad de guion se emplea mayormente en la creación y desarrollo de COMSOL Multiphysics de alta calidad. Este se compone de tres secciones principales: pretratamiento, resolución y posprocesamiento. El pretratamiento implica la generación del modelo de elementos finitos y la configuración de los parámetros de carga. La sección de resolución abarca la solución de ecuaciones y la subdivisión de las mallas. Por último, el posprocesamiento comprende la visualización y el análisis de los resultados.⁵¹

1.3.2.5 GPROMS. GPROMS, que se traduce como Sistema Global de Modelado de Procesos, representa un software de vanguardia para la simulación y modelado de procesos de uso general. Este programa brinda la capacidad a los diseñadores de procesos y al personal operativo en empresas en funcionamiento, así como a sus proveedores de tecnología, para cuantificar de manera excepcional el diseño y funcionamiento de los procesos, lo que conlleva a un incremento tangible en los ingresos y disminución de costos operativos y de inversión.⁵²

1.3.2.6 ProSimPlus. Es una herramienta informática que se especializa en el balance de masa y energía para una gran variedad de industrias. Las áreas en las que más se suele usar son gas-oil, energía y farmacéutica, porque las herramientas que presenta poseen un gran potencial en la representación de sistemas unitarias que modelan la realidad de los procesos industriales.⁵³

1.3.3 Simulador COCO. El simulador Cape-Open to Cape-Open (COCO) es un software gratuito que se usa mucho en el ámbito educativo y para estudiantes de tercer nivel. Su particular sencillez la hace muy atractiva para los estudiantes que dan sus primeros pasos en la simulación de procesos, sin mencionar que el desarrollo de la competencia en este simulador es muy satisfactorio para la mayoría de los docentes.⁵⁴ Ciertos estudios lo caracterizan como uno de los programas libres con más capacidades de simulación, llegando a competir con muchos softwares comerciales del mercado. Sin embargo, inicialmente el simulador se desarrolló como un programa informático que asista en los procesos de ingeniería por medio de un computador. Principalmente este hecho, fue lo que le dio su popularidad gracias a que los productos desarrollados se intercomunicaban de una manera ordenada y estructural, lo que en sí facilitó el diseño de los procesos industriales, al permitir tener una idea de cómo las diferentes operaciones unitarias se veían influenciadas entre ellas.⁵⁵

1.3.3.1 COFE. COFE son las iniciales para CAPE-OPEN Flowsheet Environment, un pilar fundamental de COCO simulator, puesto que este es el entorno visual con el que los ingenieros se familiarizan para comprender los diagramas de variedades de operaciones unitarias presentes en el simulador. La forma de resolver los procesos unitarios es a través de un algoritmo que trabaja con Automatic Tear Streams, y haciendo uso de las propiedades de los flujos que se muestran el programa se encarga de conversiones de unidades y determinaciones de concentraciones. Lo mejor de COFE es que se puede utilizar en otros simuladores fuera de COCO simulator.⁵⁶

1.3.3.2 TEA. Termodinámica para Aplicaciones de Ingeniería o como también se suele llamar TEA, es una biblioteca termodinámica, la cual puede consultar todos los paquetes termodinámicos que se encuentran en ChemSep, además de contar con una base de datos que registra más de 400 reacciones químicas.⁵⁵ Y lo más importante, los métodos de cálculo, de las propiedades termodinámicas son tan extensas que permiten incluso calcular los derivados analíticos de cada reacción.⁵⁶

1.3.3.3 CUSCUS. Cuscús o Couscous se modela como un paquete de operaciones unitarias, las cuales trabajan en el interfaz gráfico de COFE, y que a su vez tiene la capacidad de procesar todas propiedades termodinámicas y de flujo de operaciones tales como: el expansor, bomba, turbina, unidad flash, etc.⁵⁶

1.3.3.4 CHEMSEP. Chemsep es fue programado para realizar simulaciones de procesos de separación. En sus inicios se diseñó para ser fácil de usar, y poseer un algoritmo robusto para solucionar problemas complejos, atrayendo así a expertos y estudiantes. No fue hasta 3 años después de su nacimiento, en 1991, cuando se añadió los algoritmos para la resolución de procesos en no equilibrio. Desde ahí, se han agregado año tras año nuevos modelos de desequilibrio, como modelos de extracción, modelo de destilación de tres fases, etc.⁵⁷

1.3.4 Modelos termodinámicos. Son representaciones matemáticas del comportamiento energético de las moléculas y de las interacciones entre ellas. Se puede decir que los modelos termodinámicos se clasifican en 3 grupos, las ecuaciones de estado, los coeficientes de actividad y los métodos especializados.⁵⁸

1.3.4.1 WILSON. Es un método gráfico que forma parte de los coeficientes de actividad, ya que tiene la capacidad de calcular de manera muy precisa los coeficientes de convección que se dan en una inmensa cantidad de procesos de transferencia de calor convectiva. Su punto principal es que se centra en evadir las mediciones directas de

temperaturas superficiales, por lo que no toma en cuenta cualquier tipo de anomalía en el flujo del fluido o transferencia de calor introducida que midan dicho calor.⁵⁹

1.3.4.2 UNIFAC. Este método de coeficientes de actividad, se basa en las estimaciones de propiedades termodinámicas de mezclas líquidas derivadas de las contribuciones de grupos, las cuales sirvieron para enlazar los calores de mezcla y el desarrollo del método de solución de grupos para coeficientes de actividad. El propósito de este método es hacer uso de datos de equilibrio de fases ya estudiadas para predecir equilibrios de nuevas fases de las cuales no se cuenta información. Para realizar esto se usa los datos de coeficientes de actividad experimentales que se usarán para el cálculo de parámetros que caractericen pares de grupos de sistemas electrolitos.⁶⁰

1.3.4.3 UNIQUAC. Es un modelo de coeficientes de actividad, que es aplicable una gran cantidad de mezclas líquidas, la cual funciona con la manipulación de dos parámetros ajustables por binario, independientes de los parámetros que tienen las sustancias puras. A diferencia del método *UNIFAC*, esta puede representar equilibrios vapor-líquido binarios para sistemas no electrolitos siempre que estén a una baja presión.⁶¹

1.3.4.4 NRTL. Se lo conoce como uno de los métodos de coeficiente de actividad más utilizados. Para comprender por qué fue necesario su desarrollo, habría que esclarecer que tanto las interacciones (fuerzas intermoleculares) de corto y largo alcance se deben contar cuando se realice algún cálculo de comportamiento del equilibrio de fases de mezclas de electrolitos. Y es justo el método NRTL el que puede describir con gran proximidad la composición local de las moléculas.¹¹

1.3.4.5 Soave-Redlich-Kwon (SRK). Es una ecuación cúbica de estado mejorada, que forma parte de las ecuaciones de estado, para comprenderla hay que conocer que hasta el año 1979 solo los compuestos no polares o ligeramente polares, eran los únicos que se estudiaban con las ecuaciones de estado. Luego se incluyeron las reglas de mezcla, sin embargo, estas tenían una particularidad, la presión infinita, cosa que se arregló con el método PSRK, el cual permitía el trabajo de los modelos con presión atmosférica. Los PSRK incluyeron la utilización de los parámetros de UNIFAC para puntos supercríticos, lográndose grandes resultados en los estudios sobre procesos etanol-agua y acetona-agua, avanzando hasta incluir gases tales como el dióxido de carbono, metano, ácido sulfhídrico, hidrogeno, etc.¹¹

2. METODOLOGIA

2.1 Sujetos o unidades de análisis

2.1.1 Ubicación geográfica. Las pruebas se realizarán in vitro en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala.

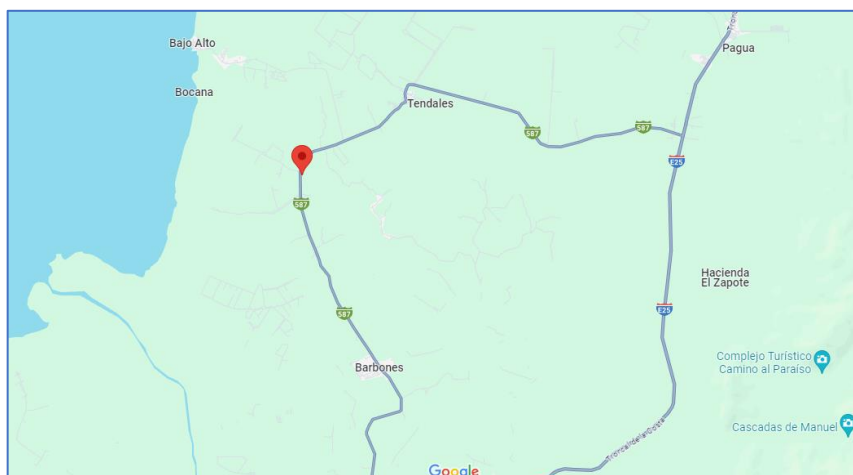
2.1.2 Identificación de variables. Como en el presente estudio se realizará una parte experimental y una parte simulada, se llega a la necesidad de separar las variables en función de los dos procesos, fermentación (experimental) y destilación (simulación):

En el análisis experimental se van analizar las variables dependientes como son la concentración de levadura – *Saccharomyces Cerevisiae* (g/L) y la concentración de nutriente – Sulfato de amonio (g/L) la cual va a depender de los grados brix que presente en mucílago de cacao. Las variables independientes son el pH, la temperatura (25 °C), el volumen (2 L) y el tiempo (168 h).

En la simulación se tendrá presente como variables dependientes la concentración de etanol y agua que se destile, al igual que la tempera de salida del etanol de alta pureza que se produzca. Como variables independientes tendremos la concentración de etanol en el fermentado, el flujo másico de 2194.27 kg/h, la temperatura a 25 °C y la presión a 1 atm.

2.1.3 Población y muestra. La pulpa de mucílago de cacao CCN51 se recolectó del proceso de filtración por medio de mallas en la finca en Bajo Alto, El Oro, con coordenadas 3°08'27.3"S 79°52'22.7"W, como se observa en la Figura 4.

Figura 4. Lugar de recolección del mucílago de cacao



Fuente: Autoría propia

Se transportará a la Universidad Técnica de Machala y se la congelará a 5 °C en el laboratorio de Área de biomateriales LI-BM. Se determinó que la muestra es apta para su análisis porque en la zona donde se produce la materia prima (Cacao), es un buen hábitat tropical donde se puede desarrollar seguramente y sin factores que afecten el contenido de la mazorca y pueda modificar aspectos importantes en su composición.

2.2 Materiales y métodos

Para lograr este trabajo de titulación se usarán los siguientes reactivos, materiales y equipos en la presente investigación, de los cuales tanto los reactivos como los materiales se usarán únicamente en la fermentación, para el caso de la medición de etanol, se realizará el análisis en Seidlaboratory Cía. Ltda., el cual usará el método SEIN-GA (INEN 340). La simulación del destilado solo hará uso de una laptop y de COCO simulator. En la Tabla 2 se especifica los reactivos, materiales y equipos necesarios para la realización del fermentado de mucílago de cacao y para la simulación.

Tabla 2. Reactivos, materiales y equipos

Reactivos	Materiales	Equipos
Sulfato de Amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 99%, Fisher)	Mascarilla	Autoclave
Ácido Nítrico (HNO_3 , 99%, Fisher)	Guantes	HPLC
Mucílago de cacao	Mandil de laboratorio	pH metro
Saccharomyces Cerevisiae	Envases para autoclave de 2000 mL	Laptop
Fermivin XL	Probeta de 100 mL	COCO Simulator
Tartrato de sodio y potasio tetrahidrato ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 98%, Fisher)	Micropipeta de 100 μm	Refractómetro
Dextrosa 500 g de TMMEDIA	Pipeta graduada de 10 mL	Espectrofotómetro
Hidróxido de Sodio (NaOH, 98%, Fisher)	Bureta de 25 mL	UV
	Vasos de precipitación de 50, 100 y 250 mL	
	Tubos de ensayo	
	Tijera	
	Marcadores permanentes	

Fuente: Autoría propia.

El método se puede dividir en dos partes principalmente, la primera parte que es la fermentación del mucílago de cacao y la segunda parte es la simulación del fermentado para la obtención de bioetanol.

2.2.1 Obtención del mucílago. La recolección del mucílago de cacao se realiza siguiendo un procedimiento tradicional, la cual maximiza la calidad y la cantidad obtenido. Para ello, se seleccionaron cuidadosamente las plantaciones de cacao en la región de estudio, eligiendo árboles sanos y maduros que presentarán un alto contenido de mucílago. Durante la temporada de cosecha, se realizan inspecciones regulares para identificar las vainas de cacao en el punto óptimo de madurez.

Las vainas se abrieron y se separan cuidadosamente las semillas de cacao del mucílago circundante. Para extraer el mucílago de las vainas, se utilizó un método de fermentación controlada. Las vainas se colocaron en contenedores específicos. se permitió que fermentaran durante un periodo determinado, lo que facilitó la separación del mucílago de las semillas. Después, se utilizó un proceso de lavado con agua para eliminar el mucílago de las vainas y obtener una solución acuosa rica en mucílago. Esta solución se filtra a través de lonas de malla fina para eliminar cualquier residuo sólido y obtener un mucílago líquido de alta pureza. Todos los pasos del proceso se realizan bajo condiciones controladas de temperatura y tiempo, registrando meticulosamente cada fase para garantizar la reproducibilidad de los resultados y la calidad del mucílago obtenido.

2.2.2 Esterilización del Jugo de Mucílago. Para el proceso de esterilización, se introdujo el jugo de mucílago en 3 envases de alta resistencia al calor elaborados con vidrios de borosilicato de 2000ml y se los sometió a la temperatura de 121 °C por 15min en una autoclave, terminado este proceso se dejó enfriar por una hora a temperatura ambiente (25°C), ver Anexo A.

2.2.3 Caracterización del mucílago de cacao. Se procede a realizar los primeros análisis de las propiedades fisicoquímicas del jugo de mucílago, para tener un estudio de muestra inicial que pueda ser utilizado como primer punto de referencia, se midió pH, °brix, sólidos totales y Acidez titulable. Estas mismas propiedades se toman durante y al finalizar el proceso de fermentación.

- Determinación del pH

Para la determinación del pH, se realiza a través del siguiente proceso:

- i) Se prepara la solución a analizar y se coloca en un tubo de ensayo.
- ii) Se calibra el pH-metro, haciendo uso de soluciones buffer de 4, 7 y 10 de pH.

