



CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA
DE LOS DESECHOS AGRÍCOLAS DEL
CACAO Y CAFÉ DEL LITORAL
ECUATORIANO Y SU POTENCIAL
EMPLEO COMO BIOCOMBUSTIBLES

TESIS DOCTORAL

*Carlos Alejandro
Balladares Grazzo*



Las Palmas de Gran Canaria - España 2016



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

D. ANTONIO NIZARDO BENÍTEZ VEGA, EN CALIDAD DE SECRETRIO DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.

CERTIFICA

Que la Comisión de Doctores del Departamento de Ingeniería de Procesos, en su sesión de fecha de 23/11/2015, tomó el acuerdo de dar consentimiento para su tramitación, a la Tesis Doctoral Titulada, **“Caracterización físico – química de los lixiviados de cacao y café del litoral ecuatoriano, como potenciales fuentes de producción de bioetanol”**, presentada por el Doctorando, D. Carlos Alejandro Balladares Grazzo y dirigida por la Dra. Patricia Isabel Manzano Santana, el Dr. Sebastián Ovidio Pérez Báez y el Dr. Juan Emilio González González.

Y para que así conste a efecto de lo previsto en el Art. 6.2 del Reglamento para la elaboración, tribunal, defensa y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a los veintitrés días de noviembre de dos mil quince.



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA DE PROCESOS

Programa de Doctorado en
Ingeniería Ambiental y Desalinización

Título de la Tesis

**“CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA DE LOS LIXIVIADOS
DEL CACAO Y CAFÉ DEL LITORAL ECUATORIANO, COMO
POTENCIALES FUENTES DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL”**

Tesis Doctoral presentada por: D. Carlos Balladares Grazzo

Dirigida por los Doctores D.^a Patricia Manzano Santana
D. Sebastián Pérez Báez
D. Juan González González

El Director

El Director

El Director

El Doctorando

Las Palmas de Gran Canaria, a Noviembre de 2015

Caracterización físico - química de los lixiviados del cacao y café del litoral ecuatoriano, como potenciales fuentes de producción de bioetanol

Tesis Doctoral
Carlos Alejandro Balladares Grazzo

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Departamento de Ingeniería de Procesos

Dedicatorias

Con profunda devoción a Dios Todopoderoso, Gran Arquitecto del Universo, por todos los favores que de Él he recibido

Al Alma eterna de mi santa madre, Blanca Azucena, que con su infinito amor, dedicación y abnegación, cultivó en mí las mayores virtudes morales. A mi amado padre, Segundo Alejandro, por la nobleza de su espíritu y ejemplar hombría de bien.

Con profundo amor a mi abnegada esposa Azucena, por su inquebrantable voluntad y perseverancia, para no dejarme claudicar en este duro desafío.

Para mis amados hijos, Karla, Marcela, Carlos y Andrés, como un legado de esfuerzo y sacrificio a emular.

Con mucha alegría y profundo cariño, para mis adorables nietos, Lina, Mateo y Bianka, como un pequeño ejemplo de amor al estudio y a la investigación.

Agradecimientos

Mi imperecedera gratitud a la Dra. Patricia Manzano S. Directora y guía de esta investigación, por su brillante conducción académica y gran valentía al aceptar tan duro desafío.

A la Universidad Las Palmas de Gran Canaria, por haberme brindado la oportunidad de cursar el Programa de Doctorado.

A los Profesores Dres. Sebastián Ovidio Pérez Báez y Juan Emilio González, por su valiosa Dirección.

A mis queridos estudiantes, Katherine Flores, Jairo García, Edinson Suárez y Víctor Borbor, por su incommensurable aporte con sus talentos y nobles actitudes.

Al Centro de Investigaciones Biotecnológico, de ESPOL, a sus directivos y técnicos, por toda la ayuda que me brindaron en sus Laboratorios.

ABREVIATURAS

FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Agencia de Alimentos y Medicamentos Food and Drug Administration
OMS	Organización Mundial de la Salud
OMM	Organización Meteorológica Mundial
ANECAFE	Asociación Nacional de Exportadores de Café
COFENAC	Consejo Cafetalero Nacional
ANECACAO	Asociación Nacional de Exportadores de Cacao
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
MAGAP	Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
ANDES	Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Suramérica
MEER	Ministerio de Electricidad y Energías Renovables
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno

DQO	Demanda Química de Oxígeno
FDT	Fibra Dietaria Total
FDS	Fracciones Dietaria Soluble
FDI	Fracciones Dietaria Insoluble
BRAC	Biomasa Residual Agrícola
AAS	Espectrometría de Absorción Atómica

SIMBOLOGÍA

°C	Grados centígrados
Na	Sodio
CO₂	Dióxido de Carbono
K	Potasio
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
Fe	Hierro
mg	Miligramo
g	Gramo
Kg	Kilogramo
ml	Mililitros
L	Litros
pH	Potencial de Hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
H₂O	Agua
CaCl₂	Cloruro de Calcio
Ca(OH)₂	Hidróxido de Calcio
Al₂(SO₄)₃	Sulfato de Aluminio
lb	Libra
h	Hora
C₁₂H₂₂O₁₁	Sacarosa

C₁₂H₂₂O₁₁ Maltosa

C₁₂H₂₂O₁₁·H₂O Lactosa

C₆H₁₂O₆ Glucosa

C₆H₁₂O₆ Fructosa

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Alcaloides: compuesto químico que contiene nitrógeno de gusto amargo.

Biofertilizantes: organismos vivos que son usados en la agricultura como fertilizantes de las plantas. Su uso está muy extendido en la agricultura ecológica, al no poder utilizar en ellos fertilizantes sintéticos.

Biomasa: es la única energía renovable de la cual se pueden obtener combustibles líquidos de alta densidad energética para sustituir a combustibles fósiles en transporte terrestre, aéreo y marítimo.

Biopolímeros: son macromoléculas presentes en los seres vivos. Una definición de los mismo que considera materiales poliméricos o macromoleculares, sintetizados por los seres vivos.

Boyado: es previo al despulpado y consiste en sumergir los frutos de café en recipientes plásticos o estanques de cemento, para eliminar por flotación residuos de cosecha como hojas, tallos, materia extraña y frutos en mal estado.

CCN51: es un cacao clonado de origen ecuatoriano, reconocido por su alta producción.

Cromatografía: método de análisis que permite la separación de gases o líquidos de una mezcla por adsorción selectiva, produciendo mancha diferentemente coloreada en medio adsorbente; está basado en la diferente velocidad con la que se mueve cada fluido a través de una sustancia porosa.

Desmucilaginado: es el proceso por el cual se desprende la mucosidad que se encuentra entre el grano y la cereza de café, este proceso se ha realizado de manera química y artesanal, basada en la fermentación del grano después del despulpado.

Endocarpio: es la capa interior del fruto, aquella que rodea a las semillas.

Epicarpio: capa externa de las tres que forman el pericarpio de los frutos, como la piel del melocotón.

Estabilidad organoléptica: son todas aquellas descripciones de la características físicas que tiene la materia en general, según la pueden percibir los sentidos, por ejemplo su sabor, textura, olor y color.

Gases de efecto invernadero: componentes gaseosos de la atmosfera que permiten que la radiación solar, penetre hacia la superficie de la Tierra y que absorben la radiación infrarroja que emana, contribuyendo de esta manera al efecto invernadero.

Lípidos: conjunto de moléculas orgánicas compuestas principalmente por carbono e hidrogeno y en menor medida oxigeno, aunque también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno.

Mesocarpio: parte intermedia del pericarpio en los frutos carnosos.

Polifenoles: son compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. En los últimos años, se le han atribuido efectos beneficiosos frente al desarrollo de diversas enfermedades.

Polisacáridos: son moléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos. Se encuentran entre los glúcidos, y cumplen funciones diversas, sobre todo de reservas energéticas y estructurales.

INDICE GENERAL

	Pág.	
1.0	Introducción.	01
	CAPITULO 1.	09
1.1	Introducción.	11
1.2	Agricultura exportable de Ecuador.	12
1.3	Superficie, producción y variedades de cacao.	14
1.3.1	Cacao.	14
1.3.2	Café.	20
1.4	Cosecha del Caco y Café.	24
1.4.1	Cacao.	24
1.4.2	Café.	26
1.5	Métodos de Beneficio del Caco y Café.	28
1.5.1	Beneficio del Café.	28
1.5.1.1	Beneficio por vía seca.	29
1.5.1.2	Beneficio por vía húmeda.	30
1.5.1.3	Beneficio semihúmedo.	34
1.5.1.4	Beneficio ecológico.	35
1.5.1.5	Beneficio húmedo enzimático.	35
1.5.2	Beneficio del Cacao.	36
1.6	Residuos del beneficio del cacao y café.	35
1.6.1	Características principales de los Residuos de los residuos del Beneficio del Cacao.	38
1.6.2	Características principales de los Residuos del Beneficio del Café.	41
	CAPITULO 2.	45
2.1	Biocombustibles de segunda generación.	48
2.2	Antecedentes de investigaciones.	52
2.3	Métodos de análisis avanzados.	65
2.3.1	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de masa GC-MS	66
2.3.2	Cromatografía líquida de alta resolución HPLC	67
2.3.3	Espectrometría de Absorción atómica AAS	67
2.4	Planteamiento del problema.	68
2.5	Justificación de la investigación	73
2.6	Hipótesis.	79
2.7	Objetivos.	79
2.7.1	Objetivo General.	79
2.7.2	Objetivo Específico.	79
	CAPITULO 3	81
3.1	Metodología de la investigación.	85

Índice General

3.2	Recolección y selección del material vegetal.	85
3.3	Evaluación macromorfológica de los frutos de Café y mazorca de Cacao.	89
3.4	Obtención de lixiviados de Café y Cacao.	93
3.4.1	Obtención de lixiviados de Cacao.	93
3.4.2	Obtención de lixiviados de Café.	93
3.5	Análisis físico-químicos.	94
3.5.1	Tamizaje fitoquímico.	97
3.6	Preparación y deshidratación de las muestras.	100
3.7	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas.	101
3.7.1	Silanización de muestras deshidratadas.	101
3.7.2	Análisis cromatográfico.	102
3.8	Absorción atómica.	103
3.8.1	Digestión de la muestra.	103
3.8.2	Lectura en el Espectrofotómetro de la Absorción Atómica.	104
3.9	Esquema metodológico	104
	CAPITULO 4	107
4.1	Introducción	109
4.2	Caracterización macromorfológica de los frutos del café y cacao y sus lixiviados.	109
4.3	Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico.	124
4.4	Contenido de azúcares totales, azúcares reductores y perfil de azúcares.	127
4.5	Identificación de compuestos por CG-EM de los lixiviados de Theobroma cacao L., y Coffea canephora L.	129
4.6	Cuantificación de microelementos por Espectroscopia de Absorción Atómica y otras especies presentes en los lixiviados de Theobroma cacao L., y Coffea canephora L.	144
	CAPITULO 5	147
5.1	Conclusiones	149
	BIBLIOGRAFÍA	153

INDICE DE GRÁFICOS

		Pág.
Gráfico 1.1	Superficie plantada según cultivos permanentes	13
Gráfico 1.2	Volúmenes de exportación de cacao (2011 – 2014)	19
Gráfico 1.3	Porcentaje de producción de grano de cacao fino de aroma a nivel mundial.	19
Gráfico 1.4	Porcentaje de área cultivada por provincia del total nacional.	20
Gráfico 1.5	Esquema del proceso de beneficio por vía seca: Café natural de alta calidad	29
Gráfico 1.6	Esquema del proceso de beneficio por vía seca: Café natural corriente.	30
Gráfico 1.7	Esquema de los métodos de beneficio para preparar cafés lavados	31
Gráfico 4.1	Composición porcentual del fruto de <i>Coffea canephora</i> L.	111
Gráfico 4.2	Evaluación del número necesario de componentes principales	114
Gráfico 4.3	Composición porcentual del fruto de <i>Theobroma cacao</i> L	117
Gráfico 4.4	Composición de la almendra húmeda de <i>Theobroma cacao</i> L, antes de la fermentación.	118
Gráfica 4.5	Rendimiento de lixiviado de <i>Theobroma cacao</i> L., no asociado a la fermentación.	119
Gráfico 4.6	Gráfica de cargas de componentes principales	123

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.1	Zona tropical, cultivo cacao	15
Figura 1.2	Zonas cacaoteras de Ecuador	17
Figura 1.3	Planta de cacao fino de aroma	18
Figura 1.4	Planta de cacao CCN-51	19
Figura 1.5	Planta de café arábigo	21
Figura 1.6	Planta de café robusta	22
Figura 1.7	Zonas cafeteras de Ecuador	23
Figura 2.1	Procesos de aprovechamiento de la biomasa	49
Figura 2.2	Consumo de biocombustibles,	50
Figura 3.1	Partes medidas, pesadas y observadas en las mazorcas de cacao	90
Figura 3.2	Partes del fruto y del grano de un cafeto	91
Figura 3.3	Esquema de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólicos	98
Figura 3.4	Esquema de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólicos	99
Figura 3.5	Esquema Metodológico	105
Figura 4.1	Cromatograma del lixiviado de Theobroma cacao L	130
Figura 4.2	Cromatograma de los lixiviados de Coffea canephora L	132
Figura 4.3	Espectro de masas de D-(-)-Ribofuranose	136
Figura 4.4	Espectro de masas de Arabinose	137
Figura 4.5	Espectro de masas de D-lyxose	137
Figura 4.6	Espectro de masas de d-(+)-Xylose	137
Figura 4.7	Espectro de masas de Glucaric acid	138
Figura 4.8	Espectro de masas de D-(+)-Galacturonic acid	138
Figura 4.9	Espectro de masas de D-(+)-Cellobiose	138
Figura 4.10	Espectro de masas de d-(-)-Fructose	139
Figura 4.11	Espectro de masas de d-(-)-Fructose	139
Figura 4.12	Espectro de masas de Melibiose	140
Figura 4.13	Espectro de masas de MALTOSE	140
Figura 4.14	Espectro de masas de .beta.-Gentiobiose	140
Figura 4.15	Espectro de masas de .alpha.-D-Glucopyranoside	141
Figura 4.16	Espectro de masas de Sucrose	141
Figura 4.17	Espectro de masas de ERYTHRITOL	142
Figura 4.18	Espectro de masas de Glucitol	142

Índice de Figura

Figura 4.19	Espectro de masas de MYO-INOSITOL	143
Figura 4.20	Espectro de masas de Xylitol	143
Figura 4.21	Espectro de masas de MYO-INOSITOL	144

INDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.1	Situación caficultora del país a Diciembre de 2012.	23
Tabla 1.2	Métodos de beneficio post cosecha y calidad del café.	28
Tabla 1.3	Composición proximal de algunas propiedades físicas de los residuos del cacao.	39
Tabla 1.4	Análisis Químico de la cáscara del café	39
Tabla 1.5	Contenido de K, Ca y Mg de las cáscaras de Cacao Nacional y CCN-51.	40
Tabla 1.6	Composición proximal de la cascarilla de cacao	40
Tabla 1.7	Residuos obtenidos en el proceso de beneficio e Industrialización	42
Tabla 1.8	Bioetanol obtenido por cada millón de sacos de café verde	43
Tabla 2.1	Composición química de la pulpa de café	70
Tabla 3.1	Ubicación geográfica	85
Tabla 3.2	Mediciones tomadas a la mazorca de cacao y cerezas de café	91
Tabla 3.3	Análisis químicos y biológico realizados a los lixiviados de café y cacao	95
Tabla 3.4	Análisis físicos realizados a los lixiviados de café y cacao	96
Tabla 3.5	Grupos químicos evaluados en los lixiviados de café y Cacao	97
Tabla 3.6	Condiciones de trabajo del GC-MS	103
Tabla 3.7	Modelo de Lámpara	104
Tabla 4.1	Características físicas del fruto de <i>Coffea canephora</i> L.	109
Tabla 4.2	Composición en peso de <i>Coffea canephora</i> L.	110
Tabla 4.3	Rendimiento de lixiviado de <i>Coffea canephora</i> L. Características físicas de la mazorca de	111
Tabla 4.4	<i>Theobroma cacao</i>	112
Tabla 4.5	Composición promedio del fruto de <i>Theobroma cacao</i> L	113
Tabla 4.6	Vectores propios de los rasgos morfológicos	116
Tabla 4.7	Rendimiento de lixiviado de <i>Theobroma cacao</i> L.,	118

Índice de Tablas

	no asociado a la fermentación.	
Tabla 4.8	Características físicas de los lixiviados de <i>Theobroma cacao L.</i> , y <i>Coffea arábica L.</i>	120
Tabla 4.9	Características físicas de los lixiviados de <i>Theobroma cacao</i> y <i>Coffea canerophora L.</i>	122
Tabla 4.10	Compuestos Fitoquímicos del lixiviado de <i>Theobroma cacao L.</i>	125
Tabla 4.11	Características Fitoquímicas del lixiviado de <i>Coffea canephora L.</i>	126
Tabla 4.12	Azúcares reductores y totales en muestras de <i>Theobroma caco L.</i> , y <i>Coffea arabica L.</i>	128
Tabla 4.13	Perfil de azúcares del <i>Theobroma cacao L.</i>	130
Tabla 4.14	Compuestos identificados en los lixiviados de <i>Theobroma cacao L.</i>	131
Tabla 4.15	Compuestos identificados en los lixiviados de <i>Coffea canephora L.</i>	133
Tabla 4.16	Azúcares identificados en los lixiviados de <i>Coffea canephora L.</i>	136
Tabla 4.17	Azúcares identificados en los lixiviados de <i>Theobroma cacao L.</i>	139
Tabla 4.18	Polialcoholes identificados en los lixiviados de <i>Coffea canephora L.</i>	142
Tabla 4.19	Polialcoholes identificados en los lixiviados de <i>Theobroma cacao L.</i>	143
Tabla 4.20	Microelementos presentes en los lixiviados <i>Theobroma caco L.</i> , y <i>Coffea arabica L.</i> , identificados por AAS.	145
Tabla 4.21	Microelementos presentes en los lixiviados <i>Theobroma caco L.</i> , y <i>Coffea arabica L.</i>	145
Tabla 4.22	Análisis químico de lixiviado de <i>Coffea canephora L.</i>	146

Introducción

La producción de energía a partir de combustibles fósiles, cada vez de mejor calidad y en grandes cantidades para satisfacer la incesante demanda mundial, ha originado un acelerado calentamiento global, como consecuencia de las altísimas emisiones de gases de efecto invernadero de larga duración que genera su combustión (Astor, y otros, 2013).

Como resultado de ello, las concentraciones de CO₂, CH₄ y N₂O en la atmósfera se han incrementado considerable y peligrosamente desde la época preindustrial (Astor, y otros, 2013).

La Organización Meteorológica Mundial (OMM) en el marco del programa de Vigilancia de la Atmósfera Global VAG), en su Boletín No. 10 de septiembre 9 de 2014 sobre gases de efecto invernadero, señala que al 2013 las fracciones molares de dichos gases alcanzaron los valores de: 396,0 ppm ± 0,1 ppm, 1824 ± 2 ppb y 325,9 ± 0,1 ppb, que representan respectivamente el 142 %, 253 % y 121 %, de los valores de la época preindustrial (antes de 1750) (Astor, y otros, 2013).

Del total de CO₂ emitido a la atmósfera, aproximadamente el 50% tardará 30 años en desaparecer, un 30% permanecerá varios siglos y el 20% restante durará varios miles de años (Twewrgy, 2012).