- iii) Se enjuaga correctamente el electrodo con agua destilada, y posteriormente se seca con un papel absorbente muy suavemente.
 - iv) Sumergir el electrodo dentro del tubo de ensayo que contiene la solución, y se espera el tiempo necesario para que se estabilice la lectura.
 - v) Se registra el pH indicado en la tabla de registro.
 - vi) Finalmente se enjuaga el electrodo con agua destilada.
- Determinación de los °brix

La determinación de los °brix, comienza con la calibración del refractómetro con agua destilada, de manera que la lectura de cero. Luego se coloca de 1 a 2 gotas de la muestra sobre el prisma, y se cierra suavemente, verificando que la muestra ocupe toda la superficie del lente. Inmediatamente, se dirige a una fuente de luz, y asegurándose que no existe burbujas, se procede a registrar el valor de los grados Brix. Al término de la lectura, hay que limpiar con agua destilada.⁶²

- Determinación de sólidos totales

El porcentaje de sólidos totales se realiza en un analizador de humedad MB90 de la marca OHAUS. Al encender el equipo hay que calibrarlo, estableciendo el punto cero, para luego agregar de entre 1 a 5 gramos de muestra líquida, distribuyéndola de manera uniforme por todo el plato. Luego se cierra la tapa del equipo y se espera a que elimine la humedad de la muestra, así calculará el porcentaje de humedad usando la diferencia entre el peso inicial y el peso final. Al finalizar, el equipo arrojará el valor de la muestra y luego se debe retirar el plato del equipo para poder lavarlo.⁶³

- Determinación de la acidez titulable

Para la determinación de la acidez titulable se necesitan: 10ml de muestra, preparar una solución de NaOH a 0.5 N, la cual se introduce en una bureta graduada para la medición de la cantidad de mililitros consumidos por la muestra. La muestra es colocada en un vaso de precipitación y se le añade NaOH a 0.5 N, midiendo constantemente en el pH-metro hasta tener un viraje en el punto de 7 en la escala de pH.⁶⁴

Una vez obtenido el valor de los ml gastados de NaOH a 0.5 N, se aplica la ecuación de la Acidez Titulable, para su respectivo cálculo la ec. (1) permite identificar el porcentaje de acidez total presente en la muestra.

$$AT = \frac{(V)(N)(Meq)}{M} \quad (1)$$

Donde,

AT: % de acidez titulable,

V: volumen de hidróxido de sodio consumido (ml),

Meq: Miliequivalente del ácido formado en la muestra (ácido cítrico),

M: volumen de la muestra utilizado (ml).

- Determinación de azúcares reductores

Para determinar los azúcares reductores, se hace uso del método DNS, el cual se realiza mediante una alícuota de 0.5 ml de mucílago al cual se le añade 0.5 ml de DNS, para luego ser calentado en agua durante unos 5 minutos a una temperatura de 100°C, y posteriormente ser enfriada con la adición de 5 ml de agua destilada, siendo la solución final analizada en un espectrofotómetro a 540 nm.³²

La preparación del reactivo DNS, se pesa 1.6 g de NaOH, 43.8 g de Tartrato de Na-K y 1 g de Ácido 3.5-dinitrosalicílico. Se agrega el NaOH a un vaso de precipitación con 50ml de agua destilada hasta disolver completamente, luego se agrega el Tartrato de Na-K lentamente hasta disolver por completo la solución mediante agitación magnética, y se agrega la solución de Ácido 3.5-dinitrosalicílico, protegiendo el reactivo de la luz con papel aluminio. En seguida, se afora la solución hasta 100 ml con agua destilada en un balón aforado de 100 ml y se deja en agitación toda la noche en un frasco ámbar.⁶⁵

2.2.4 Proceso de fermentación del mucílago de cacao CCN51. Para la realización de esta investigación se realizaron tres experimentos, los cuales consisten en la utilización de variaciones de concentración de levadura de 0.5, 1 y 1.5 g/L de *Saccharomyces cerevisiae Fermivin XL* con la adición de Sulfato de Amonio que es el nutriente para el microorganismo, esta última dependerá de la cantidad de °Brix iniciales de cada muestra.

El nutriente que se utilizará para la fermentación fue el Sulfato de Amonio (NH₄)₂SO₄ obtenido de manera comercial, la cual se agrega en relación a la cantidad de °Brix iniciales y volumen total de mucílago de cacao a fermentar. Para lo cual se utilizó 8.5, 9.35 y 7.75 g/L de nutriente para los experimentos A, B y C respectivamente, que representan la concentración de levadura a utilizar y que también demuestran valores

de 17, 18.7 y 15.5 °Brix iniciales. La cantidad de nutriente añadido al mucílago de cacao se hace en base a la relación de 3.75g de Sulfato de amonio en 500ml, todo esto en 15g o 15 °Brix, los cuales representan a 7.5g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en 1 litro de muestra.⁶⁶

En el proceso de fermentación se utilizarán los envases para autoclave de 2000 ml a los cuales se les adaptó de manera artesanal una trampa de agua para su debida liberación de gases (CO_2), las muestras se fermentaron por 7 días a temperatura ambiente (25°C) para cada grupo en los cuales se tomaron muestras diarias para realizar los análisis de pH, brix, %Humedad, Acidez titulable y Azúcares reductores, para sus debidos estudios.

Las muestras obtenidas diariamente se congelaban a temperatura de 5°C, debido a que se realizaría un análisis de composición química posterior a la última fermentación de cada grupo.

Aquí se medirán los azúcares reductores durante los 7 días.

La recolección de los datos se las realizó diariamente para tener los análisis de pH, brix, %Humedad, Acidez titulable y Azúcares reductores; en la tabla 3, se describen los experimentos que se realizaron en la fermentación.

Al ser una investigación experimental se va a usar un diseño factorial de 3x2 que son las variables de concentrado de *Saccharomyces cerevisiae* y concentración del nutriente.

La implementación de la *saccharomyces cerevisiae fermivin XL* se atribuyó a sus excelentes propiedades, permitiendo una cinética de fermentación mucho más rápida que las levaduras que comúnmente se utilizan para la fermentación del mosto, también cuenta con parámetros de trabajo estándar como lo es la temperatura a un rango de 20 a 30 °C, facilitando así la capacidad de implementarse a condiciones normales y disponiendo de una alta resistencia al porcentaje de alcohol, máximo 15.5%.; siendo esta la mejor opción de microorganismos para la utilización del fermentado.⁴⁰

Se utilizó el Sulfato de Amonio debido a que aporta a la nutrición de la levadura garantizando una completa fermentación, activa el crecimiento de la *saccharomyces cerevisiae* aportando nitrógeno, corrigiendo las deficiencias del mismo y evitando que se produzcan desviaciones organolépticas, por tanto, este nutriente es muy utilizado en aplicaciones enológicas aportando beneficios al proceso de fermentación alcohólica.⁶⁷

Tabla 3. Parámetros de fermentación utilizados en los experimentos

Experimento	Levadura – Saccharomyces Cerevisiae Fermivin XL (g/L)	Nutriente - Sulfato de Amonio (g/L)
1	0.5	8.5
2	1	9.35
3	1.5	7.75

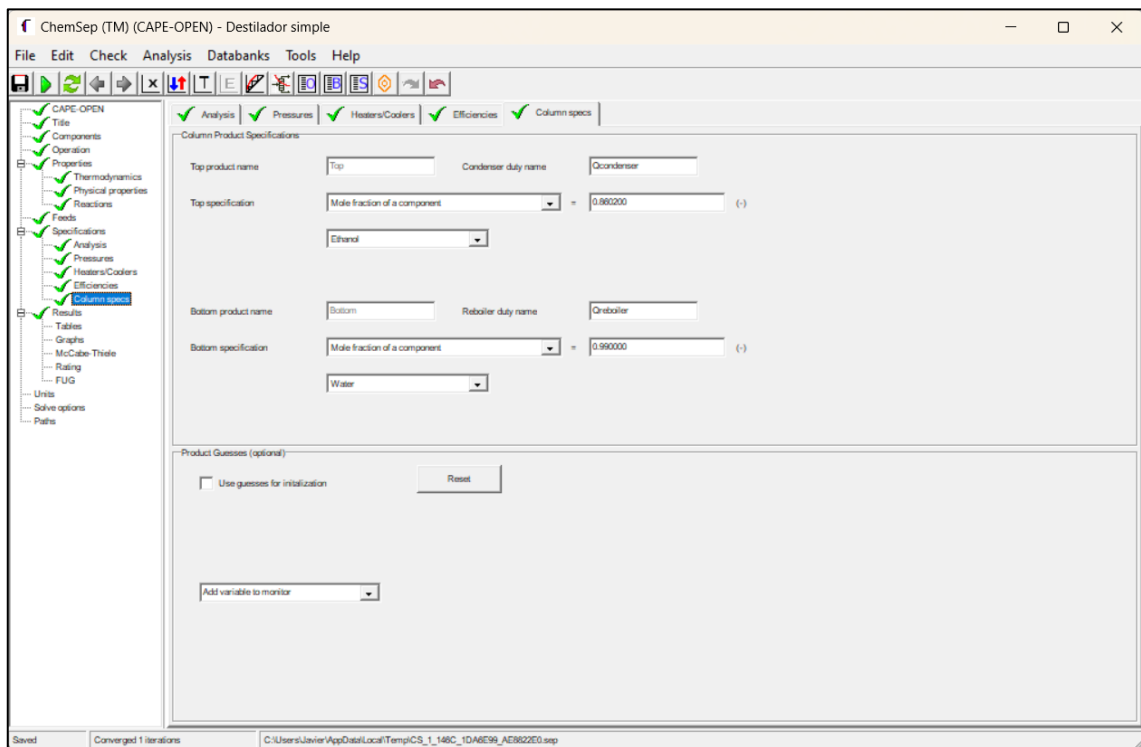
Fuente: Autoría propia

2.2.5 Proceso de destilación en simulador COCO. Se recopiló la información de los resultados del experimento óptimo que obtuvo la mayor cantidad de etanol y se los ingresó en el programa de simulación libre COCO Simulator para ejecutar una destilación extractiva donde se simulará con glicerina como el solvente. Las variables que se modificarán son: Numero de platos de la primera columna y flujo de solvente; que se obtendrán en función a las condiciones más apropiadas para la producción de un etanol al 99% de alcohol.

El esquema de simulación se llevará a cabo mediante 4 columnas de destilación, todas ellas trabajaron con el modelo termodinámico de NRTL. En la primera columna se desea obtener el alcohol en base al fermentado de mucilago de cacao para su alta pureza, el objetivo de la segunda columna es la recuperación de solvente utilizado, la tercera columna se enfoca en la obtención más pura de etanol con el fin de eliminar el azeótropo formado en el etanol-agua y, la cuarta columna se encarga de recuperar la glicerina residual del proceso anterior. Los parámetros fijos a utilizar son: el modelo termodinámico y la cantidad de producto a concentrar, estas variables fijas se las receptaron mediante revisión bibliográfica.

2.2.5.1 *Primera Columna de destilación.* En la primera columna se usaron 2194.27 kg/h de fermentado de mucílago de cacao, que contiene 14% de etanol y 86% de agua, estos valores se obtuvieron con el método SEIN-GA (INEN 340) del laboratorio Seidlaboratory Cía. Ltda, ubicado en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador. En esta columna se variaron la cantidad de platos totales de la misma y plato por el cual va a ingresar el alimento, obteniendo los valores óptimos para llegar a una alta concentración de etanol destilado, además se detalla en la Figura 5, las especificaciones de la columna.

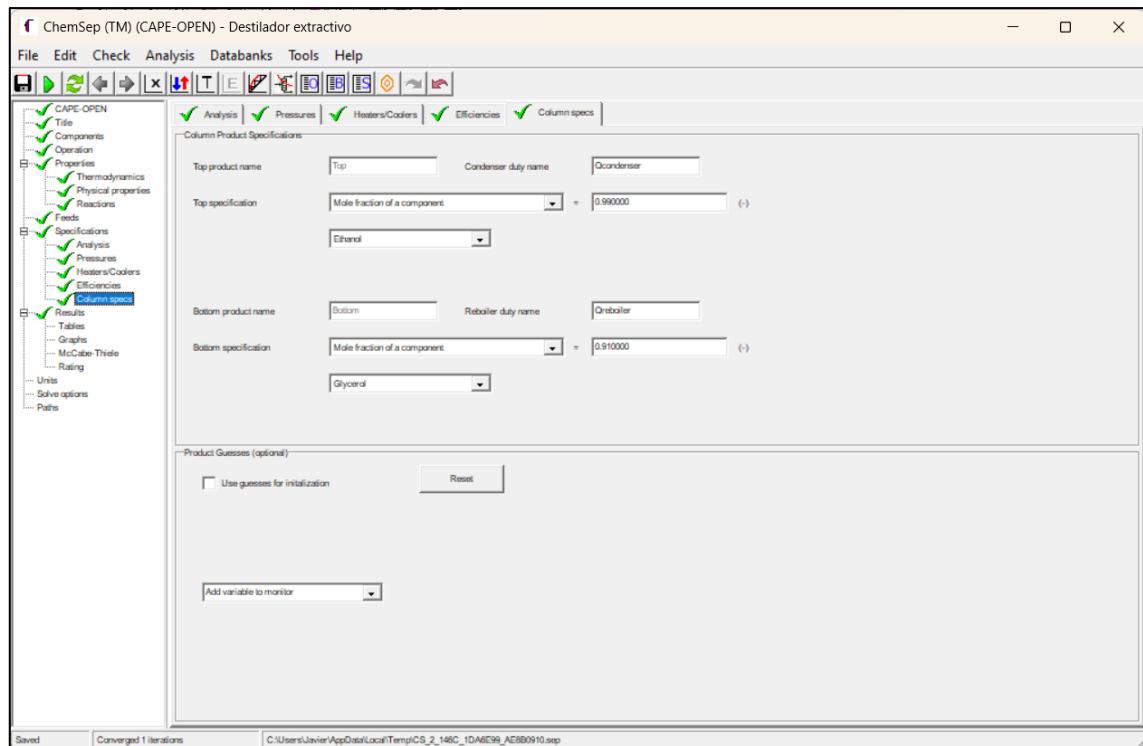
Figura 5. Especificaciones de la Primera Columna de destilación.



Fuente: Autoría propia

2.2.5.2 *Segunda Columna de destilación.* En esta columna se realizó una destilación extractiva para la separación de la mezcla azeotrópica que el etanol tiende a poseer con el agua, utilizando como solvente la glicerina, la cual es un admirable compuesto que logra separar de manera óptima el azeótropo del etanol-agua. En esta segunda columna se utilizó como platos de entrada el número 4 para el solvente y 19 para el producto de la primera columna, teniendo un total de 30 platos, todo esto recomendado por el mismo simulador; así mismo se modificaron los parámetros de flujo de solvente para la obtención de etanol a un 99% puro, tal como se muestran las especificaciones de la columna en la Figura 6.