El alarmante escenario actual y peligroso futuro inmediato de todos los ecosistemas del planeta, nos obliga a plantearnos urgentes y eficaces planes de reestructuración energética global, que cambie significativamente los patrones actuales de generación y consumo de

energía y que promueva el desarrollo sostenible sobre bases de equidad y justicia social (Lescaroux, 2011).

En este marco, la generación de fuentes de energía amigables con la naturaleza está tomando una gran responsabilidad mundial y los países dirigen sus investigaciones y desarrollo tecnológico, en la búsqueda de energías a partir de recursos renovables (Twewrgy, 2012).

El casi perfecto ciclo natural de los recursos renovables, da origen a la biomasa y en particular a la biomasa lignocelulósica, que se revela como una prometedora fuente de energía renovable y generación de químicos (Astor, y otros, 2013).

Está demostrado que la biomasa mediante procesos físicos, químicos y biológicos, junto con el empleo de bacterias naturales o modificadas, permiten fermentar los azúcares que contienen y convertirlos en alcoholes. La biomasa, es la única energía renovable de la cual se pueden obtener combustibles líquidos de alta densidad energética para sustituir a combustibles fósiles en transporte terrestre, aéreo y marítimo (Lescaroux, 2011).

De los principales componentes de la biomasa, la celulosa es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza y su biosíntesis química y estructura, aún permanecen activos como campo de investigación. En las últimas décadas ha habido un creciente interés por desarrollar proyectos sostenibles basados en la química verde, lo que ha conducido a la generación de materiales y compuestos celulósicos novedosos (Gradwell, 2004).

En la actualidad los biocombustibles han recibido una principal atención mundial, debido a su potencial uso como complemento y/o sustitutos de los combustibles de fuentes fósiles (Leyva & Gonzaga, 2011).

Los volúmenes promedio de producción de cacao y café en el 2014 en Ecuador fueron de; 230.000 toneladas métricas de cacao (ANDES, 2014) y para el café, la Asociación Nacional de Exportadores de Café, (ANECAFÉ) reporta que el país exportó 1.131.190,84 sacos de 60kg (67.871 TM) de café. (ANECAFE, 2014). Según Duicela, (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015) en promedio, solo el 10% del cacao y el 20% del café se aprovechan como producto final. Es decir, el 90% de la cosecha del cacao y el 80 % de la cosecha del café en base seca, constituyen residuos agrícolas y agroindustriales, que tienen un mínimo aprovechamiento en nuestro país.

Los desechos agrícolas en el 2014, de estos dos productos tradicionales de Ecuador están en el orden de: 180.000 Tm de desechos de cacao y 54.297 Tm de desechos del café.

De esas considerables cantidades de desechos, los lixiviados constituyen para el caso del cacao, entre el 40 % al 50 % del peso del grano seco y para el café, del 15,5 % al 22,0 % del peso del fruto (Puerta & Ríos, 2011). Esta realidad nos motivó a realizar la presente investigación, con el propósito de encontrar en los lixiviados principalmente, fuentes de energías renovables que, a más de darle un valor agregado a los desechos, contribuyan notablemente a mitigar el impacto ambiental.

La investigación muestra que los azúcares presentes en los lixiviados obtenidos de los desechos agrícolas y agroindustriales del cacao y café, constituyen una interesante fuente de materia prima para la fabricación de bioetanol de segunda generación que, puede ser empleado como combustible amigable con la naturaleza (Leyva & Gonzaga, 2011).

El bioetanol obtenido, puede reemplazar en los volúmenes correspondientes, al alcohol de primera generación proveniente de la

caña de azúcar, que hoy estamos usando para mezclar con naftas importadas para fabricar un combustible de 87 octanos, obteniendo con ello una disminución apreciable de CO₂, así como un considerable ahorro de divisas en la importación de naftas que no producimos. Las políticas del gobierno en esta área, están basadas expresamente en artículo 413 de la Constitución de la República. (*Registro Oficial* No. 449 de 20 de octubre de 2008).

“El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua.”

Este principio de soberanía energética del país, sumado a la limitada investigación científica y escaso desarrollo de proyectos de inversión para el aprovechamiento de la biomasa, fue la motivación para realizar una detallada caracterización de las propiedades físico – químicas de los lixiviados agrícolas del cacao y café principalmente, dos de nuestros productos emblemáticos del agro, y comprobar la potencialidad de su biomasa, como fuentes de energía limpia (Rodríguez V., 2011).

El lixiviado del cacao se obtendrá de la etapa de fermentación, mientras que de la etapa de lavado se obtendrá el lixiviado del café.

Esta investigación logra su objetivo central, cuando determina cualitativa y cuantitativamente las características físico-químicas de los lixiviados, del cacao y café, que pueden por fermentación asistida, convertirse en bioetanol.

La detallada caracterización de las propiedades físico-químicas y biológicas de los residuos agrícolas y agroindustriales del cacao y café del litoral ecuatoriano, obtenidas en el presente trabajo, se

constituirá en el marco referencial para futuras acciones en proyectos de aprovechamiento de éstas biomasas, como potenciales fuentes alternativas de energía renovable para el país, a más de reducir el impacto ambiental (contaminación de suelos y cuerpos hídricos) que ocasionan esos desechos en su deposición final, principalmente los provenientes del café. El proceso para obtención del fruto del café, se realiza con grandes consumos de agua durante el llamado *“beneficio húmedo del café”*, que se vierten como desechos, contaminando suelos y por infiltración los cuerpos hídricos cercanos, lo que origina serios problemas en el entorno (Boada, 2002).

Adicionalmente, el desarrollo de proyectos socio económicos que pueden implantarse alrededor de ellos, favorecerá sustancialmente al mejoramiento de las comunidades afincadas en el agro, habida cuenta que el estado garantiza la compra del alcohol que actualmente se produce, para mezclarlo con naftas y producir la gasolina Ecopaís (EP Petroecuador: Gasolina Ecopaís, 2014).

El presente trabajo está estructurado para ir describiendo de manera ordenada los objetivos y logros de la investigación, a saber:

El primer capítulo muestra la situación actual del sector café y cacao en Ecuador, indicando los volúmenes de producción, variedades de cacao y café en el país, climas, recursos hídricos, industrialización y generación de desechos.

El segundo capítulo nos define el marco referencial o teórico de la investigación, señalando estudios similares en nuestro país y en el mundo sobre el tema, plantea la justificación del mismo y establece los objetivos específicos a lograr.

El tercer capítulo demuestra en forma organizada, clara y precisa, la manera en que se alcanzarán cada uno de los objetivos

específicos propuestos. Contendrá el tipo de investigación, técnicas empleadas y protocolos de análisis.

El cuarto capítulo tabula, realiza análisis estadísticos, analiza y discute esos resultados, en base al orden de los objetivos planteados en la investigación y los contrasta con las teorías empleadas.

El capítulo cinco, describirá los logros obtenidos en la investigación y formulará conclusiones partiendo de las ideas iniciales del estudio y destacará la parte relevante que haya surgido.

CAPÍTULO 1

VISIÓN GENERAL DEL SECTOR CACAO Y CAFÉ EN ECUADOR

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

CAPÍTULO 1

VISIÓN GENERAL DEL SECTOR CACAO Y CAFÉ EN ECUADOR

- 1.1 Introducción
- 1.2 Agricultura exportable de Ecuador
- 1.3 Superficie, producción y variedades de cacao y café cultivadas en Ecuador
 - 1.3.1 Cacao
 - 1.3.2 Café
- 1.4 Cosecha del Cacao y Café
 - 1.4.1 Cacao
 - 1.4.2 Café
- 1.5 Métodos de Beneficio del Cacao y Café
 - 1.5.1 Beneficio del Café
 - 1.5.1.1 Beneficio por vía seca
 - 1.5.1.2 Beneficio por vía húmeda
 - 1.5.1.3 Beneficio semihúmedo
 - 1.5.1.4 Beneficio ecológico
 - 1.5.1.5 Beneficio húmedo enzimático
 - 1.5.2 Beneficio del Cacao
- 1.6 Residuos del Beneficio del Cacao y Café
 - 1.6.1 Características principales de los Residuos del Beneficio del cacao
 - 1.6.2 Características principales de los Residuos del Beneficio del Café

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

1.1. Introducción

La República del Ecuador está situada en la costa noroccidental de América del Sur, ubicada entre los paralelos 01°30' N y 03°23.5' S y los meridianos 75°12' W y 81°00' W (INOCAR, 2012), ocupa una extensión territorial de 256.370 Km² incluida la Región Insular de Galápagos (8.010 Km²) y tiene una población estimada de 14,4 millones de habitantes. Limita al norte con Colombia, al sur y al este con Perú y al oeste con el Océano Pacífico. La división política de la Nación está conformada por 24 Provincias (Mapas, 2014).

A pesar de su pequeño territorio, el país cuenta con tres regiones continentales bien definidas y una insular integrada por el Archipiélago de las Galápagos, que lo hacen único en el mundo por la confluencia de climas y sistemas hidrográficos que, dan origen a una gran diversidad de flora y fauna en cada una de ellas.

La Región Central la constituye el macizo volcánico de los Andes con sus altos nevados, desde cuyas cúspides se originan dos grandes vertientes; la occidental del Pacífico, formada por 72 Cuencas hidrográficas en un área de 124.563,86 Km² y la oriental o de la Amazonía, con 7 Cuencas y una extensión de 131.806,17 Km². Estas dos vertientes generan en condiciones de régimen natural, una disponibilidad promedio de 20.700 m³ /hab-año de agua superficial (SENAGUA, 2009).

Su vasto recurso hídrico sumado a la bondad de los climas de sus regiones, hacen de Ecuador un país privilegiado en recursos naturales (ANDES, País más mega diverso del mundo, 2010).

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

La Región Litoral o Costa está formada por tres ecosistemas principales: los bosques lluviosos tropicales del norte; las sabanas tropicales del centro y del suroeste; y el bosque seco de la franja peninsular occidental y meridional. Sus costas son influenciadas por la corriente cálida del Niño y la fría de Humboldt, que inciden en los climas de la Región y del país (Moya, 2006).

La Región Oriental o Amazónica, comprende los territorios de las estribaciones orientales de la cordillera de los Andes y es poseedora de una riqueza en biodiversidad única en el mundo, por su clima y grandes humedales. En sus territorios se asientan algunas etnias ancestrales no contactadas (Cabodevilla, 1994).

Las características geográficas de Ecuador y su privilegiada ubicación en el planeta, sitúan a nuestro país entre las 17 naciones de mega diversidad, por albergar en sus territorios el 70% de las especies animales y plantas conocidas del mundo (Biocomercioandino, 2014). Si consideramos que en su reducida extensión territorial (256.370 Km²) que representa apenas el 0.17% de la superficie terrestre, posee más del 11% de todos vertebrados terrestres; 2.794 especies, de las cuales 436 son endémicas, Ecuador está reconocido como el país con mayor biodiversidad de vertebrados terrestres del mundo (Biocomercioandino, 2014).

1.2. Agricultura exportable de Ecuador

Las grandes cuencas y sub cuencas hidrográficas, junto a los variados climas y latitudes del territorio ecuatoriano, contribuyen a que en sus fértiles suelos se desarrolle una variada y sostenida agricultura, que abastece la demanda nacional y produce considerables excedentes de exportación, generadores de divisas para el país.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

Desde la fundación de la República de Ecuador (1830), la agricultura ha sido su principal motor económico por la generación de empleo y divisas de sus productos exportables. De las tres Regiones del país, sin lugar a dudas que la Litoral o Costa, es la que genera los mayores volúmenes de producción. Según información del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) en el 2013, el país contaba con 7,32 millones de hectáreas para labores agrícolas en cultivos permanentes, transitorios, pastos naturales y cultivados; de las cuales 1'469.363 hectáreas se destinan a la producción de cultivos permanentes y un millón a transitorios (INEC, 2013).

Esta misma fuente informa que los principales productos de exportación no petroleros del país, provienen del campo como el banano, cacao, flores, café, plátano, mango, entre otros que el 2014 representaron el 17,14% de todas las exportaciones.

Según datos reportados por AEBE (2014), sólo en banano se exportaron 5,45 millones de toneladas métricas (TM), que generaron divisas por un monto superior a 2.340 millones de USD, le siguen en volúmenes de exportación el cacao, flores, café y palma africana. Del total de plantaciones de cultivos permanentes el 65,07% corresponden a Cacao, Palma Africana y Banano (Salazar, 2013) (Gráfico 1.1).

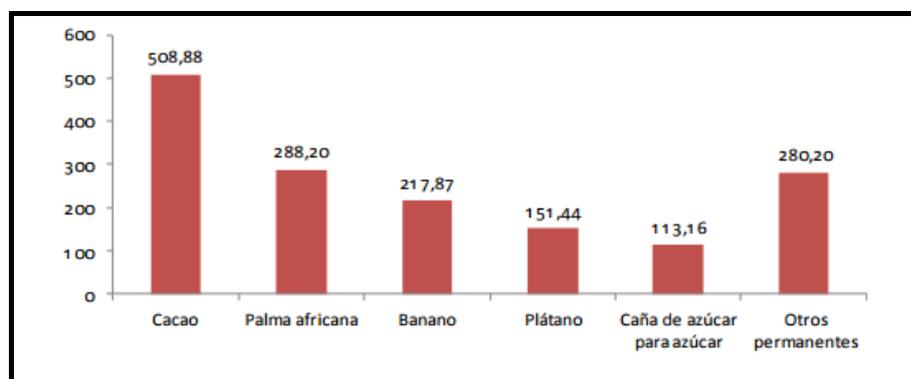


Gráfico 1.1. Superficie plantada según cultivos permanentes (miles de ha)
Fuente: Salazar, et al. (2013). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) 2013. INEC.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

La Región Litoral o Costa (Provincias de Esmeraldas, Manabí, Los Ríos, Guayas, Santa Elena y El Oro), poseen aproximadamente 4 millones de hectáreas destinadas a cultivos. De esta extensión, el 21.39 % se utiliza para cultivos de ciclo corto: maíz, yuca, algodón, frutas tropicales, 26.99 % para cultivos permanentes y la diferencia para pastos (Salazar, 2013).

En este contexto, la agricultura está considerada como una de las principales fuentes de empleo en el país, tal es así que, en el 2013 representó el 25% de la Población Económicamente Activa (PEA), con más de 1,6 millones de personas laborando en el agro ecuatoriano; y que, su contribución al Producto Interno Bruto (PIB) nacional fue de 0,43 % y el crecimiento total del PIB del país en el 2013 fue de 4.5 % (BCE, 2013).

El desarrollo sostenido de sus originales productos y la siembra de nuevas especies y variedades que se adaptaron en sus fértiles suelos, han permitido emprender grandes e importantes negocios agro industriales en su cadena productiva, consolidando al sector como uno de los más dinámicos del país (BCE, Estadísticas de comercio exterior, 2014).

1.3. Superficie, producción y variedades de cacao y Café, cultivadas en Ecuador

1.3.1. Cacao

El árbol del cacao o cacaotero, cuyo nombre científico es el *Theobroma cacao* L (alimento de los dioses), pertenece a la familia esterculiáceas. Es una planta originaria de América, de las tierras bajas de Centro y Suramérica, las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas y de las zonas húmedas y sombreadas. Crece en una

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

banda geográfica que no supera los 20° de latitud norte y sur de la línea equinoccial (UNGTAD, 2012) (Figura 1.1).

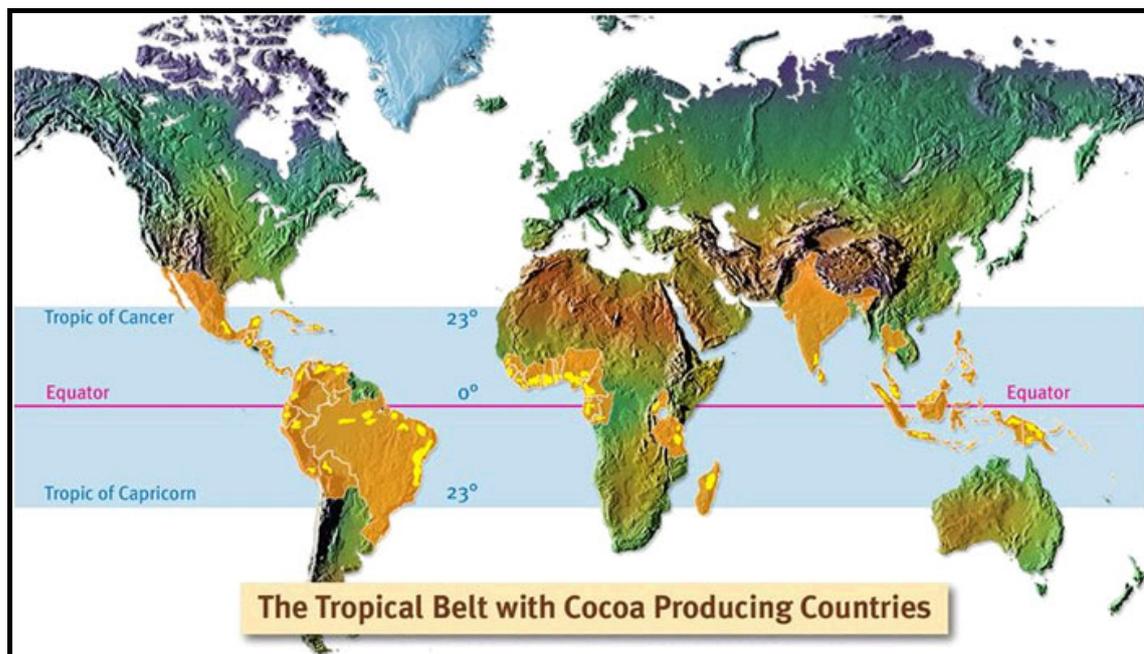


Figura 1.1. Zona tropical, cultivo cacao
Fuente: (c-spot, 2002)

En estado silvestre el cacaotero puede llegar a medir entre cinco y diez metros de altura y su desarrollo depende de la variedad y condiciones de cultivo, aunque los árboles cultivados son más pequeños y no suelen sobrepasar los 2 o 3 metros de altura para facilitar su recolección (Winkel, 2013).

El árbol comienza a dar frutos a los 4 o 5 años de cultivo y mantiene su producción durante muchas décadas. En promedio sus frutos que son mazorcas o bayas alargadas, puede medir entre 10 a 30 centímetros de longitud, mientras que su ancho puede llegar a medir entre 8 a 10 centímetros. Las mazorcas contienen de 20 a 40 almendras, de donde se obtienen todos los productos derivados de la planta (Enríquez, 1989).

Las variedades más tradicionales de la planta son el criollo, forastero y Trinitario. El nombre criollo lo dieron los españoles al cacao que se producía en la colonia de Venezuela y que por su

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

calidad se exportaba a Europa. El cacao criollo es una de las variedades con una alta calidad en su semilla, posee un olor característico, delicado y dulce. Sin embargo es una de las variedades de rendimiento relativamente bajo, ya que alcanza una producción media de 6 quintales por hectárea (Carrión, 2012).

El forastero llamado también amazónico constituye el 80 % de la producción mundial y se cultiva en Brasil, África Occidental y Este de Asia, es conocido como cacao al granel o común. Esta variedad, además de la corteza lisa, su principal característica es la coloración de sus mazorcas que, en etapa inicial va de verde a amarilla, además, es resistente pero muy poco aromática (Plúa, 2008).

Otra variedad de cacao, lo constituye el llamado Trinitario, toma su nombre de Trinidad, donde fue desarrollado y probablemente es un cruce entre el criollo y el forastero. Dentro de este grupo existe las variedades: Común en Brasil, Amelonado de África Occidental, Costa Rica y México y el Arriba o Cacao Nacional de Ecuador, que es la variedad reconocida como "fino de aroma" (PACARI, 2015).

El cacao en Ecuador

Los sembríos de cacao en el Ecuador se encuentran ubicados principalmente en 4 zonas: (Carrión, 2012).

- 1) La zona de la cuenca baja del río Guayas, básicamente las actuales provincias de Los Ríos y Guayas;
- 2) La zona húmeda de la provincia de Manabí;
- 3) La zona de Naranjal hacia el sur que, comprende una pequeña parte de la provincia del Guayas y la provincia de El Oro;
- 4) La zona de Esmeraldas y Sucumbíos

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

En el 2013 en el país estaban registradas un total de 525.00 Ha sembradas de cacao y 400.000 Ha cosechadas, con un rendimiento promedio de 0,53 TM por hectárea. (MAGAP, 2013). En la Figura 1.2, se muestran las zonas cacaoteras del Ecuador.



Figura 1.2. Zonas cacaoteras de Ecuador

Fuente: www.sica.gov.ec/cadenas/cacao/docs/maoa.htm

En nuestro país existe un tipo de especial de cacao único en el mundo, conocido con el nombre de "Nacional o fino de aroma", cuya mazorca tiene el característico color amarillo y es apetecido mundialmente para la producción del exquisito chocolate gourmet (Figura 1.3), y que en el 2011, el cacao ecuatoriano fue premiado como el "mejor cacao por su calidad floral" y el "mejor grano de cacao por región geográfica" en el Salón del Chocolate en París, Francia (MCEP, 2014).



Figura 1.3. Planta de cacao fino de aroma

Fuente: Instituto Nacional de investigaciones Agropecuarias. INIAP – Ecuador

En Ecuador también se produce la variedad CCN-51 (Figura 1.4) conocida como Colección Castro Naranjal. Esta variedad cuyo color característico es el rojo, fue desarrollada por el científico ecuatoriano, Homero Castro Zurita en 1965. (UNIVERSO, 2005).

Esta variedad es reconocida por su alto rendimiento (40 a 50 quintales por hectárea – año) para la extracción de semielaborados, ingredientes esenciales para la producción a escala de chocolates y otros. Además, es moderadamente resistente a enfermedades (monilla y escoba de la bruja) (El cacaotero. Portal informativo, 2013).



Figura 1.4. Planta de cacao CCN-51

Fuente: Instituto Nacional de investigaciones Agropecuarias. INIAP – Ecuador

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

ANECACAO informa que, las exportaciones de cacao en el 2014 superaron las 235 mil toneladas métricas, por un monto total de 700 millones de USD (Gráfico 1.2). De ese total, el 85 % es cacao en grano, 14,2 % semielaborados y menos del 1 % chocolates.

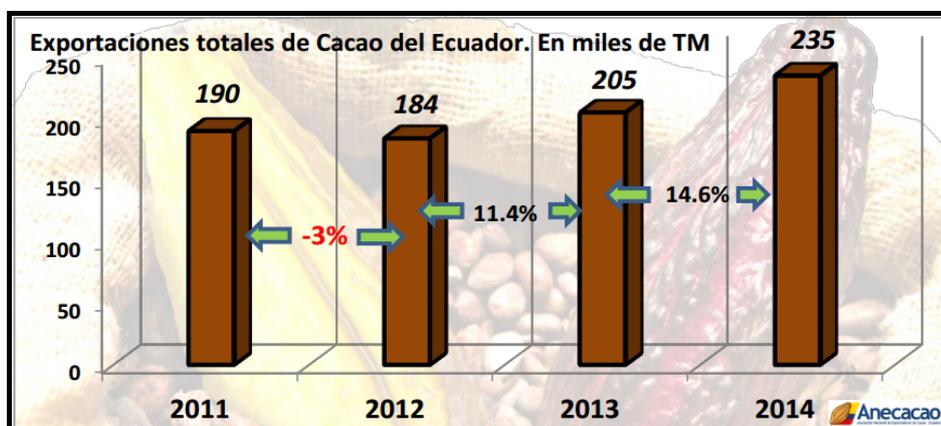


Gráfico 1.2. Volúmenes de exportación de cacao (2011 – 2014)

Fuente: Asociación Nacional de Exportadores de cacao. ANECACAO

Por datos estadísticos se observa que el Ecuador es el principal exportador mundial de la variedad ``Nacional``, conocida internacionalmente como ``Cacao fino de aroma`` o ``Cacao Arriba`` con más del 60% del mercado total (Gráfico 1.3) y la provincia de Los Rios como la zona de más alta producción de esta variedad (Gráfico 1.4).

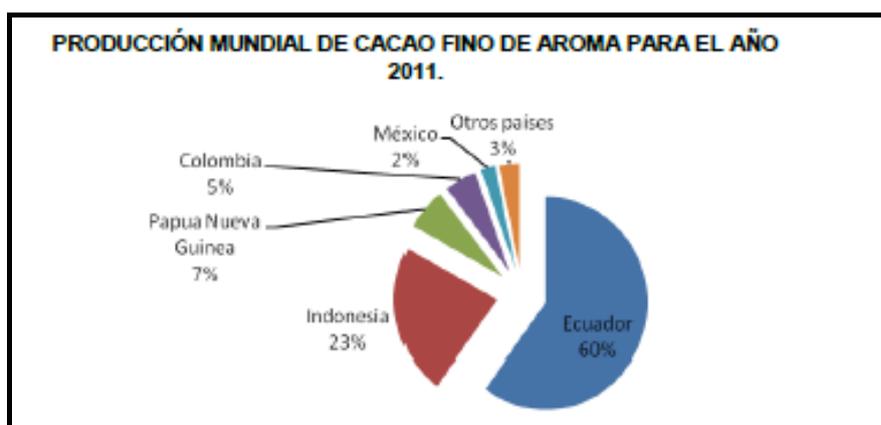


Gráfico 1.3. Porcentaje de producción de grano de cacao fino de aroma a nivel mundial.

Fuente: Sánchez J. (2013). Evaluación energética de la cascara de cacao nacional ccn51. Universidad de Cuenca.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

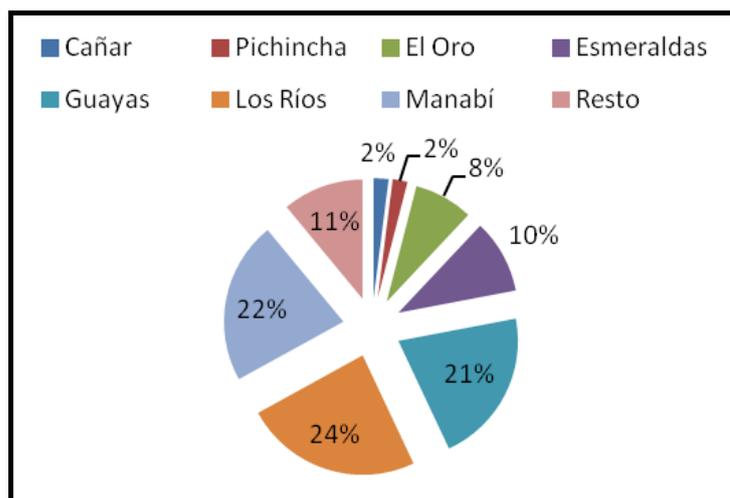


Grafico 1.4. Porcentaje de área cultivada por provincia del total nacional.
Fuente: Sánchez J. (2013). Evaluación energética de la cascara de cacao CCN-51.

1.3.2. Café

El café (*Coffea*) es el género más importante de la familia de las rubiáceas y está formado por numerosas especies. Solo dos son las especies de importancia económica: *Coffea arábica* L. conocida como café arábica (65% de la producción mundial), y *Coffea canephora* P., llamada café robusta (33% de la producción mundial) (COFENAC, 2010). El término café se emplea para el fruto y/o granos provenientes de las plantas del género *Coffea*, así como para los productos del procesamiento del grano destinados al consumo humano (INEN, 2006).

Las condiciones climáticas y los diferentes ecosistemas, permiten que el Ecuador sea uno de pocos países en el mundo que producen y exportan los 3 tipos de café en grano; arábigo lavado, robusta y arábigo natural, el cual se cultiva en todas las regiones (PROECUADOR, 2013).

Comúnmente se conocen dos formas de café, natural y lavado. El café natural, es el producto obtenido a través de los métodos de beneficio por vía seca, mientras que el café lavado, es el producto obtenido de beneficios por vía húmeda, beneficio

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

húmedo enzimático, beneficio ecológico o subhúmedo y beneficio semihúmedo.

Los atributos físicos y organolépticos del café, dependen del ambiente donde se cultiva (suelo, clima, altitud entre otros) y del eficiente manejo en pre y pos cosecha (INEN, 2006).

El Consejo Cafetalero Nacional (COFENAC) con la información del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), destaca que las zonas apropiadas para el cultivo de café arábigo (figura 1.5) son las provincias de Manabí y Guayas, que se localizan sobre el sistema montañoso Chongón y Colonche, entre los 300 y 700 metros de altitud.

En las estribaciones occidentales de los Andes, incluyendo Loja y El Oro, las altitudes apropiadas se localizan de 500 a 1.800 metros de altura. En las estribaciones orientales del sur oriente, en el Cantón Chinchipe, las altitudes adecuadas se ubican de 1.000 a 1.800 msnm. (Duicela, Corral, & Farfán, El clima en las zonas de producción de café arábigo, 2002).



Figura 1.5. Planta de café arábigo
Fuente: Consejo Cafetalero Nacional (COFENAC)

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

El café robusta (Figura 1.6) en cambio, requiere de un clima tropical con altas precipitaciones o riego. Tradicionalmente en las provincias del Norte Amazónico han cultivado café robusta (PROECUADOR, 2013).



Figura 1.6. Planta de café robusta
Fuente: Consejo Cafetalero Nacional (COFENAC)

Según la Asociación Nacional de Exportadores de Café (ANECAFE), Ecuador exportó en el 2014 alrededor de 1.131.190,84 sacos de 60kg de café, (67.871 toneladas métricas) que representó un valor de 178.387.941,88 millones USD por concepto de ventas, constituyéndose como uno de los productos de mayor exportación del agro ecuatoriano. El total de la exportación del 2014, se descompone en: 3.815 TM de café arábigo, 5.248 TM de café robusta y 58.808 TM de café industrializado (ANECAFE, 2014).

La superficie cultivada de café en el país, se estima en unas 215.000 Ha. La provincia de Manabí ocupa el 38.6% del total de superficie de cultivos de café en el Ecuador y sus cosechas son hasta la actualidad las de mejor calidad, concentrándose las plantaciones en el Cantón Jipijapa, al sur de la provincia.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

La provincia de Sucumbíos es la segunda más productora con 17.36% y a continuación, Orellana 11.89%, El Oro 7.67% (ANECAFE, 2014) (Figura 1.7).



Figura 1.7. Zonas cafeteras de Ecuador
Fuente: Consejo Cafetero Nacional (COFENAC)

La situación caficultora del país hasta diciembre del 2012 según investigaciones y encuestas realizadas por el Consejo Cafetalero Nacional COFENAC, se desarrolló como se detalla en la Tabla 1.1

Tabla 1.1 Situación caficultora del país a Diciembre de 2012

Superficie Total	199,215 hectáreas
Área de café arábigo	136,385 hectáreas
Área de café robusta	62,830 hectáreas
Área cosechada	149,411 hectáreas
Unidades de producción cafetalera	105,000 UPA´s
Producción nacional	650.000 sacos de 60 kilos
Producción de café arábigo (%)	62%
Producción de café robusta (%)	38%
Consumo interno	150.000 sacos de 60 kilos
Producción exportable:	400.000 sacos de 60 kilos
Capacidad instalada de la industria:	1'200,000 sacos de 60 kilos
Capacidad instalada de exportadores	800,000 sacos de 60 kilos

Fuente: Especialista sectorial de café y elaborados – Dirección de Promoción de Exportaciones. (2013). Análisis sectorial de café. PRO ECUADOR.

1.4. Cosecha del cacao y café

1.4.1. Cacao

El cacao según la calidad exportada clasificada en la Norma ecuatoriana INEN 176 (ASE, ASS, ASSS, ASSPS o CCN51), recibe premios en el mercado internacional, por lo que la cosecha y el tratamiento post cosecha de este producto juega un rol importante en la determinación de la calidad, debiendo cosechar, fermentar, secar y clasificar, correctamente el grano, evitar las mezclas entre el Nacional fino de aroma y el CCN-51, y no permitir la contaminación con otros productos que se encuentran en el entorno (INEN, 2006).

Por otro lado, el cacao dependiendo de las condiciones climáticas del sector, es capaz de producir flores y mazorcas a lo largo de todo el año, pero generalmente hay épocas de producción alta por región en las que se procede a recolectar los frutos. Estando la mazorca lista para la cosecha, esta se ejecuta de forma manual, usando de preferencia las tijeras podadoras que no lastiman el fruto. Por ningún motivo se debe arrancar las mazorcas con la mano (halándolas), porque destruye completamente el cojín floral y causa heridas peligrosas para el tronco. Es muy importante para asegurar la calidad en cuanto al sabor, que el fruto sea cortado justo a tiempo y que el Ministerio de Agricultura Ganadería Acuacultura y Pesca (MAGAP) ha dictado normas para buenas prácticas de manufactura para el cacao, las mismas que deben ser cumplidas por los agricultores.

Se indica además en esta norma que, se deben cosechar únicamente frutos maduros, porque el grano sin madurez origina un producto de sabor amargo, ya que las sustancias azucaradas que

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

recubren el grano, aún no se encuentran en óptimas condiciones para el desarrollo de los procesos bioquímicos de fermentación.

Norma para la recolección de los frutos (AGROCALIDAD, 2012).

- La recolección debe hacerse cada ocho días en temporada de máxima producción y cada quince o veinte días cuando disminuye la cosecha.
- El sitio donde se recolectan y parten las mazorcas, debe ser de preferencia dentro de la misma huerta.
- Las fincas que posean las dos variedades de cacao, Nacional o fino de aroma y CCN-51, deberán cosechar, fermentar, secar y transportar por separado el cacao
- El corte con la tijera debe hacerse cerca de la mazorca, sobre la base de ésta y no sobre el cojín floral, pues también puede dañarlo.
- Retirada las pepas de la mazorca, se desprende la placenta
- Las almendras deben ser colocadas en recipientes limpios y libres de contaminantes.
- Las almendras deben ser transportadas en sacos o recipientes de plástico, yute o cabuya, totalmente limpios.
- Los residuos de esta actividad pueden ser empleados en proceso de compostaje y ser devueltos al suelo mediante procesos de fertilización.
- Es aconsejable que las almendras pasen inmediatamente a beneficiado.

1.4.2. Café

Recolección de los frutos

La cosecha de café consiste en recolectar selectivamente solo las cerezas maduras, evitando el quiebre de las ramas y la destrucción de las yemas florales y las hojas. La cosecha de café arábigo y robusta debe realizarse en estado de cereza madura, evitando cosechar los frutos verdes o inmaduros, porque tienen bajo rendimiento. (Duicela & Sotomayor, 1993). Para la recolección de los frutos deben observarse las siguientes particularidades (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015):

- Determinar el estado de madurez de los frutos por la intensidad de la coloración. Básicamente hay cultivares de frutos rojos y amarillos.
- Conocer que los frutos amarillos tienden a desprenderse más fácilmente que los frutos rojos. En los cafés arábigos, las variedades Villalobos y San Salvador se desprenden con mayor facilidad.
- Evitar que los frutos cosechados entren en contacto con el suelo por el riesgo de contaminaciones físicas y biológicas.
- Colocar las cerezas cosechadas en sacos de yute o cabuya limpios
- Separar m anualmente los frutos maduros de los verdes, pintones, sobre maduros y secos.
- Considerar que la cosecha de frutos inmaduros reduce el peso de la producción potencial y causa un detrimento en la calidad de la bebida de taza.
- Reconocer que una cosecha del 100% de frutos inmaduros causa una reducción del 33% del peso al ser transformado a café oro, comparado con el 100% de cerezas maduras.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

Acopio interno

El acopio interno del café cosechado se refiere a la movilización del producto desde el cafetal hasta el punto de recepción dentro de la finca. En esta labor hay que considerar lo siguiente:

- Receptar el café cosechado sobre lonas, tendales de cemento o entablillados de madera o caña guadua.
- No amontonar café cosechado por más de tres horas.
- Asegurar la limpieza del lugar; evitando el contacto del café con basuras, piedras, vidrios y otros contaminantes físicos y con agroquímicos.
- Procurar que las personas encargadas del procesamiento se encuentren en buen estado de salud.

Clasificación del café cosechado

El café cosechado para la preparación de cafés de alta calidad, debe ser clasificado manualmente o mediante el boyado. Mediante el boyado se logran separar por flotación hojas, pedazos de ramas, frutos tiernos y secos. Para la realización de este proceso hay que tomar en cuenta los siguientes aspectos (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015):

- Garantizar la limpieza de los recipientes plásticos o tanques de madera o cemento.
- Usar agua limpia llenando los depósitos hasta la mitad o máximo 2/3 de su capacidad.
- Introducir en los recipientes con agua, una cantidad adecuada del café cosechado y agitar la masa total de frutos
- Retirar manualmente con la ayuda de un tamiz, las impurezas que se encuentran flotando

1.5. Métodos de beneficio del café y cacao

1.5.1. Beneficio del café

La siguiente tabla muestra la relación entre los métodos de beneficio post cosecha y la calidad del café (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Métodos de beneficio post cosecha y calidad del café.

	Métodos de Beneficio				
	Vía Seca	Vía Húmeda	Ecológico o Subhúmedo	Húmedo Enzimático	Semihúmedo
Producto Intermedio	<i>Café "bola seca"</i>	<i>Café pergamino seco</i>	<i>Café pergamino seco</i>	<i>Café pergamino seco</i>	<i>Café pergamino seco "con miel"</i>
Producto Final: Tipos de café	<i>Café natural</i>	<i>Café lavado</i>	<i>Café lavado</i>	<i>Café lavado</i>	<i>Café semilavado</i>

Fuente: (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015) Poscosecha y Calidad del Café (SICA-Guayaquil)

- 1) Beneficio por vía seca que da como producto final el "café natural"
- 2) Beneficio por vía húmeda (el más empleado)
- 3) Beneficio semihúmedo
- 4) Beneficio subhúmedo o ecológico
- 5) Beneficio húmedo enzimático

Los métodos de vía húmeda, ecológico y húmedo enzimático dan como resultado los cafés lavados.

1.5.1.1 Beneficio por vía seca

Este método se basa en la deshidratación de los frutos del café hasta alcanzar un contenido de humedad del 10% al 12,5% en café arábigo y del 10% al 13% en café robusta (Gráfico 1.5). Con el secado del café cereza se obtiene el café bola, cuyas envolturas cuando son eliminadas con el pilado, se convierte en café natural. (INEN, 2006).