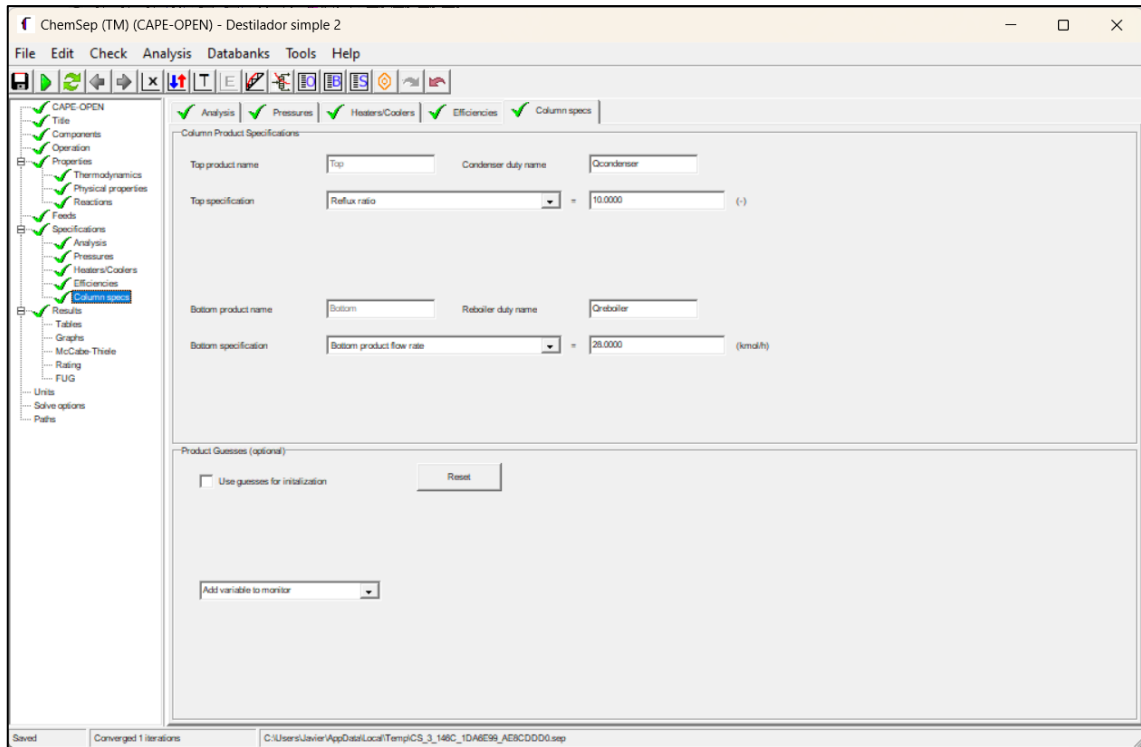
Figura 6. Especificaciones de la Segunda Columna de destilación.



Fuente: Autoría propia

2.2.5.3 Tercera Columna de destilación. El objetivo de la tercera columna es el de recuperar la máxima cantidad de solvente utilizado en la operación unitaria anterior, de igual manera aquí se recomendaron un total de 30 platos y para la etapa de entrada la numero 15 en el simulador, siendo este proceso una destilación simple para la correcta y eficiente recuperación de glicerina. En la Figura 7, se evidencia que especificaciones se modificaron para la recuperación de la glicerina.

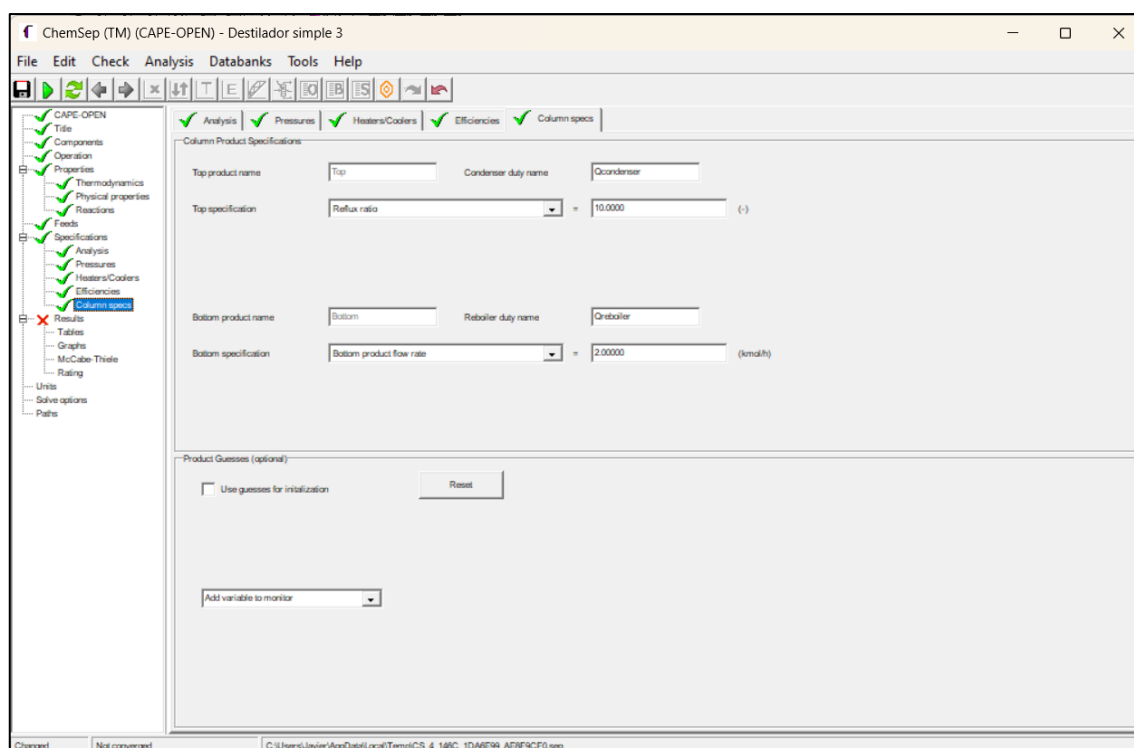
Figura 7. Especificaciones de la Tercera Columna de destilación.



Fuente: Autoría propia

2.2.5.4 Cuarta Columna de destilación. La cuarta columna se enfoca en el producto de condensado de la columna número 3, con las especificaciones de la Figura 8. Esta columna contiene agua, etanol y glicerina; la cual se desarrolla de tal manera que se pueda separar aún más la glicerina del agua para recuperar el porcentaje del solvente en este residuo al máximo, obteniendo así una glicerina al 99% pura, con la capacidad de poder ser recirculada por el mismo sistema u otro subsiguiente, y agua de residuo que está en condiciones de ser desechada o reutilizada para algún tipo de proceso de tratamiento.

Figura 8. Especificaciones de la Cuarta Columna de destilación.



Fuente: Autoría propia

2.3 Proceso de recolección y análisis de datos

2.3.1 Identificación de fuentes de datos. Las variables a medir son los azúcares reductores, los grados Brix, la acidez titulable y el pH durante el proceso de fermentación. Se debe incluir la concentración de grado alcohólico que se obtenga al final del fermentado.

2.3.2 Diseño del instrumento de recolección de datos. Se diseña un protocolo de recolección de muestras que incluye la extracción del mucílago de cacao y la medición de las variables mencionadas en puntos específicos del proceso de fermentación.

2.3.3 Recolección de datos. Se mide el contenido de azúcares reductores utilizando el método DNS, se determina los grados Brix con un refractómetro, se titula la acidez con solución de NaOH y se registra el pH con un pH metro.

2.3.4 Organización y limpieza de datos. Los datos recopilados se organizan en una base de datos estructurada, donde cada muestra está asociada con sus respectivas mediciones de azúcares reductores, grados brix, acidez titulable y pH. En ciertos casos

se procederá a realizar una limpieza de datos para corregir posibles errores de medición y asegurar la coherencia de los datos.

2.3.5. Análisis de datos. Se lleva a cabo un análisis estadístico para identificar tendencia en las mediciones de las variables a lo largo del proceso de fermentación.

2.3.5.1 Análisis de tendencias temporales. Se usarán gráficos de líneas o gráficos de series temporales para visualizar cómo cambian las variables a lo largo del tiempo durante el proceso de fermentación, haciendo uso de OriginPro 2024.

2.3.6. Interpretación de resultados. Se elabora un informe detallado que incluye tablas y gráficos de los datos recopilados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Fermentación

3.1.1 *°Brix del fermentado.* Según se observa en la Figura 9, los valores de °Brix en función del tiempo presentan un descenso acelerado durante las primeras 24 horas para los tres experimentos realizados. Posterior a este período inicial, el decremento en los °Brix se torna más lento e incluso se evidencia una ligera tendencia ascendente. No obstante, la trayectoria general describe un comportamiento decreciente, lo cual indica que los azúcares fermentables en el mucílago de cacao están siendo metabolizados por la acción de los microorganismos involucrados en el proceso fermentativo para producir etanol y otros compuestos.

Esta disminución progresiva en los sólidos solubles, representados por lo °Brix, es concordante con el consumo de sustratos azucarados como glucosa, fructuosa y sacarosa por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin XL durante la fermentación alcohólica. A medida que transcurre el tiempo de fermentación, la concentración de estos azúcares disponibles se va reduciendo, reflejándose en los menores valores de °Brix obtenidos. Este comportamiento es un indicador del adecuado progreso de la bioconversión de los azúcares del mucílago hacia la formación del producto de interés, el bioetanol.

En la Tabla 4, el experimento A demuestra una reducción de 17 a 7.77 °Brix desde el tiempo inicial (0 horas) hasta el tiempo final (168 horas), así mismo la disminución del experimento B va desde 18.7 hasta 7.60 °Brix, mientras que en el experimento C comprende desde 15.5 a 6.63 °Brix, los cuales representan una trayectoria descendiente, respaldado y comparado con los rangos de otros autores a diferentes °Brix iniciales, indicando la reducción de los sólidos solubles totales durante el mismo periodo de tiempo, en el cual se expresan 15, 19 y 22 °Brix iniciales, decreciendo a las 168 horas los valores de 5, 7 y 10 respectivamente.⁶⁸

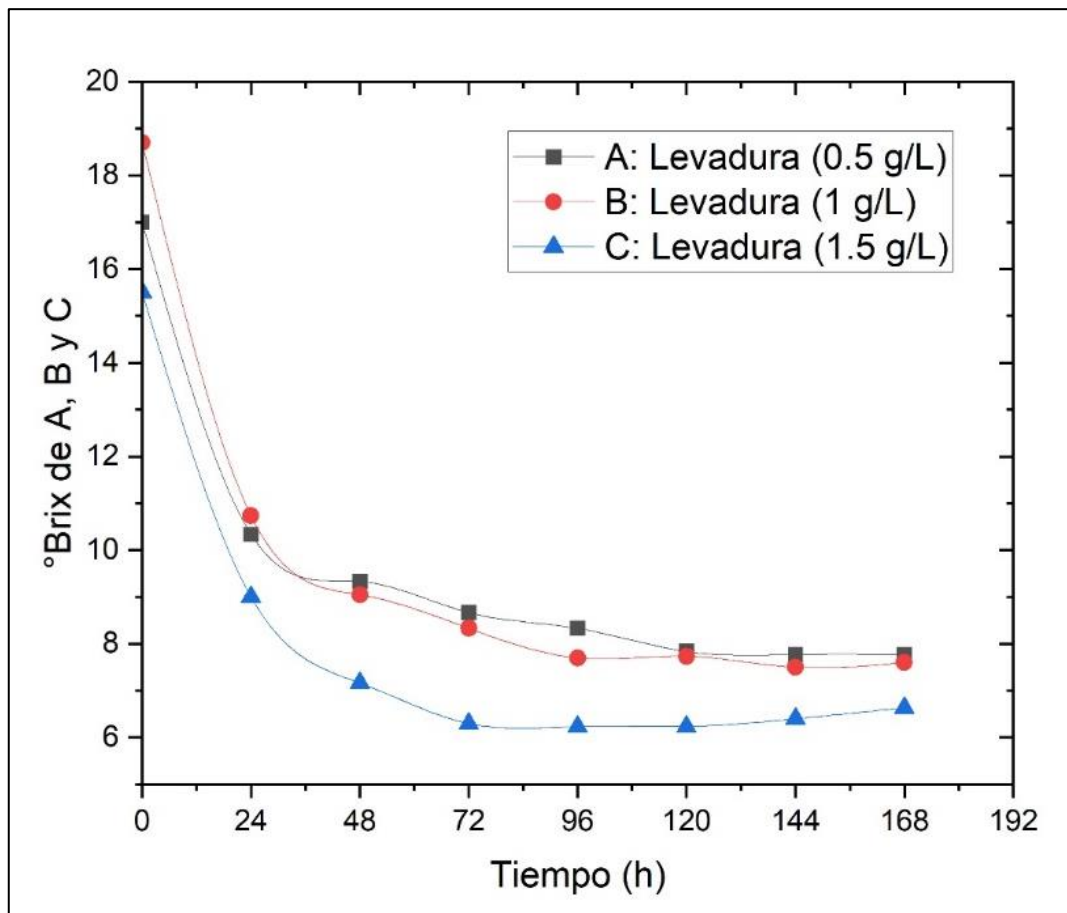
Basándose en la reducción de los grados brix, se puede ver que el experimento B, fue el que tuvo una mayor disminución de azúcares, lo que conllevó a solo analizar el porcentaje de alcohol de este experimento para conocer el grado alcohólico del fermentado final.

Tabla 4. Resultados de los Brix

Tiempo (h)	Experimentos		
	A	B	C
0	17.00	18.7	15.5
24	10.33	10.73	9.00
48	9.33	9.05	7.17
72	8.67	8.33	6.30
96	8.33	7.70	6.23
120	7.83	7.73	6.23
144	7.77	7.50	6.40
168	7.77	7.60	6.63

Fuente: Autoría propia

Figura 9. Resultados de los Brix



Fuente: Autoría propia

3.1.2 pH del fermentado. Como se puede observar en Figura 10, el pH del fermentado durante los 7 días es muy estable, con pequeñas variaciones. En los experimentos para levadura 0.5 g/L, 1 g/L y 1.5 g/L, los rangos varían entre 3.75-3.9, 3.75-3.8 y 3.1-3.35 respectivamente, los cuales se aproximan al pH de 3.7 obtenido en otro estudio de fermentación alcohólica de mucílago de cacao CCN51, en el cual se realizó a una temperatura de 30 °C y con la adición inicial de 1 g/L de sulfato de amonio.³²

En la Tabla 5 se denota una gran diferencia entre los experimentos A y B, con respecto al C, y eso se debe a que el último mencionado contiene una mayor cantidad de sulfato de amonio, el cual incide directamente sobre el pH del fermentado, ya que, al estar en una alta concentración, los microorganismos no tuvieron el tiempo suficiente para degradarlos, lo que ocasiona que esa caída drástica del pH inicial, para luego estabilizarse.