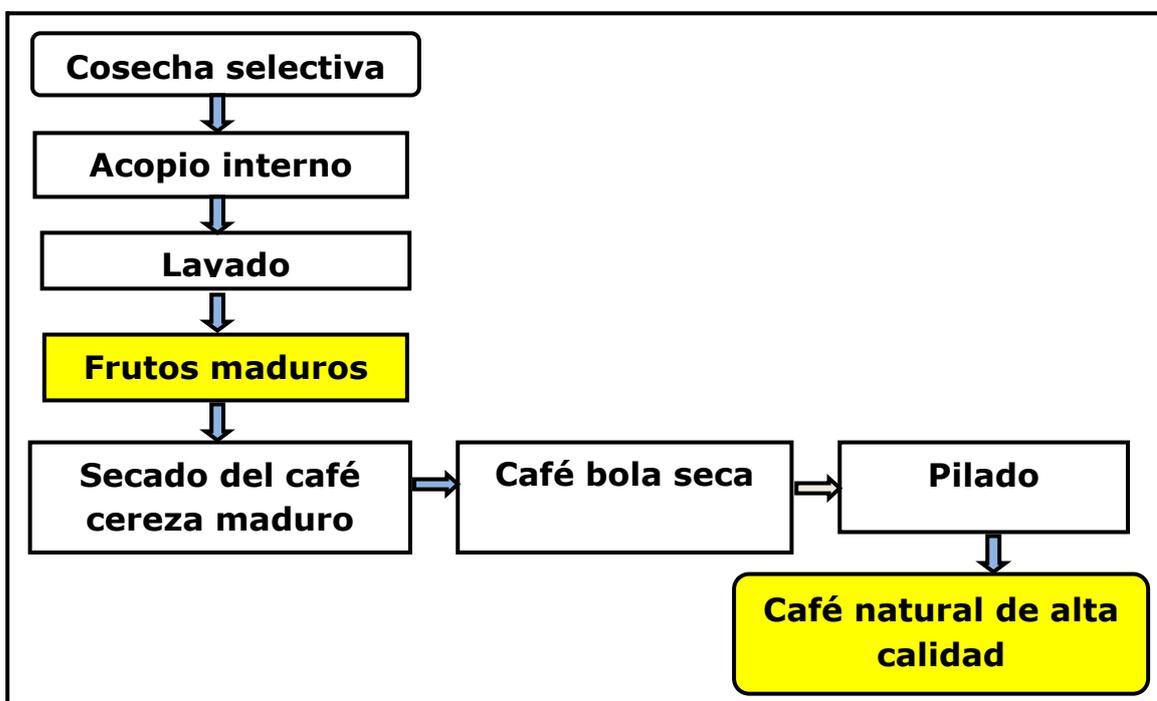


Gráfico 1.5. Esquema del proceso de beneficio por vía seca: Café natural de alta calidad

Fuente: (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015) *Poscosecha y Calidad del Café* (SICA Guayaquil)

Elaborado por: Autor, 2015.

Para preparar el café natural se deben tomar en consideración las recomendaciones indicadas para el beneficio por la vía húmeda, en las fases de cosecha selectiva, acopio, boyado (opcional), secado y pilado. En éste método de beneficio no se realiza el despulpado ni el lavado.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

El café bola se seca con todas sus envolturas, al sol o mediante métodos artificiales. El café cereza cosechado se coloca en el tendal de cemento a plena exposición solar, durante 10-20 días, según las condiciones climáticas de la zona (Puerta & Rodríguez, 2001).

En este proceso, el café cereza se extiende en los tendales en capas de 5 centímetros de espesor, removiéndolo de 3-5 veces al día. Conforme progresa el secado se disminuye el espesor de la capa de los frutos, hasta llegar a 3 centímetros y obtener así el café bola seco de color castaño oscuro, de aspecto quebradizo y con el sonido de almendra desprendida dentro de la cáscara.

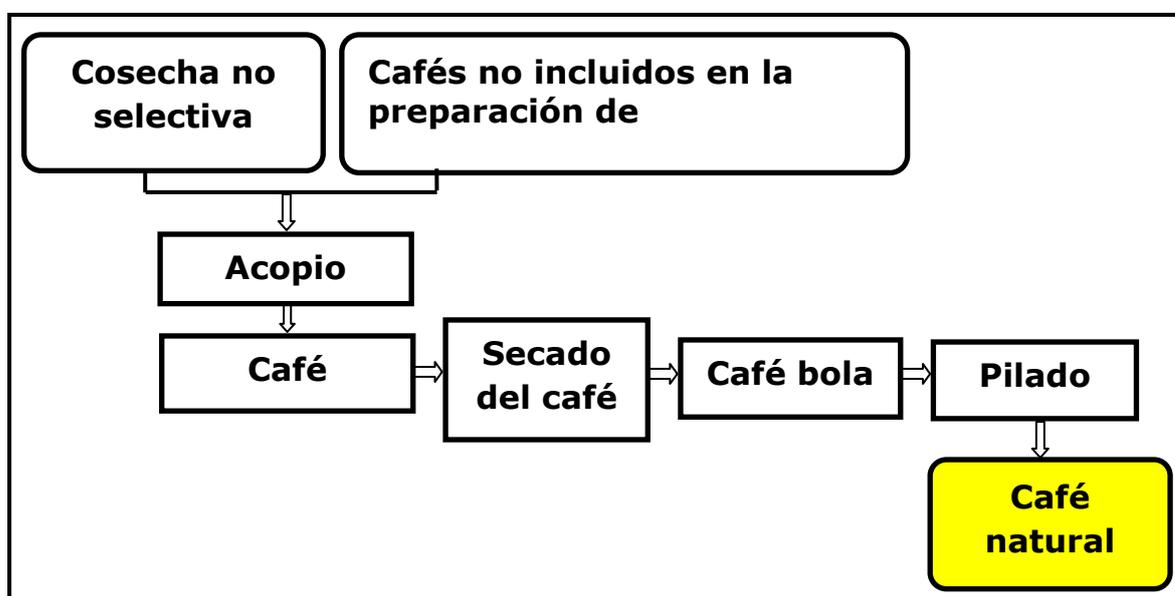


Gráfico 1.6. Esquema del proceso de beneficio por vía seca: Café natural corriente.

Fuente: (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015) *Poscosecha y Calidad del Café (SICA-Guayaquil)*

Elaborado por: Autor, 2015.

1.5.1.2 Beneficio por vía húmeda

El beneficio por la vía húmeda convencional comprende las siguientes fases: cosecha selectiva, acopio, boyado, despulpado, fermentado, lavado, secado y trillado de los granos. (COFENAC, 2010).

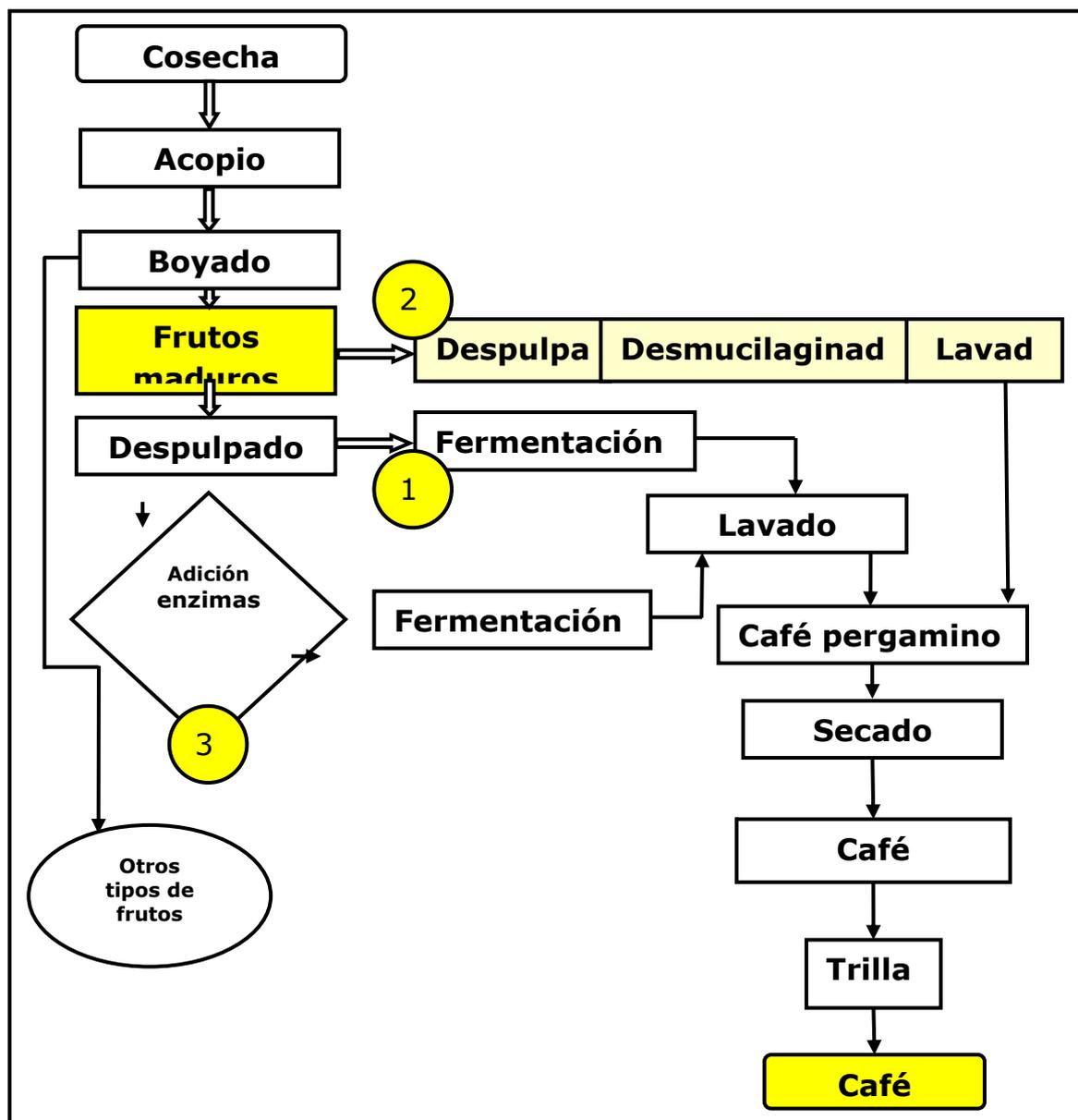


Gráfico 1.7. Esquema de los métodos de beneficio para preparar cafés lavados: 1) vía húmeda; 2) vía ecológica; y, 3) húmedo enzimático.

Fuente: (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015)

Elaborado por: Autor, 2015.

Un correcto beneficio del café entraña un conocimiento profundo sobre las buenas prácticas de manufactura que deben emplearse, con el fin de garantizar una excelente calidad del producto final.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

En la Gráfica superior (1.7) se muestran los esquemas de métodos de beneficio de cafés lavados por: (1) Vía húmeda, (2) Ecológico y (3) Húmedo enzimático.

Las siguientes observaciones deben ser tomadas muy en cuenta durante todo el proceso de beneficio por vía húmeda.

- El café una vez cosechado debe ubicarse en lugares frescos sin exponerlo al sol, para evitar las manchas en el pergamino que le restan calidad (Farfán, 2000).
- El boyado es previo al despulpado y consiste en sumergir los frutos de café en recipientes plásticos o estanques de cemento, para eliminar por flotación residuos de cosecha como hojas, tallos, materia extraña y frutos en mal estado.
- El despulpado es una operación mecánica que consiste en eliminar la cáscara y parte de la pulpa que contiene el fruto, para dejarlo listo a ser fermentado. La operación puede hacerse con o sin uso de agua, dependiendo de lo jugoso que esté el fruto, pero el mismo día de la cosecha (Duicela L. a., 2004).
- La fermentación es el proceso biológico de remoción del mucílago, por acción microbiana con levaduras o bacterias que, se nutren del azúcar de la pulpa y del mucílago. Estos microorganismos se multiplican aceleradamente produciendo enzimas que desprenden el mucílago. La fermentación puede ser natural, por adición de enzimas, métodos químicos y agua caliente (Alarcón, 1979).
- La fermentación dura entre 14 a 20 horas, dependiendo del tipo de la madurez del café. Para determinar el punto óptimo de fermentación en las fincas, suelen emplear el método de introducir un madero en la masa de café; si al retirarlo deja la

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

huella del hoyo sin desmoronarse, se entiende que está fermentado (Duicela & Sotomayor, 1993).

- Para la fermentación natural que es la más comúnmente usada en finca, se emplean aproximadamente 40 litros de agua por kilogramo de café pergamino seco (Duicela & Sotomayor, 1993).
- La fermentación natural del café, es el proceso por el cual el mucílago adherido al café es degradado por enzimas que ocurren naturalmente en el café cereza y elaborados por la microbiota del producto natural. Después de la fermentación, el mucílago es removido mediante lavado, permitiendo un secado rápido de los granos y una mejora en la apariencia de los mismos, resultando una relación directa en la calidad final de la bebida (Oliveira & Carvalho, 2001).
- Se considera que la presencia de pulpa, cerezas inmaduras y cerezas sin despulpar en la fermentación, afecta considerablemente en la calidad de la bebida (FAO, 2010).
- Una vez fermentado el grano, se procede al lavado con agua limpia para eliminar el mucílago residual y las sustancias solubles que podrían formarse durante la fermentación. Después del lavado, el grano queda como café pergamino húmedo (Oliveira & Carvalho, 2001).
- Con el secado se logra disminuir la humedad del grano hasta valores entre el 10 y 12 %, asegurando de esta manera la estabilidad organoléptica del producto. El secado se lo hace de manera natural en tendales al aire libre o en secadoras de granos usando aire caliente que no debe sobrepasar los 45 °C (Marcolan & al., 2009).
- El fruto después de haber sido secado se conoce como café pergamino seco, que puede ser comercializado directamente o ser sometido al proceso de trillado para eliminar el pergamino.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

El producto que resulta de la trilla es el café oro, café verde o café en grano. Un café oro obtenido mediante los métodos de vía húmeda, se conoce como café lavado (Haarer, 1984).

1.5.1.3 Beneficio semihúmedo

Es un proceso de transformación del café cereza a café pergamino seco "con miel", que involucra el despulpado y secado del café con todo el mucílago, "café con baba" que luego es trillado da como producto final el café semilavado.

En el secado del café con mucílago se deben considerar ciertos procedimientos, a saber (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015):

- El café despulpado debe colocarse en tendales de cemento, secadores solares, zarandas de malla plástica o en secadoras artificiales.
- El secado debe hacerse esparciendo los granos en capas delgadas de 3 centímetros de espesor y removiéndolo de 8 a 10 veces al día.
- Nunca mezclar granos con diferentes contenidos de humedad en ninguna etapa del secado.
- El secado artificial debe hacerse siguiendo rigurosamente las instrucciones sobre volumen por remesa, temperatura máxima de 45°C, tiempo de secado y control de humedad.
- Recordar que el café con mucílago es muy vulnerable al ataque de hongos durante el secado, por lo que debe tenerse un estricto control de la humedad.
- El tiempo de secado varía en función de las horas sol, de la temperatura del espesor de la capa y de la frecuencia de remoción del grano.

1.5.1.4 Beneficio ecológico

Llamado también beneficio subhúmedo, es el proceso de transformación del café cereza a café pergamino húmedo usando un equipo especial llamado módulo de beneficio ecológico que está integrado por la despulpadora, desmucilaginador mecánico y sistema de lavado. Mediante este método de beneficio, no hay el proceso de fermentación (Roa & at., 1999).

Esta tecnología ofrece ventajas ecológicas, debido a que el consumo de agua en el proceso de desmucilaginado y lavado es de 1 litro por kilogramo de café pergamino seco (Roa & at., 1999).

En este beneficio hay que tomar en cuenta lo siguiente:

- Es importante la calibración y el buen funcionamiento del desmucilaginador, de lo contrario se pueden originar granos mordidos o quedar restos de mucílago en el pergamino, lo que deteriora la calidad del producto final (Duicela & otros, 2010).
- Se debe beneficiar solo café maduro.
- La cantidad de agua durante el desmucilaginado debe estar en el volumen recomendado. El exceso de agua provoca una demora del proceso y una falta de agua puede originar un deficiente lavado (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015).

1.5.1.5 Beneficio húmedo enzimático

Este es un proceso de transformación de café cereza a café pergamino húmedo, utilizando enzimas pectolíticas (moléculas de proteínas) para acelerar la fermentación del mucílago del café despulpado. Este método de beneficio permite lavar el café el mismo día de haber sido cosechado. El café cereza maduro se despulpa y

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

sobre el café despulpado se añade el producto enzimático (COFENAC-SICA, 2010).

En la adición del producto enzimático a la masa de café despulpado, considerar lo siguiente.

- Las enzimas tienen la capacidad de acelerar las reacciones químicas disminuyendo el nivel de energía de activación necesaria (calor, electricidad) para que las moléculas colisionen y se produzca la reacción entre ellas (Las enzimas, 2015).
- El producto enzimático (Granozime-café 100) se usa en dosis de 5 ml por cada 100 libras de café cereza. Esto significa que con un litro de producto enzimático, se puede acelerar la fermentación de 200 quintales de café cereza (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015).
- El tiempo de fermentación usando las enzimas puede variar de 20 a 30 minutos, tanto en café arábigo como en robusta (COFENAC-SICA, 2010).
- Secar el café pergamino húmedo de forma natural o en secadoras de granos hasta un 12 - 12,5% en arábigo y 10-13% en robusta.

1.5.2 Beneficio del cacao

La fermentación del cacao se lleva a cabo de diferentes formas que varían de acuerdo con las prácticas agrícolas de cada zona del país, sin embargo todo tratamiento especial poscosecha debe ser evaluado por AGROCALIDAD, que en su Guía de buenas prácticas agrícolas para cacao, recomienda (AGROCALIDAD, 2012):

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

- Usar para la fermentación cajones de madera, tendal y sacos.
- Las maderas recomendadas son el laurel, pechiche y chanul.
- En este sistema, el tiempo de fermentación recomendado es 48 horas, luego remover y dejarlo otras 48 horas para el cacao nacional y 48 horas más para el CCN-51.
- Observar que la almendra siguió un buen proceso de fermentación. Cuando la temperatura empieza a descender, el grano se hincha y la almendra es de color lila pálido.
- Para la fermentación en tendales, estos deben ser sobre caña o madera. Para proteger a la almendra de la lluvia y el viento, esta debe cubrirse con hojas de plátano, banano o bijao. La fermentación también se la hace con los mismos tiempos que el anterior, pero haciendo una remoción del montón después de las primeras 48 horas.
- Cuando la fermentación es en sacos, se debe remover cada 48 horas para airear el caco. Para el cacao nacional dos veces y para el CCN-51 tres. El cacao ya fermentado es secado por medio natural o en secadoras de granos, hasta una humedad residual de 7 a 8 %.

1.6 Residuos del beneficio del cacao y café

La actividad agrícola y agroindustrial con estos productos, genera una gran cantidad de residuos, si consideramos que solo se aprovecha económicamente el 10 % del peso del grano fresco del cacao y el 20% del café, constituyendo el restante 90 y 80% respectivamente en desechos orgánicos de finca y de industrias de procesamiento (Barazarte & Sangranis, 2008).

Esta circunstancia se ha traducido en serios problemas ambientales y también paisajísticos, que no han sido resueltos en la proporción de su generación. Existen algunos estudios y análisis

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

físico-químicos al respecto, para el aprovechamiento en parte de estos residuos, pero en general, está muy limitada en nuestro país la utilización práctica de los desechos del beneficio en finca del cacao y café.

1.6.1. Características principales de los residuos del beneficio del cacao

Según Barazarte y Sangranis (2008), los granos de cacao que se recuperan como producto de las mazorcas, solo representan el 10 % del peso total, lo que nos indica que el cultivo del cacao produce desde la etapa de recolección hasta la de procesamiento, una gran cantidad de desechos. Otros investigadores aseguran que 10 toneladas de desechos frescos se producen por cada tonelada de semillas secas (Figueira, 1993). Estos desechos están constituidos básicamente por la cáscara del fruto y la pulpa de las semillas, los cuales son ricos en taninos, polifenoles, alcaloides, azúcares y polisacáridos. (Albornoz, 1980).

Los residuos del cacao provienen principalmente de la cáscara, mucílago y cascarilla (residuo industrial).

En las siguientes Tablas (1.3. a 1.6.) se muestran algunos resultados obtenidos de investigaciones con la cáscara y mucílago del cacao.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

Tabla 1.3. Composición proximal de algunas propiedades físicas de los residuos del cacao.

Producto	Variedad	Residuos	Parámetros en porcentaje					
			Hm	P	G	Cz	Fc	ELN
CACAO <i>Theobroma cacao L</i>	Trinitario	Cáscara	6,72	4,52	2,40	8,92	33,26	44,18
		Cascarilla	7,80	17,13	2,22	7,33	21,38	44,14
		Mucílago	9,27	6,13	2,11	8,46	0,41	73,62
	Nacional	Cáscara	6,53	4,50	2,5	9,01	33,78	43,68
		Cascarilla	7,31	17,1	2,18	7,93	21,41	44,07
		Mucílago	9,48	6,05	2,13	8,31	0,43	73,44

Hm: Humedad, P: Proteínas, G: Grasas Cz: Cenizas, Fc: Fibra Cruda, ELN: Extracto libre de nitrógeno.

Fuente: (Tuchan, 2014).

Tabla 1.4. Análisis Químico de la cáscara del café proveniente de la Península de Paria, estado de Sucre, Venezuela.

Contenido de	Resultado (%)
Proteínas	8,69
Nitrógeno total	1,39
Materia orgánica	60,10
Grasas	1,40
Humedad	15,25
Potasio	4,70
Sodio	0,05
Fósforo	0,15
Magnesio	0,22
Calcio	1,12
Zn, Mn, Co, Cu, Fe	Trazas

Fuente: (Crescente & al, 1999)

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

Tabla 1.5. Contenido de K, Ca y Mg de las cáscaras de Cacao Nacional y CCN-51.

Elementos	Cacao Nacional %	CCN-51 %
Potasio	4,98	5,16
Calcio	0,33	0,40
Magnesio	0,27	0,30

Fuente: Tesis Grado. (Sánchez, 2013)

Tabla 1.6. Composición proximal de la cascarilla de cacao.

Parámetro	%
Materia seca	88,4 ± 3,2
Proteína cruda	9,3 ± 1,9
Fibra cruda	37,2 7,6
Cenizas	6,5 ± 2,1

Fuente: (Bouafou, Konan, Zannou, Choko, & Kati-Coulibally, 2011)

Como se puede observar de los resultados mostrados por estas investigaciones y que ampliaremos en los siguientes capítulos, existe un potencial empleo de la biomasa residual del cacao tanto en su cáscara, cascarilla y lixiviados. La cáscara básicamente es una alternativa importante como fuente de fibra diaria para alimento animal y también como combustible sólido. Los lixiviados, ricos en azúcares pueden ser fermentados y convertidos en alcoholes, como ya ha sido demostrado en estudios anteriores y que precisaremos con esta investigación.

1.6.2. Características principales de los residuos del beneficio del café

Los subproductos del café que resultan del proceso de beneficio por cualquiera de los métodos descritos, no son aprovechados y generalmente se vierten sin ningún tratamiento al suelo y por infiltración llegan a los ríos, manantiales y quebradas, ocasionando peligrosas contaminaciones ambientales.

De la información sobre estos desechos, sabemos que de 500 libras de café cereza se obtienen en promedio 100 libras de café oro, al 12 % de humedad.

Esto significa que solo el 20 % del peso del café maduro constituye café oro y el 80 % restante son subproductos (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015).

El beneficio del café a diferencia del cacao, da varios subproductos, a saber: Cáscara seca, cáscara fresca, pulpa, mucílago, agua mieles y pergamino (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015).

- **Cáscara seca.** Constituida por las envolturas del café bola seca (epicarpio, mesocarpio y endocarpio deshidratados)
- **Cáscara fresca.** Es el epicarpio del fruto
- **Mucílago.** Es el mesocarpio del fruto y representa del 15,5 al 22 % del peso del fruto. En base húmeda está constituido por el 8,55 % de carbohidratos, 0,93 % de proteínas, 0,12 % de lípidos, 0,17 % de ácidos orgánicos, 0,12 % de alcohol y entre 85 y 91 % de agua (Puerta G. , 1999).
- **Aguas mieles.** Es el agua que arrastra el mucílago disuelto en el proceso de lavado del café fermentado. Cuando, además del

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

mucílago, lleva otros residuos del beneficio del café y de otros procesos agroindustriales, se conoce como aguas residuales.

- **Pergamino.** Es el endocarpio del fruto, tiene la forma de una cápsula que recubre el grano y resulta de la eliminación del mucílago mediante la trilla.

Las tablas 1.7 y 1.8, nos muestran algunas de las características más relevantes de los subproductos del beneficio del café.

Tabla 1.7. Residuos obtenidos en el proceso de beneficio e Industrialización de 1 Kg café cereza.

Proceso	Residuo obtenido	Pérdida(gramos)
Despulpado	Pulpa fresca	436
Desmucilaginado	Mucílago	149
Secado	Agua	171
Trilla	Pergamino	42
Torrefacción	Película plateada Volátiles	22
Preparación bebida	Borra	104
Pérdida acumulada		924

Fuente: (Calle V, 1977). CENICAFÉ Marzo de 2010.

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

Tabla 1.8. Bioetanol obtenido por cada millón de sacos de café verde producidos.

Subproducto	Toneladas generadas	Litros etanol / Tonelada	Galones U.S
Pulpa fresca	162.900	25,17	1.083.274
Mucílago fresco	15.500	58,37	855.888
Galones U.S etanol / millón sacos café verde			1.939.162

Fuente: (Rodríguez & Zambrano, 2010). CENICAFÉ.

Análisis de carácter químico realizados a muestras de mucílagos, para conocer los contenidos de azúcares que puedan convertirse en alcohol, muestran cifras realmente interesantes, que esta investigación corrobora con los resultados obtenidos, para muestras de cacao nacional en sus dos variedades. La pulpa y el mucílago pueden usarse en la elaboración de bebidas alcohólicas o refrescantes aprovechando el contenido de cafeína y azúcares (Rajkumar & Graziosi, 2005).

Los mismos investigadores en esa publicación, indican que el mucílago puede reemplazar hasta en un 20 % a los concentrados comerciales empleados para alimentación de bovinos, cerdos, peces, pollos y corderos.

Los altos contenidos de azúcares (energía) y nutrientes, convierten a la cáscara seca, cáscara fresca, pulpa y mucílago pueden ser aprovechados para la elaboración de abonos orgánicos, tipo compost (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015)

Visión general del sector cacao y café en Ecuador

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO 2

Marco teórico

- 2.1. Biocombustibles de segunda generación
- 2.2. Antecedentes de investigaciones
- 2.3. Métodos de análisis avanzados
 - 2.3.1. Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de masa GC-MS
 - 2.3.2. Cromatografía líquida de alta resolución HPLC
 - 2.3.3. Espectrometría de Absorción atómica AAS
- 2.4. Planteamiento del problema
- 2.5. Justificación de la investigación
- 2.6. Hipótesis
- 2.7. Objetivos
 - 2.7.1 Objetivo General
 - 2.7.2 Objetivos específicos

2.1 Biocombustibles de segunda generación

Como anotáramos al inicio de este trabajo, el uso intensivo e indiscriminado de los combustibles fósiles, está conduciendo al mundo hacia el colapso de sus ecosistemas, con el alarmante peligro de afectar severamente en un plazo no muy lejano, a nuestra propia civilización. La preocupación mundial por el cambio climático, sumado al aumento de la demanda de energía y la inestabilidad de los precios del petróleo, direccionan hacia la búsqueda de nuevas fuentes alternativas de energía que sean a la vez económicamente eficientes y ambientalmente sustentables (PNUMA, 2009).

Los compromisos cada vez más exigentes que proclaman las naciones, en términos de reducir las emanaciones de gases de efecto invernadero provenientes de la quema de combustibles fósiles, conducen a los diferentes gobiernos, a definir políticas energéticas amigables con la naturaleza, que logren mitigar el impacto ambiental. En esta línea de visión mundial, el uso de los biocombustibles o biocarburantes como fuentes de energía limpia, ocupan un papel primordial en la estructura de las nuevas matrices energéticas de los países del orbe, ya que éstos son considerados recursos energéticos obtenidos por el hombre a partir de materias producidas por seres vivos, a las cuales se les denomina biomasa (Ballesteros, 2004).

La aplicación masiva de esta forma de combustible limpio, debe necesariamente cumplir con un rendimiento energético favorable y no poner en peligro la soberanía alimentaria de un país. Al momento se han logrado visualizar varios tipos de biocombustibles a los cuales se los clasifica de acuerdo al tipo de materia prima y a la tecnología empleada para producirlos. Ver figura 2.1.

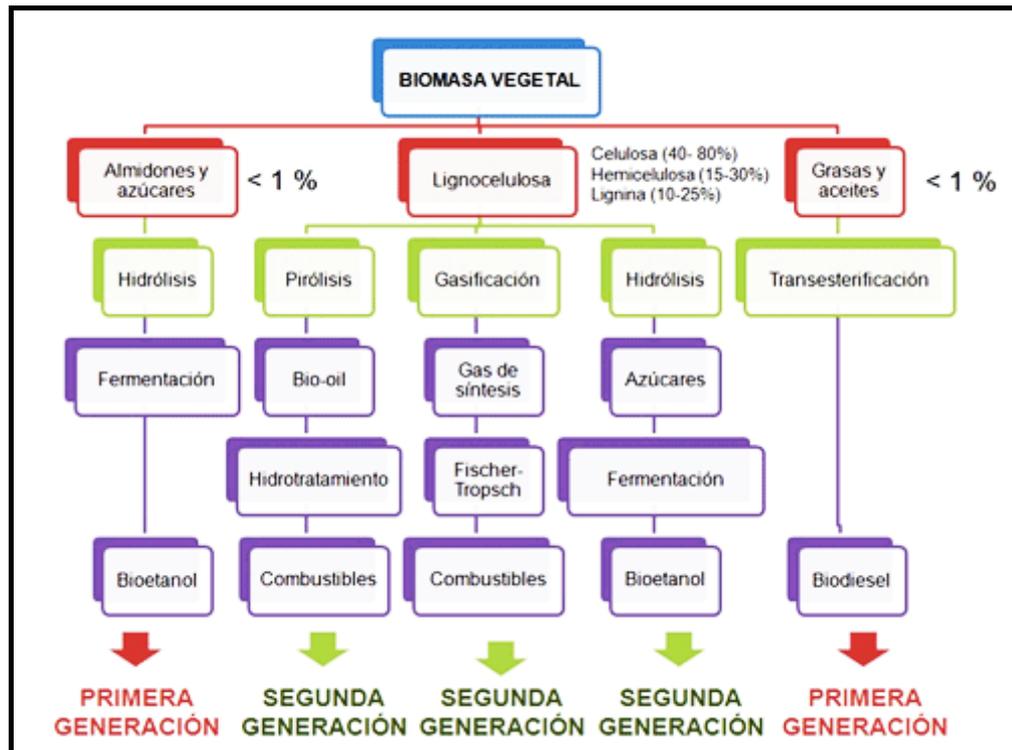


Figura 2.1. Procesos de aprovechamiento de la biomasa.

Fuente: (Faba, Díaz, & Ordoñez, 2013).

Cabe anotar que no todos los biocombustibles están en fase de desarrollo industrial. El desafío consiste en desarrollar las tecnologías adecuadas para su aprovechamiento sostenible. Un estudio preparado recientemente por un consejo de científicos para el Gobierno Alemán llega a la conclusión que a largo plazo la energía solar y la eólica, y eventualmente también la geotérmica, predominarían como fuentes de energía. En lo referente a los combustibles líquidos para el sector transporte, existe amplio consenso entre expertos y organismos internacionales respecto a que los biocombustibles constituyen la única opción realista de sustitución de combustibles fósiles en el futuro cercano (Hackenberg, 2008).

Los llamados de primera generación, son aquellos que proceden de cultivos sembrados expresamente para ese fin (Cavieres, 2008). Los productos obtenidos de semillas de aceites de girasol, colza, y palma africana principalmente, producen biodiesel; mientras que los que provienen de cereales y azúcares (caña, remolacha) dan el

bioetanol. Ambas fuentes primarias de energía están ampliamente desarrolladas en muchos países, constituyendo un importante aporte energético, principalmente como combustibles para uso del transporte.

En la figura 2.2 se presenta el porcentaje de consumo total de biocombustibles en el sector transporte¹

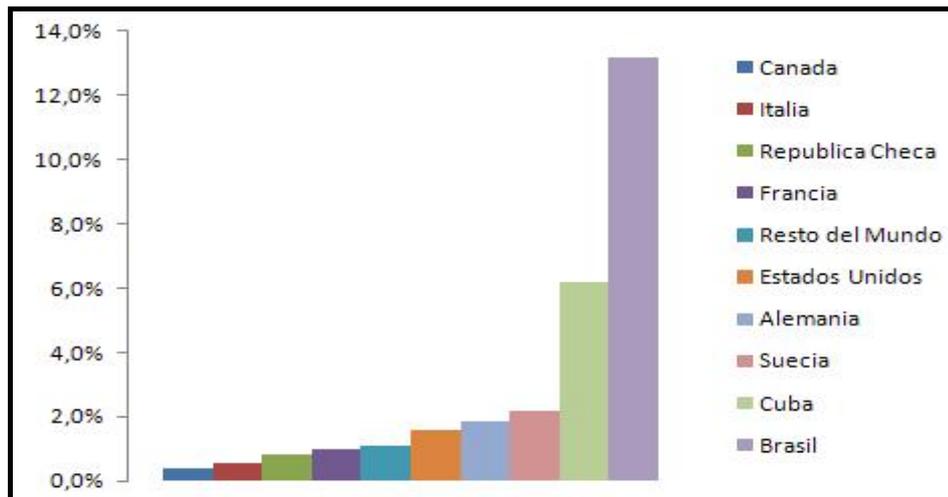


Figura 2.2. Consumo de biocombustibles, como porcentaje del consumo total de combustibles en el sector transporte.

Debemos estar conscientes de que no existen al momento, salvo rarísimas excepciones, cultivos específicos con fines energéticos exclusivamente.

En nuestro país, una de esas excepciones lo constituye el aceite del piñón (*Jatropha curcas*) que se emplea en cierta escala para producir energía eléctrica en las islas Floreana e Isabel en Galápagos (MAGAP, 2012).

Por otro lado, los biocombustibles de segunda generación se obtienen a partir de biomasa lignocelulósica (celulosa, hemicelulosa y lignina) obtenida de residuos de cultivos, y de subproductos de la industria alimentaria y forestal. Esta biomasa caracterizada por su

¹ <http://nmrlab.yo-que.ch/controversia/doku.php?id=c3:l1:biocombustible>

alta densidad energética almacenada en la celulosa, la cual libera mucha energía al romper sus enlaces químicos, y que además, por ser un polímero de la glucosa, sufre procesos de fermentación en la que se obtiene etanol o butanol, atributos que la hacen muy interesante para utilizarla como combustibles líquidos (López, 2013).

A diferencia de los biocombustibles de primera generación, los residuos agrícolas y agroindustriales, no sólo que tienen escaso o nulo valor económico, sino que suelen provocar varios y serios problemas ambientales durante su eliminación, por lo que, en la medida en que puedan ser reciclados, se logra el doble efecto de, darle un valor agregado a los desechos y reducir considerablemente la emisión de gases de efecto invernadero.

Es importante anotar que la mayor parte de los estudios científicos coinciden en que los biocarburantes suponen menores emisiones de gases de efecto invernadero (entre un 35 y un 50%) y que, el uso de etanol celulósico en lugar del bioetanol convencional reduciría las emisiones netas de CO₂ entre 70 y 90 por ciento, cuyo nivel de reducción se debe sobre todo al hecho de que no se usan energías fósiles en el procesamiento del etanol. Sin embargo, el estudio realizado por Hackenberg en el 2008, señala que existen enormes diferencias en cuanto a la reducción de CO₂ así como en los costos de ésta (Hackenberg, 2008).

Estas premisas de alto rendimiento energético y bajas emisiones de gases de efecto invernadero de los biocombustibles de segunda generación, motivaron al autor a explorar en detalle las características físico químicas de los desechos del cacao y café del litoral ecuatoriano, principalmente los lixiviados, para cuantificar su potencial uso como fuentes de energías limpias y dejar abierta una posterior investigación socio económica en términos comerciales.

2.2 Antecedentes de investigaciones

La revisión bibliográfica sobre estudios anteriores para el aprovechamiento de la biomasa obtenida por los procesos de beneficio del cacao y café, muestran información muy amplia en términos de descripción conceptual de los residuos obtenidos, considerando la amplia gama de ellos. En el caso de los residuos agrícolas del cacao, los usos que se le dan en nuestro país, están relacionados principalmente a la cáscara del fruto, que en finca se emplea como fertilizante para plantas y algo para dietas de animales.

Actualmente han surgido nuevas propuestas sobre otras formas de uso, tales como la formulación de dietas experimentales con diferentes niveles de cáscara de cacao para la alimentación de pequeños mamíferos (Murillo & Quilambaqui, 2008) o aprovechando el potencial energético de estos residuos como material combustible para la alimentación de calderas en la producción de energía y en las fábricas de semielaborados y elaborados finales a partir del cacao, se obtiene como subproducto del tostado, la cascarilla de cacao, que se emplea como complemento de dietas mezclada con harina de trigo (Sanchez, 2013).

Para el aprovechamiento de los lixiviados, se han desarrollado estudios para la obtención de vinos y vinagre a partir del mucílago del cacao (Marcillo & Meza, 2010).

En este contexto, entre las principales investigaciones realizadas en los últimos años con relación al aprovechamiento de los residuos agrícolas y agroindustriales del cacao y café, podemos mencionar las siguientes.