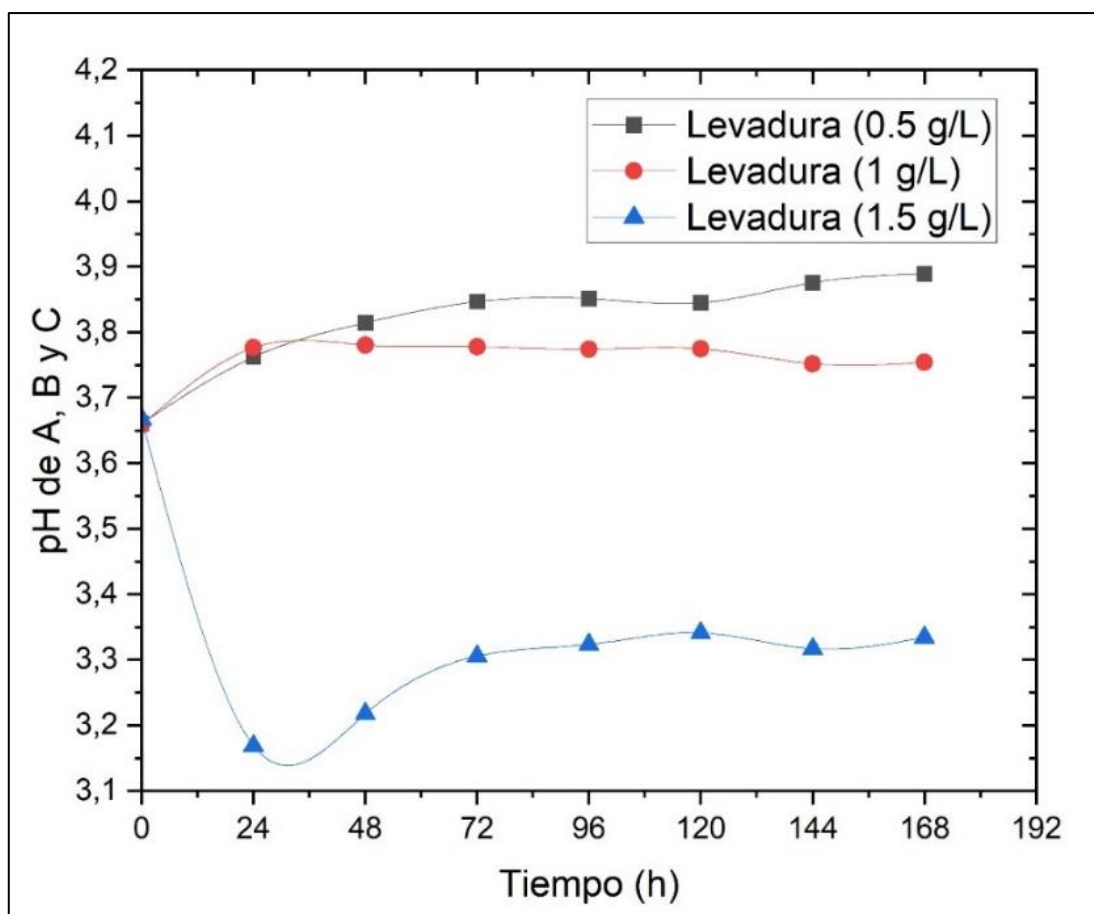
El pH del mucílago inicial fue de 3.6, muy diferente, con otro estudio que dice que el de cacao CCN51 es de 4.15.⁶⁹ Sin embargo, en estudio de valorización de mucílago de cacao CCN51, se logra detectar un pH de 3.7 ± 0.67 , lo cual asegura que el pH del mucílago se encuentra en buenas condiciones.³²

Tabla 5. Resultados del pH

Tiempo (h)	Experimentos		
	A	B	C
0	3.6610	3.6590	3.6670
24	3.7620	3.7763	3.1687
48	3.8147	3.7803	3.2177
72	3.8467	3.7780	3.3057
96	3.8513	3.7740	3.3233
120	3.8450	3.7747	3.3413
144	3.8757	3.7517	3.3170
168	3.8890	3.7540	3.3343

Fuente: Autoría propia

Figura 10. Variación del pH durante la fermentación



Fuente: Autoría propia

3.1.3 Azúcares reductores del fermentado. La Figura 11 muestra el comportamiento de los azúcares a medida que se fue dando la fermentación. Se evidencia como se logra una reducción significativa de los azúcares reductores desde el día cero hasta el día 7, llegando a un promedio de 230 mg/L de azúcares reductores al final del fermentado, alcanzando una reducción del 89.75%. En cierto estudio de la valorización de mucílago de cacao, se evidenció una reducción 59.93% de azucares reductores cuando se usó *saccharomyces cerevisiae*, trabajando con condiciones parecidas al del actual estudio, temperatura a 30°C, adición de sulfato de amonio y con un pH inicial de 3.7 del mucílago de cacao.³²

En la Tabla 6 se observa cómo hay una leve discrepancia entre los experimentos A y B, con respecto al experimento C, esto se debe a que el mucílago de cacao del último experimento contenía una menor cantidad de °brix iniciales, lo que impacta sobre los azúcares reductores que pueden convertirse en alcoholes.

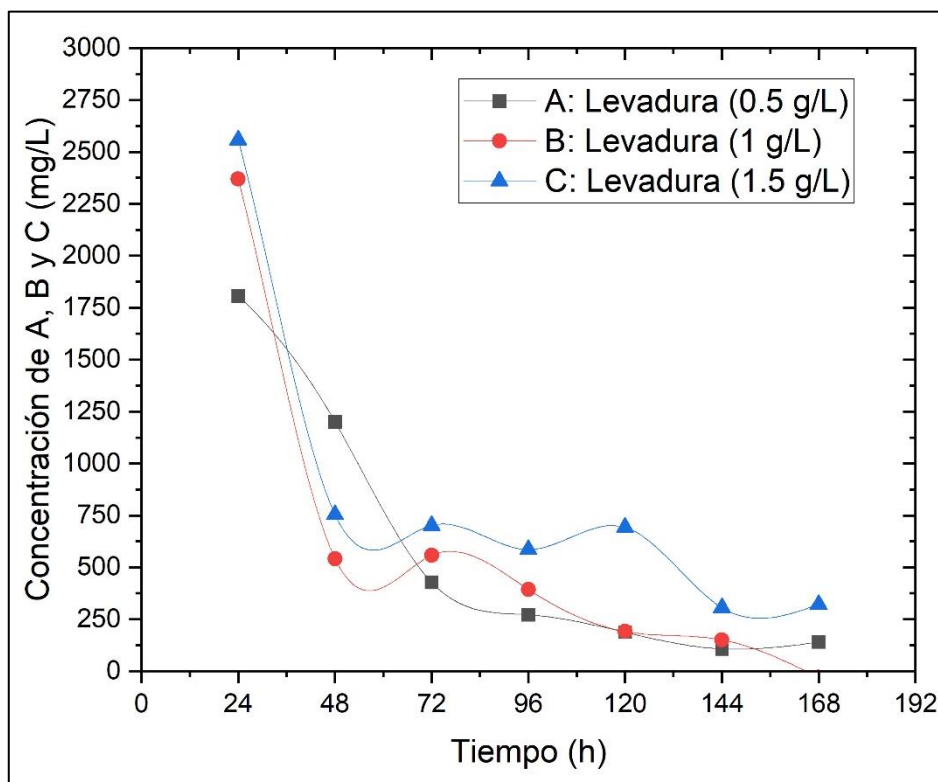
En el experimento A y B, se observa como existe una caída brusca en los azúcares en el segundo día, y a partir del tercer día se estabiliza para lograr valores por debajo de los 750 mg/L. El experimento en cambio tuvo una caída rápida de azúcares entre el día 1 y el día 3, para luego a partir de ese día llegar a estabilizarse, llegando a concentraciones cercanas a cero.

Tabla 6. Resultados de los azúcares reductores

Tiempo (h)	Experimentos		
	A	B	C
24	1806.778	2369.222	2557.984
48	1200.436	540.868	753.7736
72	427.8305	557.3298	702.1934
96	271.9924	393.8095	585.8635
120	187.4886	190.781	692.3163
144	107.3747	151.2727	306.0134
168	140.2982	-28.7093	321.9264

Fuente: Autoría propia

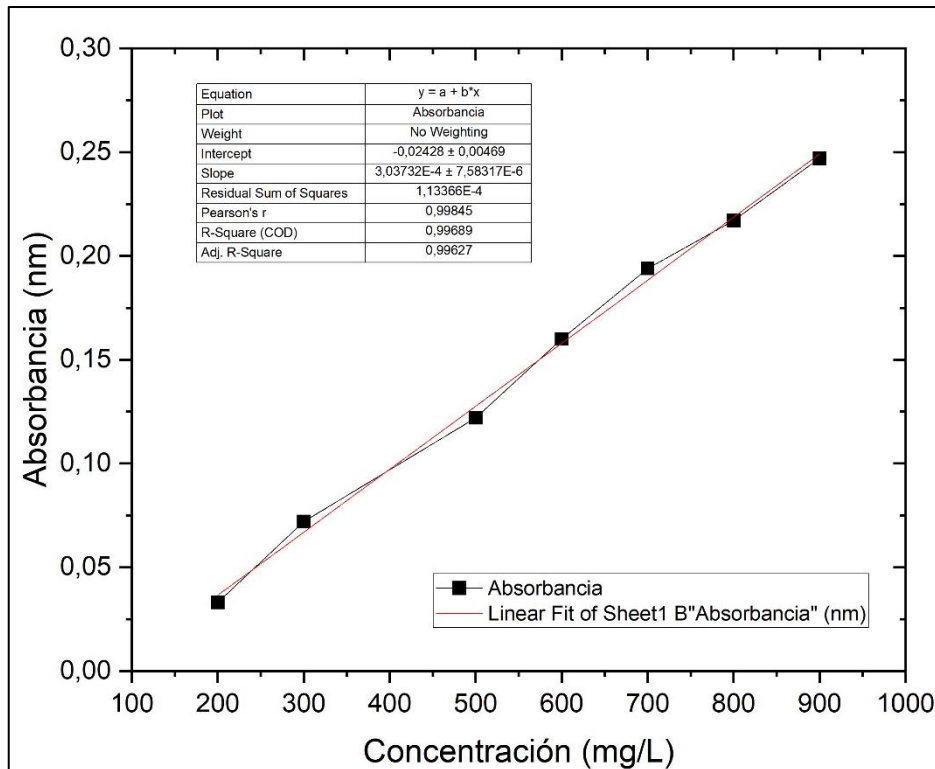
Figura 11. Consumo de sustrato en A, B y C vs Tiempo



Fuente: Autoría propia

El método DNS, necesita previamente una curva de calibración, la cual sirve como base para calcular la cantidad de azúcares presentes en la solución, como la que se observa en la Figura 12. En esta curva de calibración se puede observar una pendiente positiva en la que aumenta la absorbancia a medida que aumenta la concentración. La ecuación de la recta se describe como $y = 3.03732e^{-4}x - 0.02428$.

Figura 12. Curva de Calibración



Fuente: Autoría propia.

3.1.4 Acidez del fermentado. En la Tabla 7 se puede observar que los valores de acidez iniciales son de 1.1893, 1.1723 y 1.3024 para los experimentos A, B y C representando 0.5, 1 y 1.5 g/L de levadura *saccharomyces cerevisiae var. cerevisiae fermivin XL*, respectivamente, la cual demuestra que conforme vaya progresando el tiempo, los valores de acidez se van reduciendo de manera irregular. Los resultados de la experimentación se pueden observar en la Figura 13 que representa la relación de acidez que se va generando o reduciendo y la variable de tiempo la cual muestra una tendencia oscilante-descendiente.

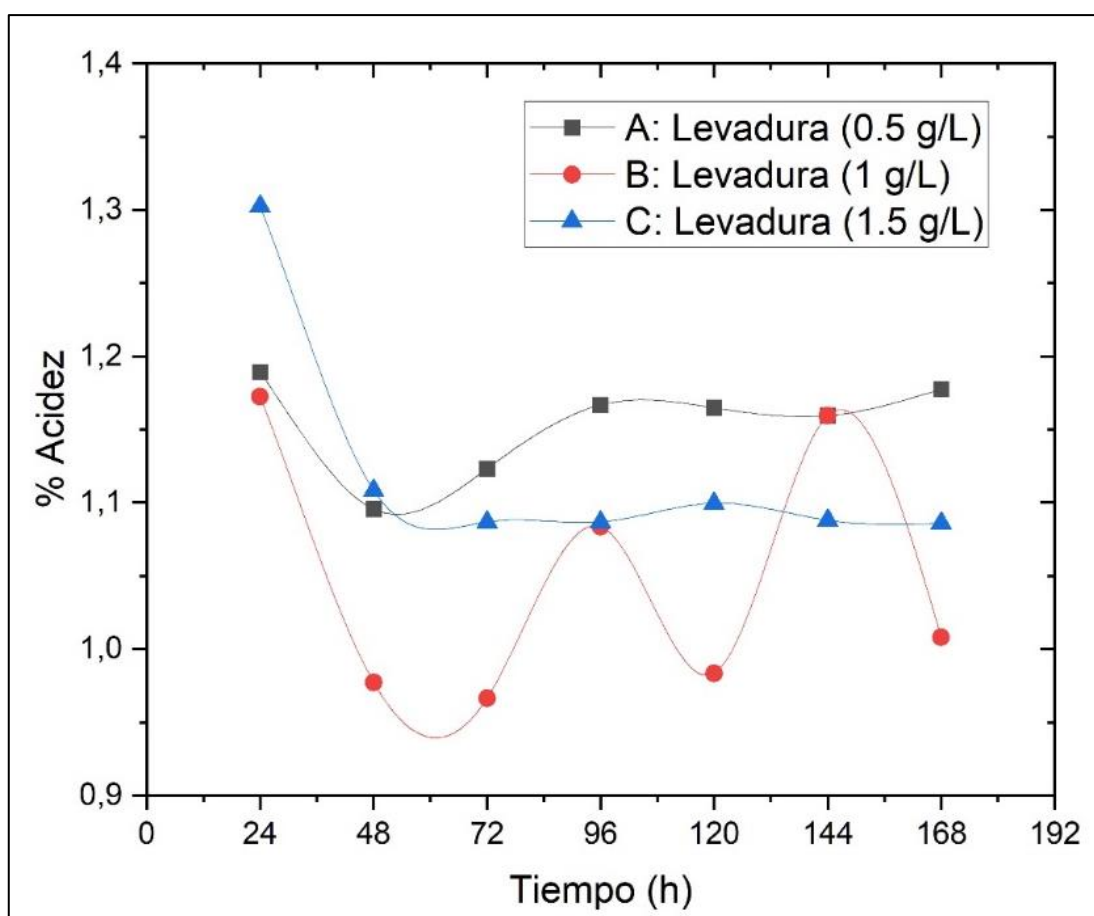
Dentro de la fermentación de cacao interviene los microorganismos que ayudarán a su proceso, así como la formación de bacterias productoras de ácido acético y bacterias productoras de ácido láctico, entre otros como hongos y bacillus; inicialmente las bacterias ácido-lácticas junto con la levadura se desarrollan de manera abundante debido a la gran cantidad de azúcar contenida, en este medio se va a descomponiendo la pulpa y entra más oxígeno, este medio es ácido, conforme avance el tiempo de fermentado se obtendrán variaciones de acidez, así el producción de ácido acético se va formando gracias a las transformación del ácido cítrico de una subida de pH, haciendo que estas reacciones químicas internas varíen con el tiempo y originen variaciones en sus propiedades físico-químicas, pH, acidez, entre otros factores que definan la calidad del producto final.⁷⁰