Cacao

- Estudios experimentales realizados en el mucílago de cacao a nivel de laboratorio, para definir las condiciones óptimas de fermentación de los azúcares presentes y su conversión en alcohol, fueron realizados por Marcillo y otros (Marcillo & Meza, 2010). En este estudio, los autores no definen el tipo de cacao utilizado ni realizan análisis completos de caracterización físico química ni biológicos, como: sólidos totales, sólidos suspendidos, sólidos disueltos, resistividad, tamizaje químico entre otros.
- Villagómez (Villagómez, 2013), informa de los resultados obtenidos en un acetificador piloto, en cuyo proceso convierte el exudado de la almendra fresca del cacao CCN 51 en vinagre como valor agregado, mediante dos procesos microbianos separados, primero una fermentación alcohólica de los azúcares naturales presentes en el mucilago de cacao en un rango del 10-13%, adicionando sacarosa para rectificar el contenido de sólidos solubles para la acción y conversión de las levaduras del género *saccharomyces cerevisiae*; y en segundo lugar la llamada fermentación oxidativa del alcohol obtenido.
- La revista Tecnológica ESPOL, publica un artículo de (Abarca, 2010) sobre trabajos de investigación reportada en los residuos del pergamino y pulpa de café, cáscara, cascarilla y mucilago de cacao; cáscara, pulpa y residuo de extracción de gel del cladodio generados por varias empresas privadas y organizaciones, con la finalidad de determinar sus contenidos de Fibra dietaria Total (FDT), y sus fracciones Soluble (FDS) e Insoluble (FDI). Entre sus conclusiones indican que son buenas fuentes de FDI el pergamino de café, cáscara de cacao

y cáscara de cladodio. El estudio no abarca análisis químicos de perfiles de azúcares, tamizaje químico ni cromatografía en fase gaseosa.

- La Tesis de Maestría de (Sanchez, 2013), en la que se evalúa las cáscaras del cacao nacional y CCN-51 como fuentes de energía. En este estudio se determinó que la biomasa residual agrícola BRAC aprovechable en Ecuador es del orden de 144.320 TM/año, que generarían 42688 Tep/año (Tonelada equivalente de petróleo/año), equivalentes a 215.477 MJ.
- El estudio sobre la actividad antibacteriana de diferentes fracciones de la cáscara de cacao y empleando cepas autóctonas y su correspondiente análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia y CG-EM de estas fracciones fueron reportadas por Cuéllar, (Cuéllar & Guerrero, 2012). El resultado mostró que, la fracción clorofórmica presentó actividad antibacteriana frente a *Bacillus cereus* ATCC 11778 y *Streptococcus agalactiae* (autóctona), con porcentajes de inhibición de 34.90% (100 µg/µl) y 52.40% (100 µg/µl) respectivamente.
- D. Bravo, (Bravo, 2010) al estudiar el beneficio del cacao, evaluó la influencia del almacenamiento del fruto previo a la fermentación, el tiempo de fermentación y el tiempo de secado, sobre las características del cacao fermentado y seco. El estudio lo hizo con los clones de la variedad trinitario (CCN 51, UF 613, ICS 1, ICS 95 y THS 565), clon de la variedad forastero (IMC 67) y el cacao de la variedad criollo de la Región San Martín (Perú).

Los resultados revelaron que los clones de la variedad trinitarios presentaron los contenidos más altos de temperatura, humedad, acidez, pH y sólidos solubles; los cacaos cosechados y almacenados durante tres días (AM3) de

humedad en la pulpa + testa, acidez y sólidos solubles durante el tiempo de fermentación y los cacaos recién cosechados (AM0) de humedad y acidez durante el tiempo de secado. Además, al clon UF 613 de la variedad trinitario le correspondió la mayor cantidad de granos fermentados, el AM3 de granos negros y al AM0 mayor peso de grano y porcentaje de cascarilla.

- En la planta de chocolates Más choco (Ecuador), V. López, (López, 2014) realizó un estudio sobre el aprovechamiento de la cascarilla de cacao generada por esa empresa, para emplearla como relleno parcial en la elaboración de chocolates, cumpliendo con la norma ecuatoriana INEN 621. Mediante el análisis sensorial, reporta que pudo establecer como mejores tratamientos; a1b0 (80% chocolate líquido+20% cascarilla de cacao) en bombón negro; a1b (80% chocolate líquido+20% cascarilla de cacao) en bombón blanco. Los resultados de los análisis determinaron que los bombones con chocolate negro contienen: 1.63% de Cenizas, 4.52% de Proteína, 2.12% de Humedad, 32.3% de Grasa, y 7.98% de Fibra dietaria total y los bombones con chocolate blanco: 1.93% de Cenizas, 5.12% de Proteína, 3.37% de Humedad, 32% de Grasa, y 7.98% de Fibra dietaria total.
- H. Brarazarte, (Barazarte & Sangronis, 2008) reportan un estudio para la extracción de pectinas de la cáscara de cacao a diferentes condiciones de pH y temperatura y se evaluaron sus principales características químicas. Para la extracción se usó EDTA al 0,5% a pHs 3, 4 y 5 y temperaturas de 60, 75 y 90°C, bajo diseño factorial 3^2 . Las variables respuestas fueron: rendimiento, contenido de ácido anhidro galacturónico (AGA), contenido de metoxilo, grado de

esterificación y peso equivalente de las pectinas extraídas. Se determinó la fuerza del gel péctico con un texturómetro TA – X

- Empleando cáscaras de cacao de Cuba y Ecuador, R. Bermúdez, (Bermúdez & at, 2002) realizaron la fermentación en estado sólido mediante el hongo de pudrición blanca *Pleurotus ostreatus*, variedad Florida. Se estudian en ambos sustratos las influencias del tamaño de la partícula, las condiciones de fermentación, preparación del sustrato, propagación del inóculo, temperatura y porcentaje de humedad. Los parámetros determinados fueron: rendimiento, precocidad y biodegradación del sustrato, comparándose estos con los obtenidos en pulpa de café. Se demuestra la efectividad de la fermentación en estado sólido al reducir más del 50 % de la materia orgánica de ambos sustratos en un mes aproximadamente.

La investigación concluye señalando que se logra obtener un sustrato remanente con características que le permiten ser utilizado como abono orgánico y alimento animal.

- (Baena, 2012) , obtuvo y caracterizó la fibra dietaria de la cascarilla de *Theobroma Cacao L.* procedente de una industria chocolatera colombiana, por tratamiento enzimático (α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa). La cascarilla presentó un 67.11% de fibra insoluble y 8,66% de fibra soluble y contiene un porcentaje de celulosa, Hemicelulosa y lignina de 17.39%, 6.38% y 32.40% respectivamente. Se evaluó las propiedades funcionales (capacidad de retención de agua, capacidad de absorción de moléculas orgánicas y capacidad de hinchamiento).
- En la Península de Paria (Venezuela), O. Crescente, (Crescente & al, 1999) analizaron químicamente las cáscaras de frutos de cacao provenientes de la Península de Paria, con la finalidad

de desarrollar técnicas y procedimientos que permitan la utilización comercial de estos desechos, y evaluar su posible uso en la elaboración de piensos para la alimentación de animales de corral.

Los análisis realizados (proteínas (8,69 %), grasas (1,40 %), materia orgánica (60,14 %) y minerales) revelan el uso potencial de estos desechos agrícolas en la elaboración de dietas para animales y como fertilizante orgánico de numerosos cultivos.

- El trabajo de (Aguavil, 2011) destaca el aprovechamiento de la placenta del cacao para la obtención de harina, con la que se logró elaborar galletas. Las mejores condiciones se dieron con el secado de la harina a 70 °C.

CAFÉ

- Para determinar las degradaciones y estabilidad del mucílago de café hasta su posible uso y disposición, G. Puerta y otros, (Puerta & Ríos, 2011) cuantificaron los contenidos de agua, cenizas, lípidos, proteínas, azúcares totales, azúcares reductores, fibra, alcohol, acidez total y el aporte calórico del material fresco, fermentado a temperatura promedio de 20,5°C y conservado en refrigeración, a 6,6°C, hasta por 74 horas. El mucílago fresco presentó entre 85% a 91% de agua y entre 6,2% y 7,4% de azúcares, constituidos por 63% de azúcares reductores. Durante la fermentación a temperatura ambiente, los azúcares totales y reductores del mucílago de café disminuyeron, aumentó la acidez, se formó el etanol y se degradaron los lípidos. En refrigeración estos cambios fueron más lentos y se retrasaron las fermentaciones alcohólica y láctica, y se conservaron hasta por 24 horas las características del mucílago de café.

- La invención de A. Vélez (Vélez & López, 2011) registrada en la patente WO2013088203 A1, se relaciona con un proceso para el aprovechamiento de los subproductos del café en la producción de proteínas, polifenoles, vitaminas y minerales, bajo procesos de concentración y conservación del mucílago y la pulpa (cáscara) para obtener miel y/o harina de pulpa (cáscara) del café. Estos subproductos pueden ser transformados industrialmente según su patente, para obtener consumo humano, animal, medicamentos, cosméticos o como materia prima para la producción de alcohol carburante (etanol).
- El Programa Regional del Medio Ambiente en Honduras, aprobó impulsar el diseño y validación de un prototipo para la producción de bioetanol, biogás y biofertilizantes a partir de desechos del beneficiado húmedo del café, como complemento ideal para cerrar el ciclo productivo de ecoempresas y mitigar los efectos medioambientales negativos de este rubro productivo. En este marco, N. Fernández, (Fernández, 2010) preparó un proyecto que abarca de manera integral, desde la etapa de beneficio del café hasta los detalles de construcción de la planta. Los balances de materia del proceso dan los siguientes resultados: Producción diaria de aproximadamente 500 litros de bioetanol/6250 litros de mucílago, 23 metros cúbicos de biogás/500 litros de bioetanol y 75 kilogramos de biofertilizantes/500 litros de bioetanol.
- El estudio realizado por (Rathinavelu & Graziosi, 2005) de la Universidad de Trieste – Italia, plantea muchos usos alternativos de los desechos del beneficio del café, a saber:

Pulpa. Los resultados generales de los estudios de alimentación realizados con cerdos indicaron que el grano de

cereales puede ser sustituido por pulpa deshidratada de café en hasta un 16% de la ración total, sin ningún efecto perjudicial con respecto al aumento de peso o a la conversión del pienso. Además de hacerse con cerdos, los experimentos de alimentación con pulpa de café se hicieron con peces, pollos, corderos y conejos. En esos experimentos de alimentación se determinó el aumento diario del peso corporal y se midieron la toma diaria de materia seca y la eficiencia de conversión de la alimentación.

Biogás del agua residual del café. La producción de CO₂ por la fermentación, hace posible la producción posterior de un biogás de metano altamente enriquecido que tiene únicamente la mitad del nivel habitual de CO₂ inerte. La mejor manera de usar el biogás que se produce es haciendo funcionar con él un motor para generar electricidad, y todo el calor residual de grado más bajo proveniente de la refrigeración y el escape puede todavía usarse para secar café.

Cáscara de café como combustible. La cáscara del café es prácticamente pura lignocelulosa y no tiene ningún valor como fertilizante. Puede quemarse la cáscara en un generador de gas pobre y después accionar un motor sobre ese gas pobre para producir electricidad. Al igual que con el biogás, el calor residual procedente del generador de gas y del motor puede usarse para calentar una corriente de aire limpio, y eso puede todavía usarse para secar aún más café.

- Una investigación para producir alcohol a partir del despulpado del café sin agua, ha sido publicado por N. Rodríguez (Rodríguez, 2013). En su investigación la hidrólisis ácida se realizó con ácido sulfúrico concentrado, la hidrólisis alcalina

con hidróxido de sodio al 32%, la hidrólisis enzimática con celulasas y pectinasas comerciales. Se evaluó el pH, porcentaje de humedad y °Brix, en la pulpa y en las muestras finales de alcohol rectificado y deshidratado se determinaron los contenidos de alcohol y congéneres. El análisis de varianza mostró efecto de la interacción hidrólisis-inóculo en los rendimientos de alcohol y en el pH, °Brix y gravedad específica. La prueba de contraste al 5% mostró que los tratamientos con mayor rendimiento en la producción de alcohol fueron aquellos que involucraron la hidrólisis enzimática con celulasa (22,12 mL.kg⁻¹ de pulpa fresca), seguida de la hidrólisis enzimática con celulasa-pectinasa (20,96 mL.kg⁻¹ de pulpa fresca) y los tratamientos sin hidrólisis con levaduras comerciales (18,30 mL.kg⁻¹ de pulpa fresca). Los mayores contenidos de etanol se alcanzaron en los tratamientos: con hidrólisis enzimática con celulasas (97,78%), sin hidrólisis (96,92%), con hidrólisis enzimática utilizando celulasas y pectinasas (95,76%), con hidrólisis alcalina (95,59%) y con hidrólisis ácida (93,97%).

- (Armas, Corneja, & Murcia, 2008) analizan cuantitativamente el efecto nocivo al medio ambiente del manejo del beneficio del café y proponen alternativas para el aprovechamiento en parte de la pulpa principalmente. Este subproducto abundante, sólido y húmedo que contiene alrededor de 86% de agua, representa aproximadamente el 39% del fruto de café. Jaquet (1993). La pulpa de café está compuesta por el epicarpio y parte del mesocarpio del fruto. La pulpa contiene –entre otros componentes- cantidades importantes de cafeína la cual representa cerca del 1.3% de su peso seco. El 90% de la contaminación generada en el proceso de beneficiado del café es provocado por la pulpa, en términos de DQO, por cada

kilogramo de café pergamino seco se obtiene una carga contaminante de 0.57 Kg. DQO y de 0.27 Kg. de SST. Considerando la cantidad de pulpa generada en cada una de las regiones del país se ha determinado la carga contaminante expresada en Kg. DQO que el proyecto lograría disminuir con su implementación. Dicha contaminación se reduciría en un 20% en el primer año de operaciones de la planta ya que el proyecto comenzará la producción de abono orgánico con una cantidad equivalente al 20% de la pulpa de café disponible.

- La optimización del proceso de compostaje de productos post cosecha del café con aplicación de microorganismos nativos, es un trabajo realizado por (Vázquez, Prada, & M., 2010). El manejo adecuado de los desechos del café, evitaría considerablemente los problemas ambientales de contaminación de fuentes hídricas. La alternativa propuesta es la utilización de la cereza para la producción de abono orgánico, reduciendo los costos de producción. Este estudio tiene como objetivo disminuir el tiempo de compostaje de la cereza del café utilizando 3 consorcios bacterianos de cepas aisladas de la cereza, a través de la bio-aumentación.

En estos estudios se obtuvo compost que cumple con los parámetros exigidos por la NTC 5167 del 2004 y la resolución 00150 de enero de 2003 del ICA en 40 días.

Se observaron diferencias significativas entre la biopila testigo en los parámetros fisicoquímicos y los obtenidos en la pruebas bajo tratamiento con los consorcios bacterianos en 40 días, pH ($P= 0,00552$), en cuanto a la relación C/N ($P= 0,00197$) demostrando una madurez a los 40 días del estudio, Potasio ($P= 0,01213$), Fosforo total ($P= 0,09547$), Hierro total ($P= 0,04502$), Nitrógeno orgánico ($P= 0,00421$) elementos de gran

importancia que contribuyen al desarrollo radicular y crecimiento de las plantas.

- La fabricación de papel empleando la cascarilla de café como materia prima, fue el trabajo experimental presentado por (COFEEA, 2008). Ellos obtuvieron dos muestras de hoja de papel a partir de la cascarilla del café. Una siguió el proceso de oxidación lenta con el sulfito de sodio, además de agregarle unas gotas de hipoclorito de sodio para favorecer el blanqueado. El resultado fue una muestra de coloración verde y muy frágil, pues al sacarla del tamiz después de haber sido secada se rompió. La segunda muestra siguió el proceso de oxidación rápida con el hipoclorito de sodio y é resultó ser más satisfactoria, obteniendo una hoja de coloración amarillo claro y lográndola sacar del tamiz en su mayoría completa.
- El empleo de la pulpa de café como abono orgánico del suelo, para devolver al cafetal un porcentaje importante de nutrientes, necesarios para su óptimo desarrollo y producción, es el trabajo realizado por Palacios y otros, (Palacios & al, 2007). Ellos concluyen que este abono estaría logrando mejorar la estructura del suelo, haciéndola más porosa, ayudando con esto en la aireación de las raíces, que se manifiesta con una mayor retención de humedad. Además se incrementa la actividad microbiana, colabora con la fertilidad potencial del suelo, reduce costos de producción al no utilizar fertilizantes químicos y disminuye problemas de nematodos. Por lo tanto, al utilizar la pulpa de café como abono orgánico, además de darle una utilidad como fertilizante, disminuimos la contaminación de las fuentes hídricas y con ellas evitamos seguir deteriorando nuestro medio ambiente, evitando la degradación del suelo y un daño a la salud de los seres vivos.

- Otra investigación interesante es el aprovechamiento de la pulpa de café como fuente de antioxidantes, es la presentada por V. López, (López & at, 2014) que en su estudio, manifiestan que en el proceso de la obtención del grano de café, tan sólo en México se generan 182 millones de toneladas de residuos de pulpa por año, de las cuales sólo se aprovecha un pequeño porcentaje para la obtención de combustible, fertilizantes, alimento para ganado y cultivo de hongos comestibles, entre otros productos.

La pulpa de café es rica en nutrimentos, pero también contiene compuestos como cafeína y polifenoles, los cuales impiden el uso intensivo de este subproducto. Por ello la alta generación del subproducto en las regiones procesadoras del fruto de café representa un contaminante, especialmente para ríos y lagos, donde es vertido directamente después del proceso de la obtención del grano de café.

Por la presencia de carbohidratos, proteínas y compuestos fenólicos en la pulpa de café, se han iniciado proyectos para su aprovechamiento, ya que a estos últimos se les han atribuido capacidades antioxidantes y antimicrobianas.

- B. Castaño, (Castaño, 1999) realizó un estudio microbiológico y físico-químico de la pulpa de café, sola y mezclada con mucílago, en tres estados: fresca, con dos meses de almacenamiento en pilas y luego de su transformación por la lombriz *Eisenia foetida*, con el fin de conocer su valor potencial como fertilizante biológico.

La pulpa y el mucílago presentan alta riqueza microbiana, principalmente en bacterias y levaduras.

En el lombricompuesto de pulpa sola, se identificaron 11 géneros de bacterias, 5 géneros de hongos y 2 géneros de actinomicetos. En el lombricompuesto de pulpa mezclada con mucílago se encontraron 14 géneros de bacterias, 5 de hongos, 2 de levaduras y 3 géneros de actinomicetos.

En el lombricompuesto de pulpa mezclada con mucílago se encontraron 14 géneros de bacterias, 5 de hongos, 2 de levaduras y 3 géneros de actinomicetos. El lombricompuesto obtenido de pulpa sola presentó mayores porcentajes de materia orgánica y minerales.

- Un detallado estudio para determinar la magnitud y calidad de los desechos sólidos y líquidos emanados por el beneficiado del café por vía húmeda fue realizado por L. Molina, (Molina, 1999). El proceso del beneficiado del café, desprende poco menos del 60 % del peso del fruto del café como desechos (40 % de pulpa y 18 % de mucílago), que se convierten en contaminantes si no son adecuadamente dispuestos o tratados. El estudio concluyó que la mitad de los beneficios estudiados, no aprovechan la pulpa. Solo dos beneficios practican el compostaje, dos aprovechan la pulpa como combustible y uno lo dedica a la lombricultura.
- En las zonas productoras de café, los desechos de esta actividad son arrojados a los cursos de agua y/o terrenos agrícolas, sin tratamiento alguno, ya que el productor no cuenta con alternativas de uso, causando graves problemas de contaminación. Planificar el desarrollo agropecuario tomando en cuenta la dimensión social y cultural del productor y el medio ambiente, es una necesidad impostergable. En el contexto del enfoque de la investigación participativa, el trabajo de (Chinappi & Jeréz, 2008) pretende sensibilizar a

instituciones involucradas en la extensión rural y a los productores de café, en la implementación del biogás como fuente de energía alterna en la producción cafetalera, y al mismo tiempo dar respuesta al problema ambiental que representa la pulpa de café en los Andes venezolanos.