Tabla 7. Resultados de Porcentaje de Acidez

Tiempo (h)	Experimentos		
	A	B	C
24	1.1893	1.1723	1.3024
48	1.0955	0.9771	1.1083
72	1.1232	0.9664	1.0869
96	1.1669	1.0837	1.0869
120	1.1648	0.9835	1.0997
144	1.1595	1.1595	1.0880
168	1.1776	1.0080	1.0859

Fuente: Autoría propia

Figura 13. Variación de la acidez durante la fermentación



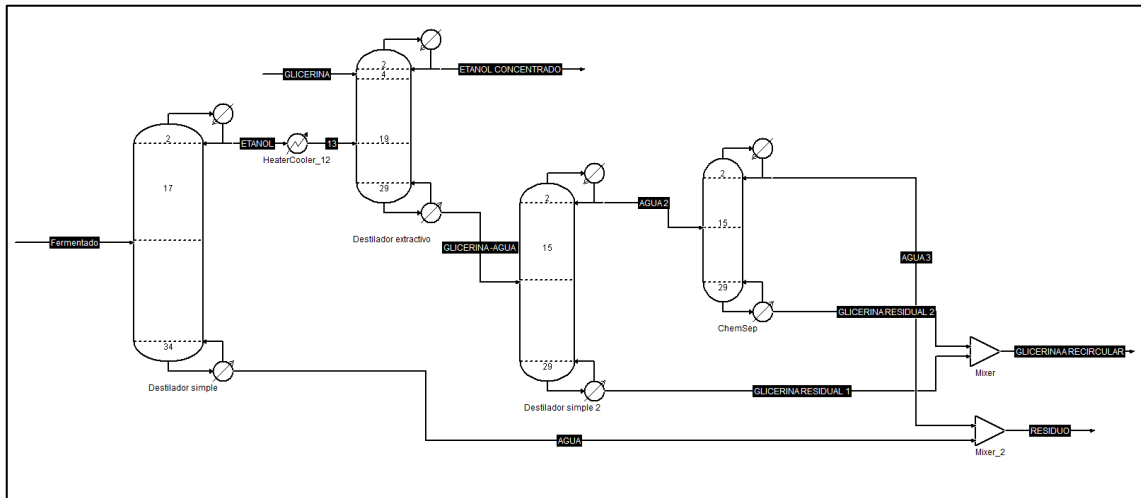
Fuente: Autoría propia

3.1.5 *Grado de alcohol.* A través de los estudios realizados por Seidlaboratory Cía. Ltda, se conoce que la concentración de etanol del fermentado final del experimento B, es del 14%. Estos resultados se pueden comprobar en el Anexo F.

3.2 Simulación

3.2.1 *Proceso de Simulación del Fermentado de Mucílago de Cacao.* Las operaciones de las columnas, flujos, modelo termodinámico y los parámetros establecidos para la obtención del etanol, resultaron en una excelente simulación del fermentado del mucílago de cacao, como se puede observar en la Figura 14, derivando también corrientes que pueden volver a ser utilizadas en el mismo proceso o para otros, logrando una alta eficiencia en cada una de las operaciones. Los datos de las corrientes más importantes se pueden visualizar en la Figura 15.

Figura 14. Proceso completo de la Simulación de un bioproceso para la obtención de etanol a partir de mucílago de cacao



Fuente: Autoría propia

Figura 15. Tabla de corrientes y sus composiciones del proceso de destilación de etanol a partir del fermentado de mucílago de cacao.

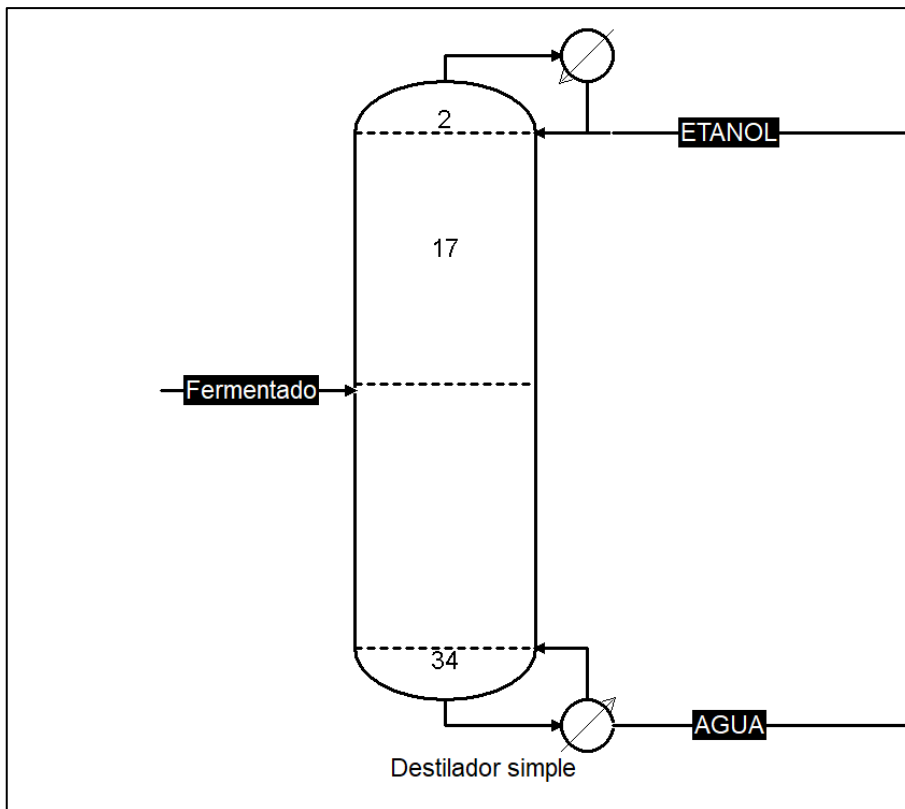
DESTILACIÓN EXTRACTIVA DE MUCÍLAGO DE CACAO POR MEDIO DE GLICERINA

Stream	Fermentado	ETANOL	AGUA	GLICERINA -AGUA	GLICERINA	RESIDUO	ETANOL CONCENTRADO	GLICERINA A RECIRCULAR	Unit
Pressure	2	1	1	0.98	1.00567	1	0.98	1	atm
Temperature	25	77.9937	97.2468	165.852	80	46.85	77.7146	46.85	°C
Flow rate	2194.27	644.444	1549.83	2842.99	2762.81	1630.01	564.267	2762.81	kg / h
Mole frac Water	0.86	0.1398	0.99	0.0611029	0	0.979473	0.01	3.2e-07	
Mole frac Ethanol	0.14	0.8602	0.01	0.0288971	0	0.0205271	0.99	0	
Mole frac Glycerol	0	0	0	0.91	1	0	1.17779e-12	1	

Fuente: Autoría propia

3.2.2 Primera Columna de Destilación. La corriente alimento de la columna de destilación simple es el fermentado de mucílago de cacao del experimento B, debido a que este presenta la mejor estabilidad de valores de °Brix, azúcares reductores, pH y acidez titulable; así mismo se utilizó un flujo de 2194.27 kg/h, la composición de la corriente es de 0.14 Etanol y 0.86 Agua, valores obtenidos del análisis de porcentaje de alcohol mediante el método SEIN-GA (INEN 340) proporcionado por el laboratorio Seidlaboratory Cía. Ltda (ver Anexo H). El modelo termodinámico que se utilizó fue el NTRL, con entalpía en exceso, el objetivo principal fue el de concentrar el porcentaje de etanol a la cantidad máxima que el equipo lo permita, para ello se estableció que el porcentaje de recuperación en la sección inferior sea del 99% de agua. Para una mejor idea del proceso se puede visualizar la Figura 16.

Figura 16. Torre de destilación simple. Primera Columna.



Fuente: Autoría propia

Se obtuvo el 86.02% de Etanol en la sección del condensador, para ello se realizaron varias iteraciones las cuales mostraron datos importantes para la elección correcta de los parámetros de operación de la columna, valores de gastos de operación por año, altura, diámetro de la columna, energía consumida, el número de platos totales y plato de entrada en el alimento; dando como resultado un total de 40 platos y el plato donde se alimenta el fermentado es el 23, siendo así las condiciones óptimas de la primera columna.

En cierto estudio de fermentado de leche, que se obtiene a través de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se realiza una destilación simple para el fermentado final, el cual se constituye un 96.7% de agua, 2.9% de etanol y 0.4% volátiles. Este producto final ingresa al destilador a 36°C y 101.325 kPa, con especificaciones de la columna de 14 platos teóricos, plato de alimentación 10, relación de reflujo de 46.67 y modelo termodinámico NRTL. Obteniéndose un etanol final al 24.7 %, que varía mucho del resultado de este estudio que fue de 86.02%, pero esto puede tener sentido, ya que el porcentaje de etanol inicial del otro estudio apenas llegaba al 2.9%, lo que significaba una concentración bajísima de alcohol.⁷¹

En Tabla 8, se puede observar el por qué se decide usar una columna simple con 40 platos, ya que esta es la que tiene un menor costo de operación, basándose en la estructura de costos de energía de la Tabla 9.

Tabla 8. Costo total anual de una columna de destilación simple en función del número de platos

Número de etapas	Número de etapas		
	30	40	45
Etapas de alimentación	17	23	26
Diámetro de columna (m)	1	0.89	1.19
Carga Térmica Ebullición (kW)	2.51E+06	2.02E+06	3.46E+06
Carga Térmica Condensador (kW)	2.36E+06	1.87E+06	3.31E+06
Fracción mol - etanol	0.8554	0.8602	0.8602
Altura de columna (m)	20.496	27.816	31.476
\$ Columna	198,818.69	224,322.41	337,606.83
Área de intercambio de Ebullición (m ²)	126983.16	102193.62	175044.52
Área de intercambio condensador (m ²)	199277.20	157901.85	279494.71
\$ Ebullición	15,153,739.51	13,158,618.28	18,669,443.07
\$ Condensador	20,311,045.10	17,459,689.37	25,306,242.45
\$/año Energía	1,418,852,800.00	1,141,865,600.00	1,955,868,800.00
\$ Costo de equipo	35,663,603.30	30,842,630.06	44,313,292.36
\$ Costo Anual Total	1,430,740,667.77	1,152,146,476.69	1,970,639,897.45

Fuente: Autoría propia

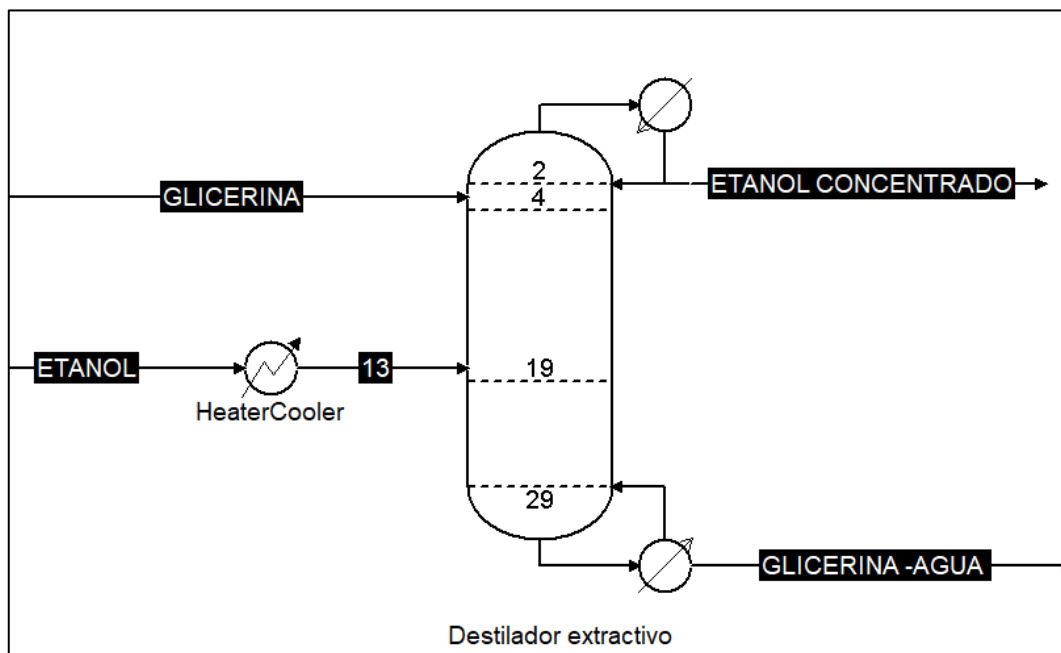
Tabla 9. Procedimiento para el cálculo del costo total anual

Condensador
Coeficiente de transferencia de calor = $0.852 \text{ kW}/(\text{Km}^2)$
Temperatura diferencial típica = 13.9 K
Costo de capital = $7296(\text{area})^{0.65}$ Área en m^2
Calentador
Coeficiente de transferencia de calor = $0.568 \text{ kW}/(\text{Km}^2)$
Temperatura diferencial típica = 34.8 K
Costo de capital = $7296(\text{area})^{0.65}$ Área en m^2
Recipiente de columna
Costo de capital del recipiente de columna = $17640(D)^{1.066}(L)^{0.802}$
El diámetro y la longitud en metros
Costos de energía
Electricidad = \$0.07066/kW-h
Costo total anual
$TAC = \frac{\text{Costo de capital}}{\text{Periodo de recuperación}} + \text{costo de energía}$
Periodo de recuperación = 3

Fuente: ⁷²

3.2.3 *Segunda Columna de Destilación.* Para la segunda torre que se puede observar en la Figura 17, se utilizó una destilación extractiva con el objetivo principal de concentrar el etanol destilado del proceso anterior, el cual demostró tener una fracción de alcohol de 0.8602 y un flujo 644.444 kg/h con una temperatura de 78 °C aproximadamente, por consiguiente, se recurrió a usar un HeaterCooler, que permitirá disminuir la temperatura del etanol para su óptimo desarrollo dentro de la columna, la temperatura después de este equipo fue de alrededor de 26.85 °C. Como solvente se empleó la glicerina pura para la eliminación del azeótropo que forma el etanol y el agua, utilizándose en esta corriente un flujo de 2762.81 kg/h y temperatura de 80 °C; estas diferencias de temperaturas entre Etanol y Glicerina ayuda a tener mejor contacto dentro de la columna de destilación, obteniéndose así como resultado un producto de etanol con una fracción del 0.9999 y como corriente en la parte inferior, agua y glicerina, como proporción de 91% de solvente, 6.11% de agua y 2.89% de etanol.

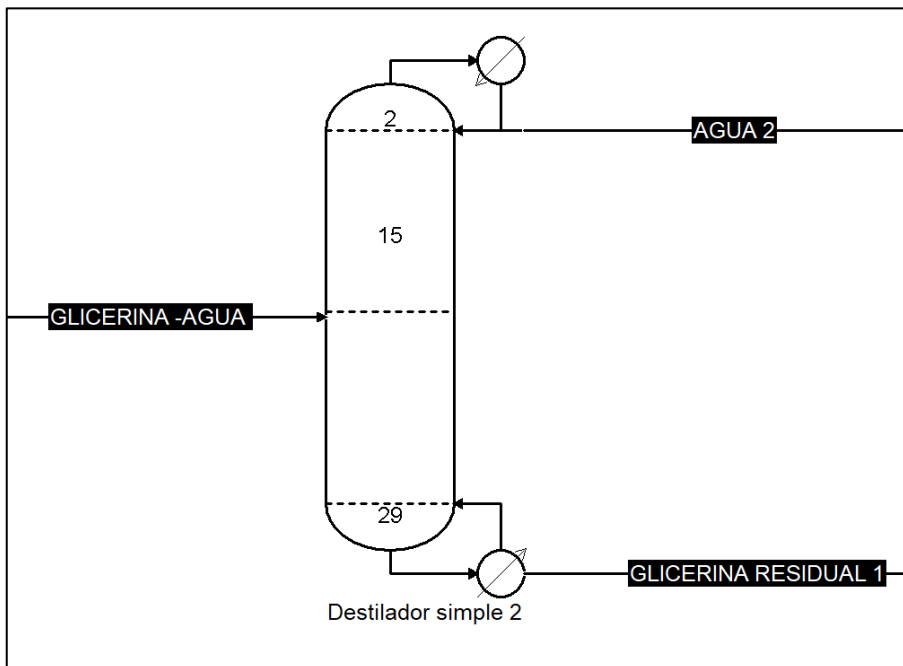
Figura 17. Columna de destilación extractiva. Segunda Columna.



Fuente: Autoría propia

3.2.4 Tercera Columna de Destilación. La Figura 18, permite visualizar como esta columna tuvo como alimentación la corriente “Glicerina-Agua”, la cual, al finalizar la simulación se obtuvo los resultados para la sección más liviana (Agua 2) que se componía de una fracción mol de 0.4056 de agua, 0.1918 de etanol y 0.4027 de glicerina. Mientras que en la parte inferior o zona pesada la fracción mol obtenido es de 1.0000 de glicerina, corriente denominada como Glicerina Residual 1, obteniéndose un producto de fondo de glicerina relativamente pura.

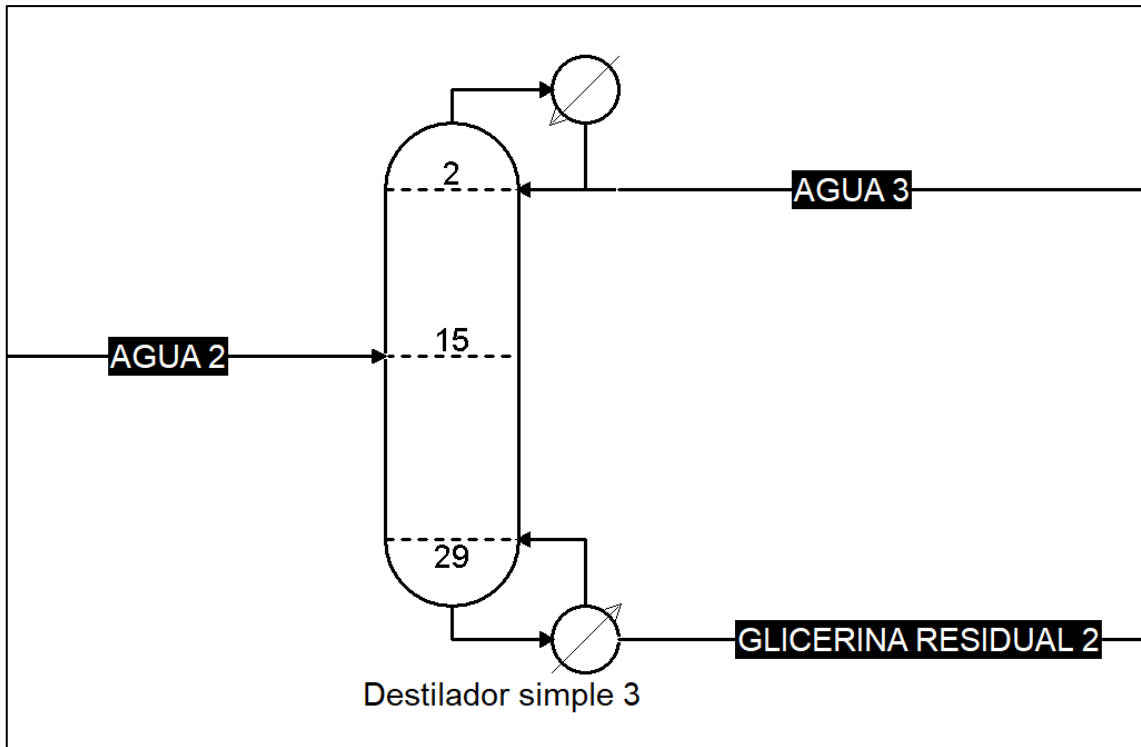
Figura 18. Torre de destilación simple 2. Tercera Columna.



Fuente: Autoría propia

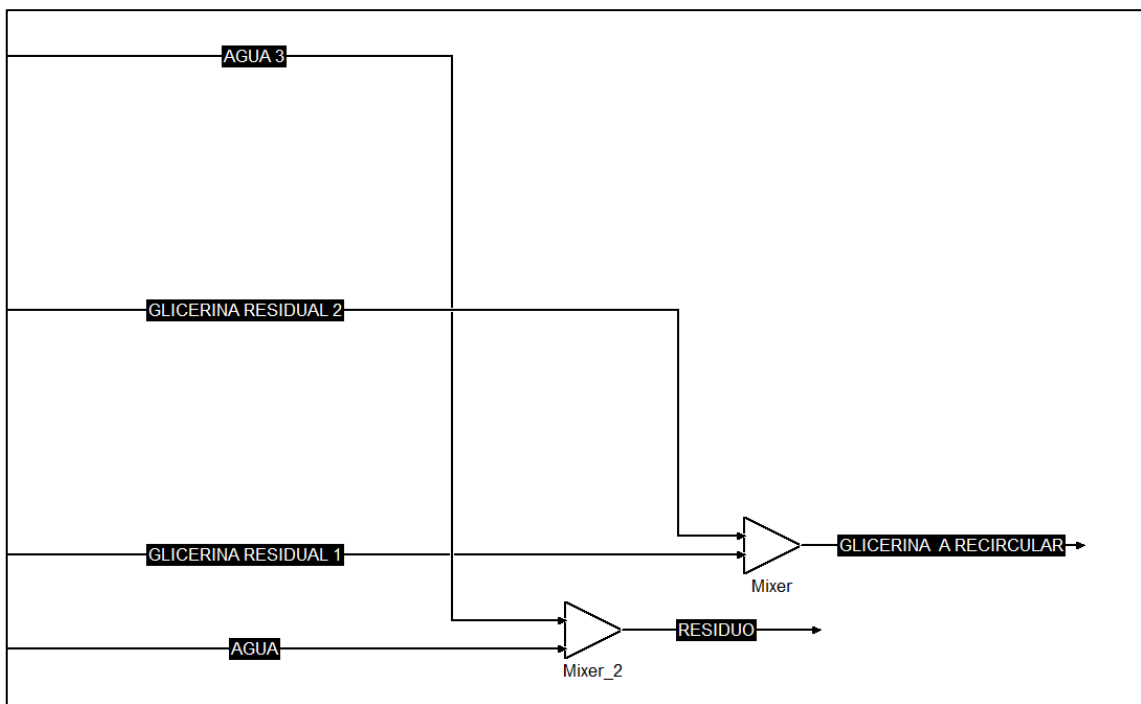
3.2.5 Cuarta Columna de Destilación. Del proceso anterior se tiene el Agua 2, la cual contiene un porcentaje de 40.27 de glicerina, que se recupera en esta cuarta columna con una destilación simple, como se ve en la Figura 19, generando así las corrientes de Agua 3 y Glicerina Residual 2; este último alcanzando el objetivo de esta columna de recuperar el 99.99% de solvente, que por consiguiente puede mezclarse con la corriente de Glicerina Residual 1 y obtener la corriente de Glicerina a Recircular, que puede emplearse en el mismo proceso o en algún otro, para ello se hace uso de un Mixer que ayuda a combinar estas corrientes. Para el caso del Agua 3, esta tiene porcentajes bajos de etanol, por ende, se puede mezclar con la corriente de agua que se desarrolla como resultado de la Primera Columna para así formar un Residuo que puede ser tratada posteriormente para algún uso industrial, ambiental, doméstico, etc; tal y como se observa en la Figura 20.

Figura 19. Torre de destilación simple 3. Cuarta Columna.



Fuente: Autoría propia

Figura 20. Mezclador para Glicerina y para Agua de Residuo.



Fuente: Autoría propia

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

El mucílago de cacao presentó un valor de 17.1 °Brix, lo cual indica un alto contenido de sólidos solubles, principalmente azúcares fermentables como glucosa, fructuosa y sacarosa. Este nivel de °Brix es adecuado y favorable para ser utilizado como sustrato en procesos fermentativos destinados a la producción de bioetanol, ya que proporciona una cantidad apreciable de carbohidratos fermentables que pueden ser metabolizados por microorganismo como las levaduras para generar etanol. Por otra parte, el pH del mucílago de cacao fue de 3.66, encontrándose en un rango ácido. Esta acidez puede atribuirse principalmente a la presencia de ácidos orgánicos como el ácido cítrico. Un pH ligeramente ácido suele ser beneficioso para los procesos fermentativos con levaduras, ya que estas toleran mejor medio con pH entre 4-6. Sin embargo, valores de pH muy bajos podrían inhibir el crecimiento y actividad fermentativa. Por lo tanto, podría requerirse realizar un ajuste de pH a un nivel óptimo antes de iniciar la fermentación alcohólica.

Dentro de los parámetros estudiados para la producción de bioetanol a partir de mucílago de cacao, el experimento B (1 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* / L de mucílago) llevado a cabo en condiciones anaerobias y a temperatura ambiente, resultó ser el más idóneo, evidenciando una mayor reducción de los azúcares fermentables y transformándolos en alcoholes. La levadura *saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* fermivin XL demostró una cinética fermentativa acelerada, alcanzando la producción de etanol en solo 3 días, en comparación a los 7 días reportados usualmente en procesos similares. A partir del tercer día, los cambios en °Brix, pH y acidez fueron mínimos. El proceso culminó con la obtención de un fermentado con 14% de concentración de etanol.

Los resultados confirman las condiciones experimentales óptimas para maximizar la producción de bioetanol a partir de mucílago de cacao, constituyendo un aporte para escalar el proceso a nivel industrial.

La simulación de la etapa de destilación permitió determinar el número óptimo de columnas necesarias para obtener un bioetanol de alta pureza y un porcentaje de recuperación cercano al 99%. Con base en los resultados de la simulación, se estableció un diseño con 4 columnas de destilación: una columna simple para enriquecer el fermentado, una columna extractiva para producir bioetanol de máxima pureza, y dos columnas simples para la recuperación de glicerina. Mediante este esquema simulado,

se logró finalmente obtener un etanol al 99%, recuperación de glicerina al 99%, y un residuo de fermentado compuesto en un 97.94% de agua, aprovechando eficientemente los subproductos.

La simulación de la destilación permitió optimizar el número y configuración de columnas, logrando predecir adecuadamente los niveles de pureza y recuperación de solventes y composición de corrientes residuales. Esto da lineamientos valiosos sobre el diseño del sistema de purificación industrial para obtener bioetanol a partir de desechos orgánicos como el mucílago de cacao, pero abre la oportunidad de modelar otros procesos con materia prima diferente como fuente de azúcares.

La simulación del bioproceso de obtención de bioetanol a partir de mucílago de cacao mediante el software COCO Simulator fue exitosa, logrando modelar adecuadamente las etapas del proceso de destilación. El haber podido predecir la obtención de un bioetanol de alta pureza (99%) a partir de este desecho orgánico es de gran relevancia, ya que permite evaluar el rendimiento y viabilidad del proceso previo a su escalamiento industrial. Adicionalmente, la simulación arrojó un porcentaje de recuperación solvente (glicerina) también cercano al 99%, demostrando que existen alternativas menos tóxicas como el etilenglicol.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda establecer un medio adecuado para la fermentación del mucílago de cacao, implementando un biorreactor sofisticado para el control de ciertos parámetros con el objetivo de regular y caracterizar de manera más precisa la temperatura, presión, pH, nutrientes o agitación para el establecimiento de la máxima capacidad de *saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* fermivin XL en mucílago de cacao CCN-51.

Es recomendable que se utilice mucílago de cacao fresco (recolectado y filtrado en el mismo día de los primeros análisis) y en buenas condiciones, sin que haya sido alterado, contaminado o envasado en un recipiente no esterilizado para evitar la proliferación de microorganismos no deseados previo al proceso de fermentación y no causar un impacto negativo que por consiguiente alterará de manera errónea los resultados de la investigación

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Cambisaca-Díaz, M. I.; Macías-Badaraco, K. I. Competitividad de Las Exportaciones de Cacao En Ecuador 2015 – 2020. *Rev Econ* **2023**, *11* (1), 83–91. <https://doi.org/10.54753/rve.v11i1.1595>.
- (2) Aguirre Bajaña, Y. I.; Alvarado Mendoza, O. A. Análisis de La Producción y Oferta de Cacao Ecuatoriano En El Mercado Internacional, Periodo 1999-2019. Facultad de Ciencias Económicas. Universidad de Guayaquil 2023. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/69273> (accessed 2024-02-23).
- (3) Díaz-Montenegro, J.; Varela, E.; Gil, J. M. Livelihood Strategies of Cacao Producers in Ecuador: Effects of National Policies to Support Cacao Farmers and Specialty Cacao Landraces. *J Rural Stud* **2018**, *63*, 141–156. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2018.08.004>.
- (4) Moreira Morán, S. T. Caracterización Del Mucílago de Caco (Theobroma Cacao L.) Nacional y Trinitario En El Cantón Quevedo., UTEQ, Quevedo, 2019.
- (5) Jadán Solís, P.; Cifuentes Rojas, T.; Amaya Díaz, I. Manejo Técnico Del Cultivo de Cacao a Emprendedores Agrícolas Del Recinto Cuatro Mangas-Buena Fe-Los Ríos-Ecuador | Dominio de Las Ciencias. *Dominio de las Ciencias* **2023**, *9* (2), 354–372.
- (6) Sharma, B.; Vaish, B.; Monika; Singh, U. K.; Singh, P.; Singh, R. P. Recycling of Organic Wastes in Agriculture: An Environmental Perspective. *Int J Environ Res* **2019**, *13* (2), 409–429. <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00175-y>.
- (7) Wang, L.; Zhao, Y.; Liu, H.; Song, C.; Wei, Z.; Chen, X.; Kang, K.; Yang, H. The Action Difference of Metabolic Regulators on Carbon Conversion during Different Agricultural Organic Wastes Composting. *Bioresour Technol* **2021**, *329*, 124902. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124902>.
- (8) Vásquez, Z. S.; de Carvalho Neto, D. P.; Pereira, G. V. M.; Vandenberghe, L. P. S.; de Oliveira, P. Z.; Tiburcio, P. B.; Rogez, H. L. G.; Góes Neto, A.; Soccol, C. R. Biotechnological Approaches for Cocoa Waste Management: A Review. *Waste Management* **2019**, *90*, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.030>.