- O. Romero y Hernández, (Romero & Hernández, 2013) hicieron un estudio evaluar la producción de la cepa CP-50 de *Pleurotus ostreatus* en residuos de bagazo de café deshidratado (*Coffea arabica*) en contraste con otros sustratos agrícolas del Municipio de Tetela de Ocampo- Puebla. El bagazo de café fue colectado en la zona de Cuahutempan, Puebla-México. La cepa CP-50 demostró un adecuado crecimiento de aéreas miceliales sobre el sustrato de bagazo de café deshidratado con una tasa de producción de $1,5 \pm 0,2\%$. La mayor eficiencia biológica (EB) se obtuvo en el sustrato paja de trigo, con $119,24 \pm 7,1\%$, el sustrato de bagazo de café deshidratado con $109,03 \pm 0,4\%$ y el rastrojo de maíz obtuvo la EB más baja de $77,47 \pm 0,2\%$.
- (Bravo B. , 2009) El aislamiento, selección, producción de biomasa y preservación de cepas ácido lácticas a partir de residuos del café es el trabajo realizado por (Bravo B. , 2009).

2.3 Métodos de análisis avanzados

Técnicas de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa CG-EM, Cromatografía líquida de alta resolución HPLC, espectrometría de absorción atómica AAS, serán los métodos de análisis avanzados que, se emplearán para la caracterización química de los residuos de cacao y café, en la presente propuesta.

2.3.1 Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa GC-MS

La Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC/MS, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica dedicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles. La separación de dichas sustancias depende de la diferente distribución de las sustancias estudiadas entre las fases móvil y estacionaria que conforman el sistema. Una vez separadas las sustancias son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación, el cual puede ser comparado con información contenida en una base de datos de espectros de masas para su identificación preliminar. La identificación definitiva, así como la cuantificación de cada sustancia debe hacerse mediante el empleo de sustancia de referencia (Universidad.Veracruzana, 2015).

La cromatografía de gases en la actualidad es ampliamente empleada por su gran capacidad de separación y su alta sensibilidad al momento de analizar compuestos de bajo peso molecular.

La cromatografía de gases y espectrometría de masas son en muchos sentidos, técnicas altamente compatibles, en cuyo análisis utilizan la misma cantidad de muestra (Hites, 1997).

Derivatización en Cromatografía

En cromatografía es preferible separar y detectar compuestos en su estado nativo. Sin embargo, ciertos compuestos pueden ser inestables a ciertas temperaturas o no poseen un cromóforo detectable para la detección ultravioleta en el HPLC. En este estudio, se precisó por su naturaleza polar, derivatizar muestras liofilizadas de los lixiviados de café y cacao para su correspondiente caracterización química por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de

masas (CG-EM), con el objetivo de cambiar las propiedades físicas y químicas de los analitos y aumentar la estabilidad térmica de los compuestos que podrían no ser detectados o adecuados en el análisis de cromatografía de gases (Hites, 1997).

2.3.2 Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC

Otro método analítico utilizado fue la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ampliamente aceptada y usada como técnica de separación purificación y análisis de diferentes compuestos en diversas áreas incluyendo la farmacéutica, biotecnológica, ambiental, polímeros e industria de alimentos (Hites, 1997).

Esta técnica fue usada para analizar la composición porcentual de los principales glucósidos presentes en los lixiviados de café y cacao, expresados como; Glucosa, fructosa, Sacarosa y maltosa. Estudios se han realizado anteriormente en la pulpa de cacao mediante métodos colorimétricos y electroforesis capilar por (Romero & Zambrano, 2012).

2.3.3 Espectrometría de Absorción Atómica AAS

El análisis de los micro elementos presentes en las muestras, se realizó por espectrometría de absorción atómica (AAS) que es ampliamente usada y aceptada por ser una técnica capaz de determinar niveles de trazas (ug/ml) y ultratrazas (sub-ug/ml) de elementos o metales en una amplia variedad de muestras, incluyendo muestras biológicas, clínicas, ambientales, alimenticias, hasta muestras geológicas, con una buena exactitud y precisión. Podría decirse que ésta es la técnica predominante en análisis elemental aunque tenga algunas limitaciones (Hites, 1997). Los análisis se los realizo a los lixiviados de café y cacao para cuantificar la presencia de los micro nutrientes Mg, Na, Fe, K, Ca y estudiar así junto con el

contenido de nitrógeno realizado por kjeldahl las características químicas del medio para el desarrollo de microorganismos *saccharomyces cerevisiae* usadas en los procesos de fermentación alcohólica.

Estudios similares se han realizado en ambas especies según lo reportado por (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2003) para el café y (Ohene Afoakwa, 2014) en el caso del cacao.

2.4 Planteamiento del problema

Los volúmenes promedio de producción de cacao y café en nuestro país correspondientes a los últimos cuatro años, con base a los reportes de las Asociaciones Nacionales de Exportadores de esos productos han tenido un incremento sostenido. En el 2014 la producción total de cacao fue de 240.000 toneladas, de las cuales 230.000 toneladas fueron de exportación (ANDES, 2014). Ecuador desplazó del quinto lugar a Camerún (África) y por segundo año consecutivo, avanzó posiciones en el mercado global de exportaciones, pues ya en el 2013 había superado a Brasil, uno de los productores más fuertes de América Latina.

En el caso del café, la Asociación Nacional de Exportadores de Café, (ANECAFÉ) indica que el país exportó 1.131.190,84 sacos de 60kg (67.871 TM) de café. (ANECAFE, 2014). Estas cifras de producción de granos secos como materias primas para su industrialización, representan en promedio el 10 % y 20 % respectivamente del total de la materia cosechada (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015). Esto significa, que el 90% de la cosecha del cacao y el 80 % de la cosecha del café en base húmeda, constituyen residuos agrícolas y agroindustriales, que tienen un mínimo aprovechamiento en nuestro país.

De esas considerables cantidades de desechos, los lixiviados constituyen para el caso del cacao, entre el 40 % al 50 % del peso del grano seco y para el café, del 15,5 % al 22,0 % del peso del fruto (Puerta & Ríos, 2011).

Estos autores además informan que, en base húmeda, el lixiviado de café está constituido por: 8,55 % de carbohidratos, 0,93 % de proteínas, 0,12 % de lípidos, 0,17 % de ácidos orgánicos, 0,12 % de alcohol y entre el 81 y 91 % de agua. En cuanto al beneficio del café por vía húmeda, que es el método más frecuentemente usado, se emplean grandes volúmenes de agua limpia y se contaminan cantidades equivalentes de ella.

De acuerdo con el Manual del Cafetero Colombiano – CENICAFÉ- en el lavado y clasificación se consumen en promedio 20 litros de agua limpia por Kilogramo de café pergamino seco e igual volumen en el despulpado y transporte (Zuloaga & ZAmbrano, 1993).

La pulpa del café es el desecho más importante del beneficiado, pues representa aproximadamente del peso total del fruto fresco, alrededor del 40% (López & Castlo, 2011), 42% (Gómez & Adalid, 2006) y de 43.58% (Montilla, 2006). Su poder contaminante es muy alto al separarla por vía húmeda, debido a su composición química. Ver Cuadro 2.1

Se indica además, que por cada millón de sacos de 60 kg de café almendra producido (300.000 toneladas de fruto fresco) se generan, 120.000 toneladas de pulpa fresca, la cual si no se utiliza adecuadamente produciría una contaminación equivalente a la generada durante un año, en excretas y orina, por una población de 868 736 habitantes en términos de DBO (Rodriguez, 2009) (Tesis doctoral).

Tabla 2.1. Composición química de la pulpa de café.

Compuesto	Base seca (%)
Taninos	1,8 a 8,56
Sustancias péctidas totales	6,5
Azúcares reductores	12,4
Azúcares no reductores	2,0
Cafeína	1,3
Ácido clorogénico	2,6
Ácido cafeico total	1,6
Celulosa	27,6

Fuente: (Elías, 1978).

Tradicionalmente la pulpa del café que resulta del beneficio ha sido depositada a las corrientes de agua, lo que genera un aumento considerable de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), aumento de la carga de sólidos totales, incremento en la temperatura del agua, generación de olores y pérdida paisajística.

Se trata de una forma de contaminación severa del agua que se da en las épocas de cosecha y que imposibilita su aprovechamiento para acueductos, afecta la fauna acuática y limita los usos recreativos.

Otro importante subproducto del beneficio del café es el mucílago. El mucílago de café se genera en la etapa del desmucilaginado y según algunos investigadores representa entre el 14 % y 16 % del peso del fruto fresco de café (Gómez & Adalid,

2006) y (Montilla, 2006). En términos de volumen, por cada kg de café cereza se producen 91 ml de mucílago puro (Zambrano, 1994).

El mucílago es uno de los residuos que genera una altísima contaminación; en promedio por cada millón de sacos de 60 kg de café almendra, se generan 50.000 toneladas métricas de mucílago fresco que, si no se utiliza adecuadamente, produciría una contaminación equivalente a la generada durante un año, por excretas y orina, de una población de 310 000 habitantes en términos de DBO (Rodríguez, 2009) (Tesis doctoral).

La contaminación ocasionada por la industria cafetalera en el proceso de beneficio húmedo, constituye un serio problema en los países productores de café. Sotolongo J, junto a otros investigadores (Sotolongo & al, 2000) presentan un informe detallado (y muy preocupante) de los principales impactos detectados en la provincia de Guantánamo – Cuba, por los residuales del proceso del beneficiado húmedo del café, a saber:

- Creación de aguas ácidas ($\text{pH} < 7$)
- Malos olores
- Aguas coloreadas, de aspecto estético desagradable.
- Imposibilidad del uso del agua para consumo humano, la ganadería e irrigación.
- Destrucción de ecosistemas acuáticos.
- Afectación de los suelos irrigados por esta agua– Elevación del % de metano en el agua. –
- Modificaciones paisajísticas. – Aumento de la concentración de Ca, K, Mg y P en el agua.
- Aumento de la carga orgánica y del consumo de O_2 en el agua. – Sólidos en suspensión.

- Aumento de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) por encima de 2 500 y 3 000 mg/L respectivamente.

El vertido directo a los cuerpos de agua de los desechos del beneficio del café sin ningún tratamiento, perjudica directamente la flora y fauna acuática, alterando el equilibrio biológico y proliferando la fauna nociva con alto potencial de ser vector de enfermedades (Galindo, 1998).

Con base a las cifras que manifiestan las investigaciones sobre la generación de pulpa y mucílago de café, en comparación con los volúmenes de café pergamino seco producido, que para Ecuador en el 2014 fue de 1.131.000 sacos de 60 Kg, la contaminación que originaron esos residuos es realmente alarmante en términos de DBO y DQO. En la Norma Técnica, (INEN, 1998) (Instituto Ecuatoriano de Normalización), los máximos valores permitidos son:

Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes: Recurso agua

Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D B O ₅ .	mg/l	250
Demanda Química de Oxígeno	D Q O	mg/l	500

Fuente: INEN - 1998

Los lixiviados del café principalmente, desbordan con creces esas cifras, constituyendo un severo impacto ambiental, como ya lo han reportado las investigaciones citadas.

Esta evidente realidad de daño ambiental, que producen los lixiviados del café principalmente, más las esperanzadoras

alternativas como fuentes de energía renovables de segunda generación que ofrecen la biomasa residual del beneficio del cacao y café, constituyen los puntos centrales de análisis y discusión, que la presente investigación aspira a determinar su magnitud cualitativa y cuantitativa.

2.5 Justificación de la investigación

En nuestro país, los estudios para el aprovechamiento final de los desechos agrícolas del cacao y café, han sido escasos y fundamentalmente no han tenido una rigurosa investigación de sus características químicas – biológicas, que permitan determinar el valor real de los residuos que se desechan como resultado de los procesos de beneficios de estos productos.

Este trabajo se propone investigar en amplio espectro y empleando técnicas modernas de análisis instrumental, las características fisicoquímicas y biológicas de los desechos agrícolas y agroindustriales del cacao y café, para evaluar el potencial valor agregado que poseen como fuentes de energías limpias de segunda generación.

De igual manera, el estudio determinará que estas considerables cifras de desperdicios agrícolas y agroindustriales, al no tener un aprovechado uso de aplicación, se convierten en peligrosos contaminantes ambientales, al ser vertidos sin ningún tratamiento previo a los terrenos agrícolas, manantiales, ríos y quebradas.

El estado actual de la situación del manejo de esos desechos, nos brinda la oportunidad de aportar al país con un estudio serio y riguroso, que va a servir de base a las Instituciones del estado y empresas privadas, como una guía documentada, para estudios posteriores de investigación socio económica, que permitan

desarrollar proyectos agroindustriales que vayan en beneficio del medio ambiente y mejoramiento de la calidad de vida de las poblaciones afincadas en las áreas de cultivo y cosecha de estos dos productos agrícolas emblemáticos de nuestro país y con reconocido prestigio internacional.

Las cifras mostradas anteriormente como volúmenes de desechos agrícolas del cacao y café y la confirmada identificación de muchos estudios anteriores, a más del presente, de que los lixiviados obtenidos del beneficio de esos productos, presentan cantidades considerables de materiales orgánicos como carbohidratos y azúcares, que pueden ser transformados en alcoholes, justifican una investigación que determine cualitativa y cuantitativamente, el aprovechamiento de esa biomasa residual como potenciales fuentes de energías limpias de segunda generación.

La presente investigación está en concordancia con el marco Constitucional y legal del Ecuador sobre energías renovables, que procura establecer políticas, estrategias, proyectos y acciones, tendientes a aplicar planes y programas de uso eficiente de estas formas de energía en todo el país. El objetivo de las políticas sobre energías renovables, procura incluir a estas formas de energía, como fundamentales en el cambio de la matriz productiva del país, sustentado en el aprovechamiento de sus recursos renovables.

En este ámbito, la Constitución de la República del Ecuador, tiene algunos artículos especialmente consagrados a este campo, que han dado origen a leyes muy importantes sobre gestión ambiental, soberanía alimentaria y soberanía energética, que el Estado está obligado a cumplir y hacerlas cumplir. Veamos lo que dicen nuestra Constitución y leyes vigentes en todo el territorio nacional, sobre estos importantes campos del buen vivir:

Constitución de la República del Ecuador. (R.O., 2008)

“Artículo 15.- El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.”

“Artículo 313.- El Estado se reserva el derecho de administrar, regular, controlar y gestionar los sectores estratégicos, de conformidad con los principios de sostenibilidad ambiental, precaución, prevención y eficiencia.”

“Artículo 395.- la Constitución reconoce los siguientes principios ambientales:

2. Las políticas de gestión ambiental se aplicarán de manera transversal y serán de obligatorio cumplimiento por parte del Estado en todos sus niveles y por todas las personas naturales o jurídicas en el territorio nacional.

“Artículo 396.- El Estado adoptará las políticas y medidas oportunas que eviten los impactos ambientales negativos, cuando exista certidumbre de daño. En caso de duda sobre el impacto ambiental de alguna acción u omisión, aunque no exista evidencia científica del daño. El Estado adoptará medidas protectoras eficaces y oportunas”.

“Artículo 413.- El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua”.

“Artículo 414.- El estado adoptará medidas adecuadas y transversales para la mitigación del cambio climático, mediante la limitación de las emisiones de gases de efecto invernadero, de la deforestación y de la contaminación atmosférica; tomará medidas para la conservación de los bosques y la vegetación y protegerá a la población en riesgo”.

“Artículo 415.- El Estado central y los gobiernos autónomos descentralizados adoptarán políticas integrales y participativas de ordenamiento territorial urbano y de uso del suelo, que permitan regular el crecimiento urbano, el manejo de la fauna urbana e incentiven el establecimiento de zonas verdes. Los gobiernos autónomos descentralizados desarrollarán programas de uso racional del agua, y de reducción reciclaje y tratamiento adecuado de desechos sólidos y líquidos.

El Plan Nacional de Desarrollo del Gobierno Nacional, denominado: “Plan Nacional del Buen Vivir 2009-2013”, establece objetivos y políticas para el desarrollo de las energías renovables, tales como:

“Objetivo 4: Garantizar los derechos de la naturaleza y promover un ambiente sano y sustentable”.

“Política 4.3: Diversificar la matriz energética nacional, promoviendo la eficiencia y una mayor participación de energías renovables sostenibles”.

El Ministerio de Electricidad y Energías Renovables (MEER, 2008) ha publicado las “Políticas Energéticas del Ecuador 2008 – 2020”, donde destacan las políticas de Estado relacionadas con las energías renovables entre ellas se destacan las siguientes:

“c) Impulsar un modelo de desarrollo energético con tecnologías ambientalmente amigables;”

“d) Formular y llevar adelante un Plan Energético Nacional, que defina la expansión optimizada del sector en el marco de un desarrollo sostenible;”

“f) Promover el desarrollo sustentable de los recursos energéticos e impulsar proyectos con fuentes de generación renovable (hidroeléctrica, geotérmica, solar y eólica) y de nueva generación eléctrica eficiente, incluyendo la nuclear y excluyendo la generación con base en el uso del diesel;”

n) Reducir el consumo de combustibles en el transporte mediante la sustitución por gas natural comprimido – GNC, electricidad y la introducción de tecnologías híbridas.”

Leyes específicas vigentes para la promoción y desarrollo de las energías renovables en el sector eléctrico como la Ley de Régimen del Sector Eléctrico (LRSE) R.O.S. 43 del 10 de Octubre de 1996, indica que el Estado se compromete a fomentar el desarrollo y uso de los recursos energéticos renovables no convencionales, para incentivar la producción energética basada en energía renovable como solar, eólica, geotérmica, biomasa, etc. (Sánchez, 2013).

Como podemos observar, hay una gran legislación en el campo de las energías renovables, medio ambiente y seguridad alimentaria, que el estado ecuatoriano con base a su norma suprema, genera e impulsa políticas energéticas que conducen a la investigación y desarrollo de formas de energías limpias, respetando en todo momento el medio ambiente, favoreciendo con ello la generación de conocimiento para el aprovechamiento de sus recursos naturales, incluyendo la biomasa residual de las faenas agrícolas.

El Gobierno Central a través de sus organismos técnicos respectivos, desarrolla políticas sectoriales para el aprovechamiento eficiente de los recursos de la Nación, en el cambio de la matriz energética, mediante el empleo y desarrollo de tecnologías limpias, que aseguren la eficiencia energética del país y procuren el bienestar a sus habitantes.

Con todo este marco jurídico favorable para la investigación y desarrollo de nuevas fuentes de energías renovables, el presente trabajo se ubica exactamente en los postulados de la Constitución y la ley, al aportar significativamente en la determinación de materiales orgánicos provenientes de la biomasa residual del cacao y café, que pueden ser convertidos en alcoholes.

Estos alcoholes obtenidos pueden ser mezclados con naftas importadas para producir combustibles ecológicos para el transporte, favoreciendo con ello de manera considerable al aprovechamiento con valor agregado de esos residuos agrícolas y reduciendo significativamente las emisiones de gases de efecto invernadero y anulando la contaminación que producen esos lixiviados al ser vertidos directamente al suelo y fuentes de agua, lo cual es un enorme beneficio para el medio ambiente.