- (9) Iza Jiménez, S. F.; Borja Urbano, L. P. PLANIFICACIÓN DE UN PROYECTO BASADO EN EL ESTÁNDAR DE LA GUÍA PMBOK® V6 DEL PROJECT MANAGEMENT INSTITUTE (PMI®) DE PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LICOR DE MUCILAGO DE CACAO, EN LA MANGA DEL CURA, UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS, 2023.
- (10) Dimian, A. C.; Bildea, C. S.; Kiss, A. A. *Applications in Design and Simulation of Sustainable Chemical Processes - Alexandre C. Dimian, Costin Sorin Bildea, Anton A. Kiss - Google Libros*; Elsevier, 2019.
- (11) Gmehling, J.; Kleiber, M.; Kolbe, B.; Rarey, J. *Chemical Thermodynamics for Process Simulation*, Second.; John Wiley & Sons, 2019.
- (12) Reabsorción, O.; Cacao, T.; Vegetación, L.; Prihastanti, E.; Nurchayati, Y. Nitrogen and Phosphorus as Macronutrients of Cocoa (*Theobroma Cacao*) and Their Physiological Functions in Different Planting Patterns of Cultivation in Central Java, Indonesia. *Rev Fac Nac Agron Medellin* **2022**, 75 (3), 10061–10070. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v75n3.97593>.
- (13) Lissette, K.; Abad, B.; Cevallos, H. V.; Javier, V.; Montealegre, G.; Romero, H. C. Análisis de Las Exportaciones Del Cacao Ecuatoriano En Grano En El Periodo 2008 al 2018. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas* **2021**, 4 (S1), 147–155.
- (14) García-Briones, A. R.; Pico-Pico, B. F.; Jaimez, R. E. La Cadena de Producción Del Cacao En Ecuador: Resiliencia En Los Diferentes Actores de La Producción. *Novasinerгия, ISSN 2631-2654* **2021**, 4 (2), 152–172. <https://doi.org/10.37135/NS.01.08.10>.
- (15) Alcívar Córdova, K. S.; Quezada Campoverde, J.; Barrezueta Unda, S.; Garzón Montealegre, V. J.; Carvajal Romero, H. Análisis Económico de La Exportación Del Cacao En El Ecuador Durante El Periodo 2014 – 2019. *Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional, ISSN-e 2550-682X, Vol. 6, Nº. 3, 2021, págs. 2430-2444* **2021**, 6 (3), 2430–2444. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i3.2522>.
- (16) Pérez, O. A. V.; Cevallos, H. A. V.; Campoverde, J. M. Q. Análisis Comparativo Del Impacto Económico Del Cultivo Del Cacao En Ecuador Del Primer Semestre

2019 versus El Primer Semestre 2020. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas* **2021**, 4 (2), 169–179.

- (17) Merino Chumacero, M. E. Diseño e Implementación de Reactor Anaerobio Semicontinuo Para Aprovechamiento de Cáscaras de Cacao. Tesis de Grado, Universidad de Piura, Piura, 2019.
- (18) Merino Chumacero, M. E. Diseño e Implementación de Reactor Anaerobio Semicontinuo Para Aprovechamiento de Cáscaras de Cacao, Universidad de Piura, Piura, 2019.
https://www.researchgate.net/publication/349830650_Disenio_e_implementacion_de_reactor_anaerobio_semicontinuo_para_aprovechamiento_de_cascaras_de_cacao (accessed 2024-02-23).
- (19) Incacutipa Ramos, S. J.; Quispe Condori, W. Extracción y Caracterización Física, Química, Cromatográfica y Espectrofotométrica de La Manteca de Cacao Theobroma Cacao L. Del Clon CCN-51 Cultivado En El Distrito Las Piedras, Provincia de Tambopata, Departamento de Madre de Dios. *Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios - UNAMAD* **2023**.
- (20) Mian, T.-A.; Camara, F.; Coulibaly, W.; Beugré, G. Assessment of Physicochemical, Biochemical and Functional Properties of Mucilage Cocoa Juice during Storage at Room Temperature. *Trends Journal of Sciences Research* **2022**, 1 (1), 10–26. <https://doi.org/10.31586/ojfn.2022.186>.
- (21) Humberto Vera Rodríguez, J.; Jacinto Jiménez Murillo, W.; Cecilia Naula Mejía, M.; Javier Villa Cárdenas, U.; Andres Zaruma Quito, F.; Yamilet Montecé Maridueña, G.; Jesus Cabrera Carreño, W.; Nicolle Zambrano Valencia, F.; Maribel Astudillo Ludizaca, C.; Superior Tecnológico Enrique Noboa Arízaga Carrera Tecnología Superior en Producción Agropecuaria La Troncal, I.; Ecuador, C. Residuos de La Producción de Cacao (Theobroma Cacao L.) Como Alternativa Alimenticia Para Rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA* **2021**, 13 (2), e839–e839.
<https://doi.org/10.24188/RECIA.V13.N2.2021.839>.
- (22) Morante-Carriel, L.; Abasolo, F.; Bastidas-Caldes, C.; Paz, E. A.; Huaquipán, R.; Díaz, R.; Valdes, M.; Cancino, D.; Sepúlveda, N.; Quiñones, J. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Cocoa Mucilage and Meat: Exploring Their Potential as Biopreservatives for Beef. *Microbiology Research*

2023, Vol. 14, Pages 1150-1167 **2023**, 14 (3), 1150–1167.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microbiolres14030077>.

- (23) Torres Castro, J. P. Caracterización de Los Residuos de Cacao Generados Con Potencial Valor, Para Su Uso En La Industria Alimentaria, En El Cantón Santo Domingo, Provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas. **2023**.
- (24) Luigi Pilligua-Pilligua, R.; Leonardo Barre-Zambrano, R.; Mendoza-González, A. E.; Lavayen-Delgado, E.; Mero-Santana, R. Influencia Del Mucilago de Cacao (Theobroma Cacao) En Las Características Físicoquímicas y Sensoriales de La Cerveza Artesanal. *Revista ESPAMCIENCIA*, ISSN-e 1390-8103, Vol. 12, Nº. 1, 2021 (Ejemplar dedicado a: REVISTA ESPAMCIENCIA 2021), págs. 25-32 **2021**, 12 (1), 25–32. https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i1.234.
- (25) Sánchez Olaya, D. M.; Rodríguez Pérez, W.; Castro Rojas, D. F.; Trujillo Trujillo, E.; Sánchez Olaya, D. M.; Rodríguez Pérez, W.; Castro Rojas, D. F.; Trujillo Trujillo, E. Respuesta Agronómica de Mucilago de Cacao (Theobroma Cacao L.) En Cultivo de Maíz (Zea Mays L.). *Ciencia en Desarrollo* **2019**, 10 (2), 43–58. <https://doi.org/10.19053/01217488.V10.N2.2019.7958>.
- (26) Guzmán-Ortiz, F. A.; Soto-Carrasquel, A.; López-Perea, P.; Román-Gutiérrez, A. D.; Guzmán-Ortiz, F. A.; Soto-Carrasquel, A.; López-Perea, P.; Román-Gutiérrez, A. D. Valuation and Use of a New Variety of Barley for Brewing Craft Beer. *Ingeniería agrícola y biosistemas* **2019**, 11 (1), 81–95. <https://doi.org/10.5154/R.INAGBI.2018.01.001>.
- (27) Ingeniería Agroindustrial, C.; Vera Kenya Jamileth, G.; José Villarroel Bastidas, I. Evaluación de Levaduras a Partir de Dos Variedades de Mucilago de Cacao (Theobroma Cacao) Para Su Uso En Procesos Fermentativos. Quevedo - UTEQ 2019. <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3931> (accessed 2023-08-17).
- (28) Roxanna, L.; Pozo, G. Efecto Del Riego Por Aspersión Para La Optimización Del Rendimiento En El Cultivo Del Cacao (Theobroma Cacao) Variedad CCN-51 En Época Seca, En El Cantón Quinsaloma, Provincia de Los Ríos. Quevedo- UTEQ 2017. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3307> (accessed 2024-02-23).
- (29) Agus, B. A. P.; Mohamad, N. N.; Hussain, N. Composition of Unfermented, Unroasted, Roasted Cocoa Beans and Cocoa Shells from Peninsular Malaysia.

- Journal of Food Measurement and Characterization* **2018**, 12 (4), 2581–2589.
<https://doi.org/10.1007/s11694-018-9875-4>.
- (30) Romero Cortes, T.; Cuervo-Parra, J. A.; José Robles-Olvera, V.; Rangel Cortes, E.; López Pérez, P. A. Experimental and Kinetic Production of Ethanol Using Mucilage Juice Residues from Cocoa Processing. *International Journal of Chemical Reactor Engineering* **2018**, 16 (11).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1515/ijcre-2017-0262>.
- (31) Tenesaca Fajardo, D. E. Balance Energético de La Producción de Bioetanol a Partir de Mucílago de Cacao CCN-51 En Los Cantones Camilo Ponce Enríquez y La Troncal. **2019**.
- (32) Ayala, H.; Kaiser, D.; Pavón, S.; Molina, E.; Siguenza, J.; Bertau, M.; Lapo, B. Valorization of Cocoa's Mucilage Waste to Ethanol and Subsequent Direct Catalytic Conversion into Ethylene. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **2022**, 97 (8), 2171–2178. <https://doi.org/10.1002/JCTB.7095>.
- (33) ANJITHA, B. S.; APARNA, V. M.; KAVYA, M.; NAMITHA, A.; SREEDEV, V. S. PRODUCTION AND QUALITY EVALUATION OF COCOA WINE. **2022**.
- (34) Marie-Ange Sakia Mian, T.; Camara, F.; Hermann Coulibaly, W.; Avit Maxwell Beugré, G. Assessment of Physicochemical, Biochemical and Functional Properties of Mucilage Cocoa Juice during Storage at Room Temperature. *Trends Journal of Sciences Research* **2022**, 1 (1), 10–26.
<https://doi.org/10.31586/OJFN.2022.186>.
- (35) Avecillas Guzmán, J. M. Aprovechamiento Del Mucílago de Theobroma Cacao Var. CCN51 y Nacional En La Elaboración de Una Bebida Alcohólica Utilizando Dos Tipos de Levaduras y Nutrientes. *Repositorio de la Universidad Estatal de Milagro* **2023**.
- (36) Agila, T.; Alfonso, L. Diseño de Una Planta Piloto Para La Obtención de Bioetanol a Partir de Mucílago de Cacao. **2022**.
- (37) Parapouli, M.; Vasileiadis, A.; Afendra, A. S.; Hatziloukas, E. Saccharomyces Cerevisiae and Its Industrial Applications. *AIMS Microbiol* **2020**, 6 (1), 1.
<https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2020001>.

- (38) Tang, H.; Wu, Y.; Deng, J.; Chen, N.; Zheng, Z.; Wei, Y.; Luo, X.; Keasling, J. D. Promoter Architecture and Promoter Engineering in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Metabolites* **2020**, Vol. 10, Page 320 **2020**, 10 (8), 320. <https://doi.org/10.3390/METABO10080320>.
- (39) Naghshbandi, M. P.; Tabatabaei, M.; Aghbashlo, M.; Gupta, V. K.; Sulaiman, A.; Karimi, K.; Moghimi, H.; Maleki, M. Progress toward Improving Ethanol Production through Decreased Glycerol Generation in *Saccharomyces Cerevisiae* by Metabolic and Genetic Engineering Approaches. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2019**, 115, 109353. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2019.109353>.
- (40) Oenobrands. XL *Saccharomyces Cerevisiae* Var. *Cerevisiae* 11947 - UNIVERSITY OF SANTIAGO - CHILE, 2020. https://www.oenobrands.com/wp-content/uploads/2020/04/FERMIVIN_ADS_XL_EN.pdf (accessed 2024-03-02).
- (41) Philippe, D.; Michel, E.; Okil, D. G.; Jean, P. L. O.; Arnaud, W. G. T. S.; Claudia, B.; Léa, N. Studying the Ethylic Fermentation Process of the Mucilage Juice of Cacao by *Saccharomyces Cerevisiae* Yeast. *African Journal of Food Science* **2023**, 17 (7), 141–147. <https://doi.org/10.5897/AJFS2022.2241>.
- (42) Durán-García, M. E.; Ruiz-Navas, R. A. Simulador de Propiedades Termodinámicas En La Conversión de La Biomasa Forestal de Aserrín de Pino. *Maderas. Ciencia y tecnología* **2020**, No. ahead, 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2020005000309>.
- (43) Al-Malah, K. I. *Aspen plus: Chemical Engineering Applications*; John Wiley & Sons, 2022.
- (44) Saidi, M.; Kadkhodayan, H. Experimental and Simulation Study of Copper Recovery Process from Copper Oxide Ore Using Aspen plus Software: Optimization and Sensitivity Analysis of Effective Parameters. *J Environ Chem Eng* **2020**, 8 (3), 103772. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2020.103772>.
- (45) Valverde, J. L.; Ferro, V. R.; Giroir-Fendler, A. Automation in the Simulation of Processes with Aspen HYSYS: An Academic Approach. *Computer Applications in Engineering Education* **2022**, 31 (2), 376–388. <https://doi.org/10.1002/CAE.22589>.

- (46) Liu, Z.; Karimi, I. A. Simulation of a Combined Cycle Gas Turbine Power Plant in Aspen HYSYS. *Energy Procedia* **2019**, *158*, 3620–3625. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.901>.
- (47) Uddin, M. R.; Kumar Mondal, S.; Rakib Uddin, M.; Majumder, S.; Pokhrel, J. HYSYS Simulation of Chemical Process Equipment Phase Development in Cement Hydrate Systems View Project HYSYS Simulation of Chemical Process Equipments. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4186.9289>.
- (48) Pérez Sánchez, A. Simulation of the Acrylic Acid Production Process through Catalytic Oxidation of Gaseous Propylene Using ChemCAD® Simulator Simulation of Chemical Plants and Processes Using ChemCAD Simulator View Project Design/Evaluation of Heat Transfer Equipment View Project. <https://doi.org/10.4067/S0718-33052019000100142>.
- (49) James, C.; Armstrong, M.; Washington, G.; Biaglow, A. Consistency of Thermodynamic Properties from CHEMCAD Process Simulations. *Chemical Data Collections* **2020**, *27*, 100371. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100371>.
- (50) Toselli, L. A.; Guerrero, M. P.; Monesterolo, V. M.; Beltrán, R. A. Aplicación Del Simulador ChemCAD TMen La Enseñanza En Carreras de Ingeniería. *Formación universitaria* **2009**, *2* (3), 19–24. <https://doi.org/10.4067/S0718-50062009000300004>.
- (51) Wang, X.; Yue, H.; Liu, G.; Zhao, Z. The Application of COMSOL Multiphysics in Direct Current Method Forward Modeling. *Procedia Earth and Planetary Science* **2011**, *3*, 266–272. <https://doi.org/10.1016/J.PROEPS.2011.09.093>.
- (52) Udrea, E. C.; Pleșu *, V.; Bîldea, S. ADVANCED PROCESS MODELLING OF TAME INDUSTRIAL SYNTHESIS IN GPROMS®. *Bulletin of Romanian Chemical Engineering Society* **2019**, *6* (1).
- (53) Benjamim, T. M.; Ribeiro, R. S. G.; Marra, E. B.; Fraguas, M. R.; Pereira, C. S. S. SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE TRATAMENTO DE ÁGUA ETA UTILIZANDO O SIMULADOR DE PROCESSO PROSIMPLUS. RELATÓRIO DE TRABALHO DE LICENCIATURA, UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE, Maputo, 2022.
- (54) Prasad Dwarkadas, A. J.; Gohil, J.; Doshi, S.; Chheda, D.; Prasad, A. Simulation Of Aqua-Ammonia Refrigeration System Using The Cape-Open To Cape-Open

- (COCO) Simulator. *Article in International Journal of Scientific & Technology Research* **2017**.
- (55) Zakaria, M.; Ismail, N. S.; Sharwazi, N. B. I.; Rostam, Q. S. Coco Simulator: A Steady State Flowsheet Simulation Environment / Muhammad Zimam Akid Mohd Haniffa. **2015**.
- (56) *COCO - the CAPE-OPEN to CAPE-OPEN simulator*.
<https://www.cocosimulator.org/> (accessed 2023-09-22).
- (57) Kooijman, H. A.; Taylor, R. *The ChemSep Book Second Edition*. **2019**.
- (58) Al-Malah, K. I. *Aspen plus: Chemical Engineering Applications*; John Wiley & Sons, 2022.
- (59) Fernández-Seara, J.; Uhía, F. J.; Sieres, J.; Campo, A. A General Review of the Wilson Plot Method and Its Modifications to Determine Convection Coefficients in Heat Exchange Devices. *Appl Therm Eng* **2007**, 27 (17–18), 2745–2757.
<https://doi.org/10.1016/J.APPLTHERMALENG.2007.04.004>.
- (60) Fredenslund, A.; Gmehling, J.; Rasmussen, P. *Vapor-Liquid Equilib Using UNIFAC a Group-Contribution Method*; ELSEIVIER: New York, 1977.
- (61) Anderson, T. F.; Prausnitz, J. M. Application of the UNIQUAC Equation to Calculation of Multicomponent Phase Equilibria. 1. Vapor-Liquid Equilibria. *Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development* **1978**, 17 (4), 552–561. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/i260068a028>.
- (62) Elewa, M.; El-Saady, G.; Ibrahim, K.; Tawfek, M.; Elhossieny, H. A Novel Method for Brix Measuring in Raw Sugar Solution. *Egyptian Sugar Journal* **2020**, 15 (0), 69–86. <https://doi.org/10.21608/ESUGJ.2020.209517>.
- (63) OHAUS. Instruction Manual MB90 ES 30303291 G.
<https://dmx.ohaus.com/WorkArea/showcontent.aspx?id=4294974534> (accessed 2024-02-21).
- (64) Harris, D. C.; Lucy, C. A. *Quantitative Chemical Analysis*, Nine.; W. H. Freeman and Company: New York, 2016.

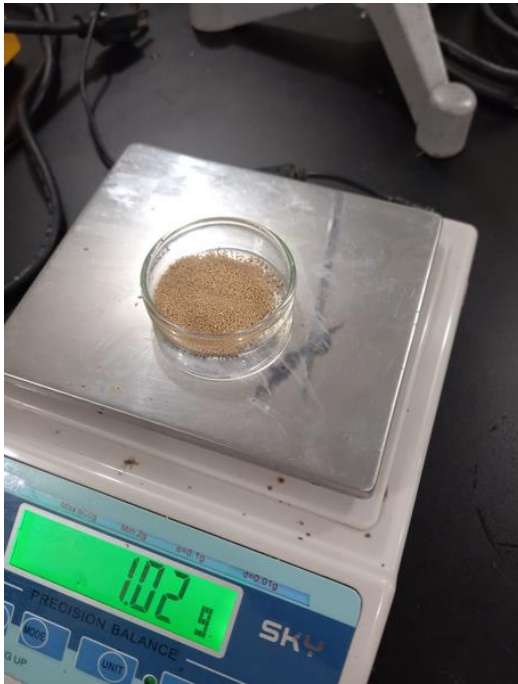
- (65) Montañez, L. J. B. Cuantificación de Azúcares Reductores Del Sustrato En Residuos de Piña Con El Método Del Ácido 3,5-Dinitrosalicílico. *Rev Invest (Guadalajara)* **2020**, 13 (1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>.
- (66) Bañuelos Vaquera, K. L.; García Tapia, A.; Hernández, A.; Padilla Guerrero, I. E.; Torres Guzmán, J. C. *OPTIMIZACIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE LEVADURAS CON INTERÉS BIOTECNOLÓGICO*. Jóvenes en la ciencia. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2608/pdf1> (accessed 2024-03-03).
- (67) Lamothe-abie. Sulfato de Amonio : Nutrientes Simples Para Sus Soluciones Enológicas | Lamothe-Abiet, 2021. <https://lamothe-abiet.com/es/nutrientes/sulfate-dammonium/> (accessed 2024-03-02).
- (68) Álvarez Carrera, F. A.; Salazar Monroy, M. V. Estudio Del Aprovechamiento de La Biomasa Generada En La Producción de Cacao “Theobroma Cacao” Para La Obtención de Bioetanol Por Fermentación Alcohólica. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química 2022. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/60143> (accessed 2024-02-22).
- (69) Villarroel-Bastidas, J.; Del, G.; Angulo-Ortega □, C.; Briones-Bitar, J.; Villarroel-Bastidas, J.; Del, G.; Angulo-Ortega, C.; Briones-Bitar, J. ". Reducing Sugars Degradation in Cocoa Mucilage to Produce Bioethanol. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia* **2023**, No. 108, 98–106. <https://doi.org/10.17533/UDEA.REDIN.20220992>.
- (70) Gonzalez, E. G.; Muñoz, A. F. O.; Rodríguez, C. M.; Narvaéz, G. A. O.; Hernández, L. L. Sucesión Microbiana Durante La Fermentación Espontánea de Cacao En Unidades Productivas. *Ciencia en Desarrollo* **2021**, 12 (2). <https://doi.org/10.19053/01217488.V12.N2.2021.12242>.
- (71) Martínez Benavides, G. K. Modelado y Simulación de Procesos Involucrados En La Producción de Bioetanol a Partir de Suero de Leche. **2022**.
- (72) Luyben, W. L. Distillation Design and Control Using Aspen Simulation. **2013**, 498.

ANEXOS

ANEXO A. Esterilización de jugo de mucílago de cacao



ANEXO B. Pesado y adición de la levadura



ANEXO C. Pesado y adición del sulfato de amonio



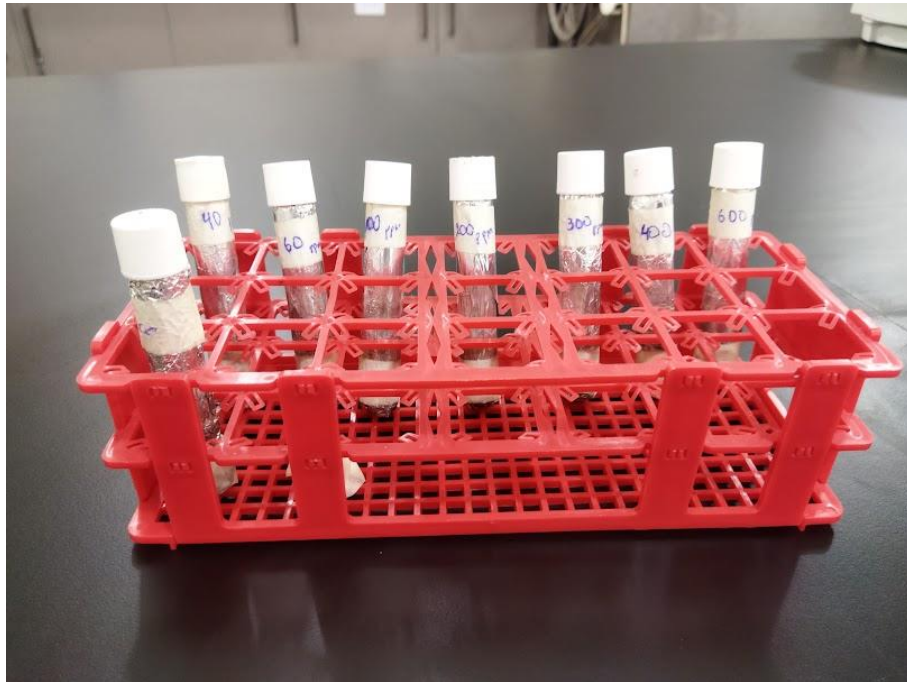
ANEXO D. Determinación de pH



ANEXO E. Determinación de °brix



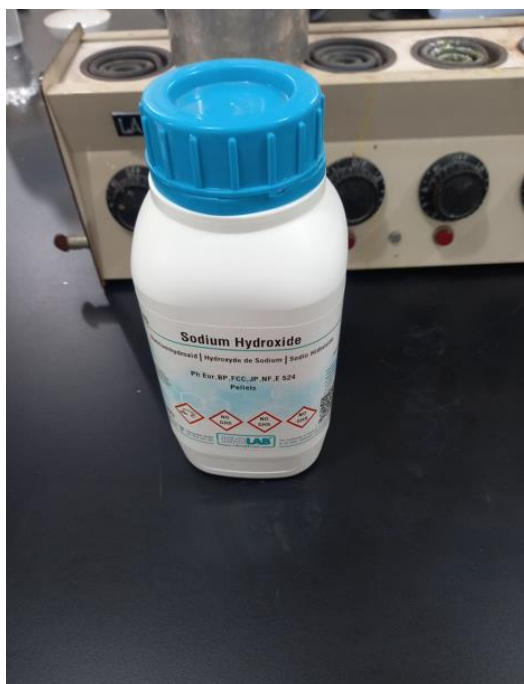
ANEXO F. Determinación de azúcares reductores




#	ID de muestra	Nombre del Usuario	Fecha y hora	540nm (Abs)
1	Muestra1	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.149
2	Muestra2	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.176
3	Muestra3	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.133
4	Muestra4	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.201
5	Muestra5	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.214
6	Muestra6	analisis organico	11/6/2018 17:04	0.199

Absorbancia	Muestra
0.21	Muestra6
0.20	Muestra5
0.20	Muestra4
0.19	Muestra3
0.18	Muestra2
0.17	Muestra1

ANEXO G. Determinación de acidez titulable



ANEXO H. Determinación de grado alcohólico



SEIDLABORATORY CIA. LTDA.
SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO

INFORME DE ENSAYO NR. 296959

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
Cliente:	ANGELO OMAR APOLO CHAMBA		
Dirección:	Lilian Maria sector 2/ 3ra avenida y 11ava este, Machala, El Oro		
Nombre Producto:	FERMENTADO DE MUCILAGO DE CACAO		
Fecha de Elaboración:	ND	Fecha de Caducidad:	ND
Lote:	ND	Contenido Declarado:	ND
Material Envase:	FRASCO AMBAR	Forma de conservación:	Ambiente


INFORMACIÓN DE LA MUESTRA			
Código Laboratorio:	296959-1	Contenido Encontrado:	1000.0 Litros
Fecha Recepción:	24/01/25	Fecha Inicio Ensayo:	24/01/25
Condiciones Ambientales de llegada de la muestra:	22.0 °C	Muestreo:	Es responsabilidad del cliente y, los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió

ENSAYOS FFQQ	MÉTODO	ACREDITACIONES AILA	SAE	UNIDAD	RESULTADO
GRADO ALCOHOLICO	SEIN-GA (INEN 340)	*	*	%	14.00

NS: No solicita el cliente/ ND: No declara.
 Los ensayos marcados con () NO están incluidos en el alcance de la acreditación"
 Datos tomados de GA-RG16 pág. 68
 Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote
 El laboratorio no se responsabiliza por la representabilidad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomado
 Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico
 "SEIDLABORATORY CIA LTDA no se responsabiliza por la información declarada por el cliente"
 - Tiempo de almacenamiento de informes: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

Atentamente,

Firmado digitalmente por:
ANA GABRIELA VALENCIA MURGUEYTO
Fecha y hora: 2024-02-07 16:34:10



Muestra 296959-1
Página 1 / 1

Confidencialidad e Imparcialidad
 Seidlaboratory Cia. Ltda., asume la responsabilidad legal sobre la gestión de la información obtenida o creada durante la realización de las actividades del laboratorio a partir de las muestras ensayadas. Información considerada como confidencial y de propiedad del cliente, con excepción de aquella información que el cliente haya puesto al alcance del público o información que se haya acordado previamente entre ambas partes. Seidlaboratory, se compromete a usar dicha información únicamente de la manera y para los propósitos acordados por las partes, en caso de controversias las partes se someterán al Centro de Mediación de la Cámara de Comercio de Quito.
 Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio
 Muestras perecibles: 8 días calendario. Muestras no perecibles: 30 días calendario. Si desea repetición de algún parámetro, se debe generar una solicitud en el periodo estipulado.
 Para consultas, quejas o sugerencias, favor comunicarse a los siguientes correos:
 Dirección de Calidad: directoriacalidad@seidlaboratory.com.ec; Gerencia General: gerenciageneral@seidlaboratory.com.ec; Servicio al Cliente: servicioalcliente@seidlaboratory.com.ec
 Melchor Topa Nº61-63 entre Av. del Maestro y Nacarath 022476314 - 022483145 - 00925450911 - 0992750653 Quito, Ecuador
 Clausula de confidencialidad
 La modificación parcial o total de la información contenida en el documento se encuentra prohibida, revisar las cláusulas aplicables, escaneando el código QR.

24/02/07
FECHA EMISIÓN