Finalmente, el desarrollo de proyectos agroindustriales alrededor del aprovechamiento de esos residuos agrícolas, traerá sin duda alguna un enorme beneficio socio económico para los agricultores y sus familias, logrando con ello otro de los objetivos señalados en la Constitución y la ley.

Consideramos que las conclusiones del estudio, serán un aporte importante al conocimiento sobre las características físico – químicas y biológicas que poseen estos desechos agrícolas, como fuentes de generación de bioetanol.

2.6. Hipótesis

Los lixiviados de café y cacao, considerados residuos agroindustriales, poseen características físico-químicas óptimas para potenciar su utilidad como biocombustibles de segunda generación (bioetanol).

2.7. Objetivos

2.7.1. Objetivo general

Caracterizar las propiedades físico – químicas de los lixiviados del cacao y café del Litoral ecuatoriano, mediante el empleo de técnicas modernas de análisis Instrumental, con el propósito de impulsar su potencial desarrollo como biocombustibles de segunda generación.

2.7.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar macromorfológicamente los frutos del café y cacao y sus lixiviados.
2. Identificar por Tamizaje Fitoquímico, los metabolitos secundarios presentes en los lixiviados.
3. Determinar el contenido de azúcares totales y azúcares reductores y cuantificar por Cromatografía de fase líquida de alta resolución HPLC, el perfil de azúcares de los lixiviados de cacao y café.

4. Identificar por CG-EM los monosacáridos y disacáridos obtenidos del beneficiado de cacao y café.
5. Cuantificar, mediante espectrometría de absorción atómica, los micro elementos presentes.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

CAPÍTULO 3

Metodología de la investigación

- 3.1. Metodología de la investigación
- 3.2. Recolección y selección del material vegetal
- 3.3. Evaluación macromorfológica de los frutos de café y mazorca de cacao
- 3.4. Obtención de lixiviados de café y cacao
 - 3.4.1 Obtención de lixiviados de cacao
 - 3.4.2 Obtención de lixiviados de café
- 3.5. Análisis físico-químicos
 - 3.5.1 Tamizaje fitoquímico
- 3.6. Preparación y deshidratación de las muestras
- 3.7. Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas
 - 3.7.1 Silanización de muestras deshidratadas
 - 3.7.2 Análisis cromatográfico
- 3.8. Absorción Atómica
 - 3.8.1 Digestión de la muestra
 - 3.8.2 Lectura en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica

3.1. Metodología de la investigación

El trabajo investigativo experimental se realizó en las instalaciones del LABORATORIO DE BIOPRODUCTOS DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL ECUADOR (CIBE), perteneciente a la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), en el Campus "Gustavo Galindo" de la ciudad de Guayaquil, Ecuador.

3.2. Recolección y selección del material vegetal

Los materiales vegetales utilizados fueron de las especies, *Theobroma cacao L.* de la variedad CCN-51 y *Coffea canephora L.*, de la variedad sarchimor, ambos recolectados entre los meses de Septiembre y Octubre de 2015 en las Provincias de Los Ríos, Guayas y Manabí, como se describe en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1.- Ubicación geográfica de las provincias en las que se recolectaron las muestras vegetales.

Especie	Provincia	Cantón	Coordenadas	msnm
Theobroma cacao L.	Los Ríos	Mocache	1°11'07,26"S 79°30'23,71"O	34
	Guayas	San Francisco de Milagro	2°08'05"S 79°35'14"O	11
Coffea canephora L.	Guayas	General Antonio Elizalde	2°12'16.34"S 79°10'29.75" O	255
	Manabí	Jipijapa	1°09'01.72"S 80°16'56.41" O	380

Elaborado por: Autor, 2015

Según el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología del Ecuador (INAMHI) en los meses de recolección de las muestras hubo déficit hídrico consecutivo, lo que significó que el gasto por efecto de la evapotranspiración y necesidades hídricas no fueran cubiertas para que haya un desarrollado normal de las plantaciones (INAMHI, 2015).

Las mazorcas de cacao fueron recolectadas al azar por la mañana, acompañando a los agricultores en sus faenas de cosecha rutinaria. Las muestras tomadas no tenían presencia aparente de patógenos como: escoba de bruja, monilla, o *Phytophthora*, principales enfermedades presentes en el cacao. La cosecha se almacenó en sacos de polipropileno con una temperatura promedio de bulbo seco del aire de 26°C en ambas Provincias. En esas condiciones las muestras fueron trasladadas a los laboratorios del CIBE.



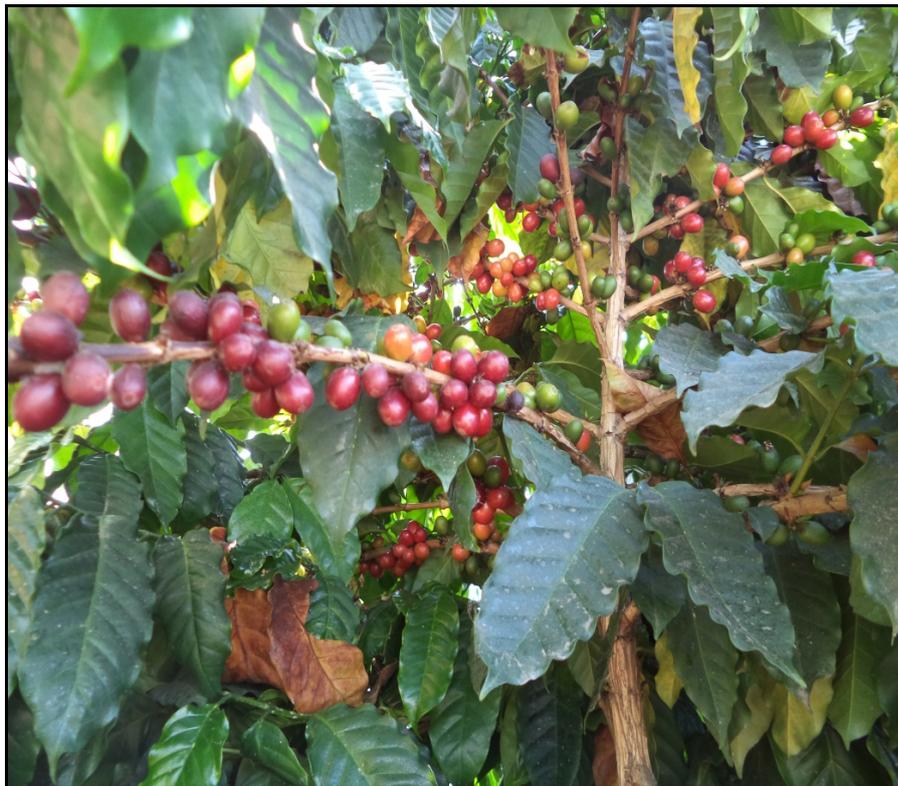
Fotografía: Mazorcas de cacao



Fotografía: Mazorcas de cacao recolectadas

El café fue recolectado según el método PICKING, que consiste en recoger solo las cerezas maduras (de color vino o similares) de forma manual una a una. Al igual que con el cacao, se acompañó a los agricultores en cosechas realizadas por la mañana.

Las cerezas (frutos maduros de café) fueron recolectadas en tachos plásticos y luego colocadas en bolsas de papel para su posterior traslado al laboratorio, la temperatura de bulbo seco promedio del aire fue de 28°C en la provincia del Guayas y 25°C en la provincia de Manabí.



Fotografías: Planta de Coffea canephora, variedad Sarchimor.



Fotografía: Café cereza donde se observan cerezas maduras

3.3. Evaluación macromorfológica de los frutos de café y mazorca de cacao

Para realizar las evaluaciones macromorfológicas, se procedió a diferenciar las partes de la mazorca de cacao y fruto de café, como se detallan en las Imágenes 3.1 y 3.2.

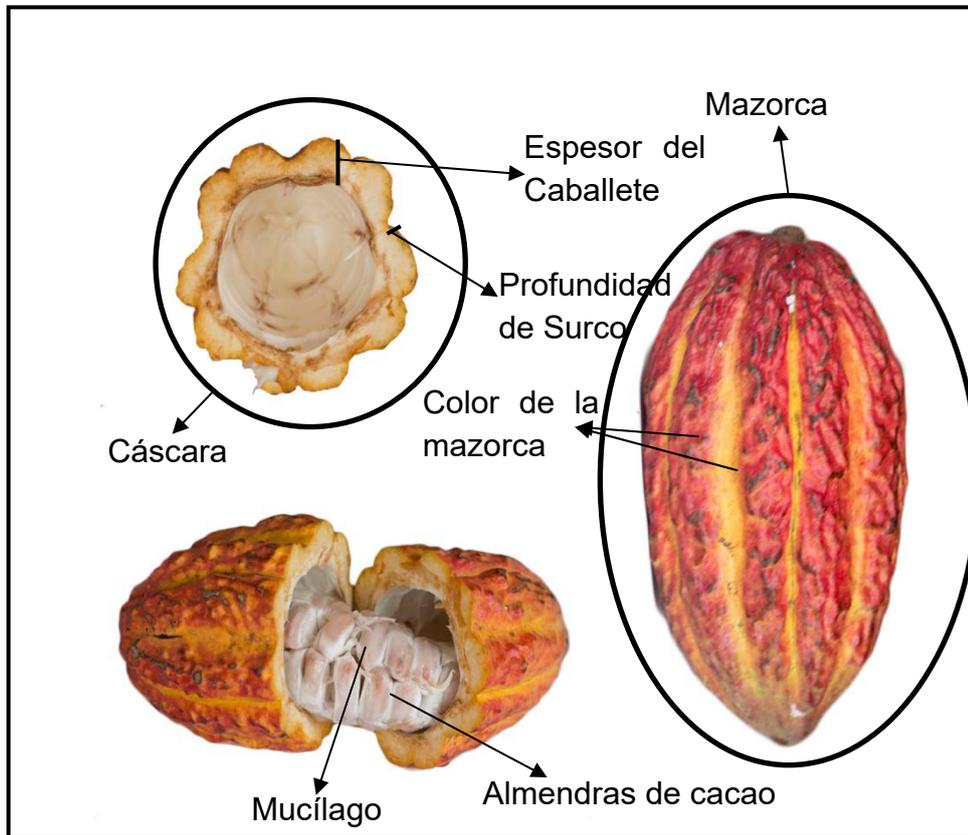


Figura 3.1. Partes medidas, pesadas y observadas en las mazorcas de cacao.
Elaborado por: Autor, 2015

El propósito de la evaluación es reportar su forma, así como los pesos asociados a sus partes, que nos permitirán evaluar el rendimiento de los lixiviados en ambos frutos y conocer el estado en el cual fueron recolectados.

Los parámetros evaluados se muestran en la Tabla 3.2 donde se consideró la parte externa e interna de los frutos

Las partes del fruto del café se detallan en la Imagen 3.2.

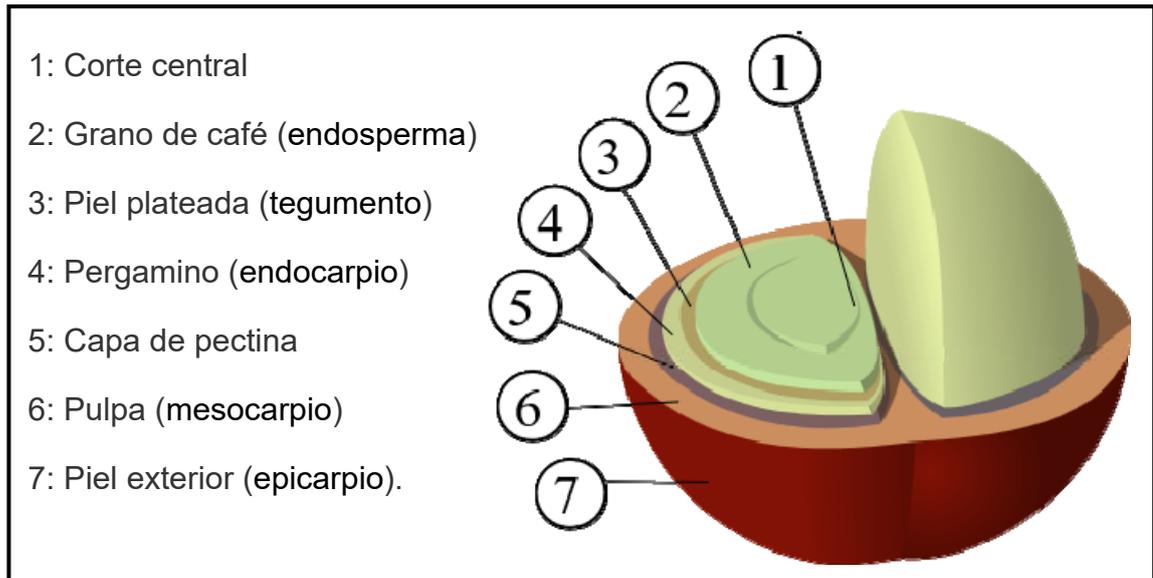


Imagen 3.2: Partes del fruto y del grano de un cafeto²
 Elaborado por el autor

Tabla 3.2.- Mediciones tomadas a la mazorca de cacao y cerezas de café

	Unidad de medida	Unidad	Instrumento de medición	Observación
Coffea canephora L.	Color más representativo		MUNSELL, Color charts for plant tissues	Se seleccionaron 340 frutos de café de diferentes localidades del cantón General Antonio Elizalde de la provincia del Guayas
	Diámetro ecuatorial	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	
	Diámetro polar	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	

² Disponible en: https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3ACoffee_Bean_Structure.svg

Tabla 3.2.-Continuación

	Unidad de medida	Unidad	Instrumento de medición	Observación
Theobroma cacao L.	Diámetro polar	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	Se recolectaron 210 mazorcas de varias localidades de la provincia del Guayas, cantón San Francisco de Milagro, de los cuales se obtuvo un total de 986 almendras.
	Perímetro ecuatorial	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	
	Color más representativo		MUNSELL, Color charts for plant tissues	
	Espesor de Caballete	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	
	Profundidad de surco	cm	Vernier (marca Chicago Brand)	
	Peso de mazorca	g	Balanza analítica modelo AB240-S marca METLER TOLEDO	
	Peso de cáscara	g	Balanza analítica modelo AB240-S marca METLER TOLEDO	
	Peso de semilla húmeda	g	Balanza analítica modelo AB240-S marca METLER TOLEDO	
	Peso de placenta húmeda	g	Balanza analítica modelo AB240-S marca METLER TOLEDO	

Elaborado por: Autor, 2015

3.4. Obtención de lixiviados de café y cacao

Con base a la práctica común de los agricultores del litoral ecuatoriano, se replicaron las condiciones de campo para la obtención de los lixiviados de café y cacao, en el laboratorio de Bioproductos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador CIBE-ESPOL.



Fotografía: Se puede observar los lixiviados obtenidos

3.4.1. Obtención de lixiviados de cacao

Las mazorcas de cacao fueron transportadas completas hacia el Laboratorio, donde después de abrirlas con un corte transversal, se les extrajo las semillas y se las colocó en un saco de polipropileno para obtener los lixiviados, simulando las condiciones de almacenamiento y fermentación referidas por los agricultores de ambas zonas. La operación se realizó al ambiente y los lixiviados fueron recolectados en un envase de vidrio durante 3 días para los correspondientes análisis de control de calidad.

3.4.2. Obtención de lixiviados de café

Los frutos frescos de café fueron despulpados en el Laboratorio, separando las semillas y la cáscara (comúnmente llamado "concha") Las semillas de café despulpadas fueron maceradas con agua

destilada por 1 hora en relación 1:1 p/p con el objetivo de remover el exceso de mesocarpio existente en la semilla (práctica realizada por los agricultores en un primer lavado. Se realizan dos lavados en las mismas proporciones para posteriormente secarlo.

Al mismo tiempo el pericarpio se macero en Shaker a 90 rpm con agua destilada en relación 1:5 p/p, hasta mantener grados Brix constantes.



Fotografía: Granos de café despulpados

3.5. Análisis físico-químicos

Para evaluar las características de los lixiviados, se realizaron ensayos fisicoquímicos en los cuales se determinaron los parámetros que se detallan en las Tablas 3.3. y 3.4.

Tabla 3.3.- Análisis químicos y biológico realizados a los lixiviados de café y cacao

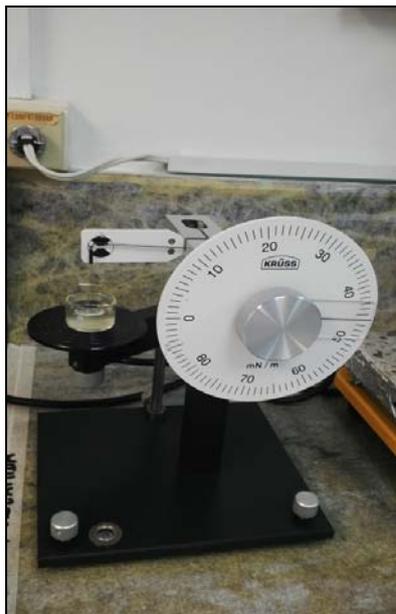
Análisis químicos y biológico				
	Método	Equipo	Marca	Protocolo
Identificación de Monosacáridos y disacáridos presentes en los lixiviados.	Cromatográfico	GC-MS	Agilent Technologies 7890A	CIBE-PROT-40
Identificación de micro elementos Mg, Na, Fe, K, Ca.	Espectroscopia de absorción atómica.	AA	Thermo Scientific (iCE 3000)	SM3111B
Perfil de azúcares (Sacarosa, fructosa, glucosa, maltosa)	Cromatografía líquida	HPLC		
Azúcares totales	Volumétrico (Lane-Eynon)	-	-	CIBE-PROT-41
Azúcares reductores	Volumétrico (Lane-Eynon)	-	-	CIBE-PROT-42
DQO	Colorimétrico	Espectro-fotómetro		STANDARD METHODS 5520 C. y 5520 D. respectivamente
DBO	Método de Winkler	-	-	STANDARD METHODS 5210 B

Elaborado por: Autor, 2015.

Tabla 3.4. Análisis físicos realizados a los lixiviados de café y cacao

Análisis físicos				
	Método	Equipo	Marca	Protocolo
Grados Brix	Óptico	Refractómetro	Atago	
pH.	Electrométrico	pH Metro	Oakton	CBE-PROT-BP 005
Densidad lixiviado	Gravimétrico	-	-	CBE-PROT-BP 034
Sólidos suspendidos	Gravimétrico	-	-	STANDARD METHODS 2540D
Sólidos totales	Gravimétrico	-	-	STANDARD METHODS 2540B
Sólidos disueltos	Gravimétrico	-	-	
Conductividad	Electrométrico	Conductímetro	METTLER SG3-ELK SevenGo	CBE-PROT-BP 005
Salinidad	Electrométrico	Conductímetro	METTLER SG3-ELK SevenGo	CBE-PROT-BP 005
Tensión superficial	Método del anillo	Tensiómetro	KRUSS	CIBE-PTROT-FP-12
Resistividad	Electrométrico	Conductímetro	METTLER SG3-ELK SevenGo	CBE-PROT-BP 005

Elaborado por: Autor, 2015.



Tensiómetro



Conductímetro

3.5.1. Tamizaje fitoquímico

Previo a los análisis de los azúcares presentes en las muestras líquidas de los lixiviados de café y cacao, se realizó un estudio fitoquímico con muestras liofilizadas de los extractos acuosos y alcohólicos de lixiviados, con el propósito de aportar al conocimiento con base en la ciencia, de los compuestos presentes en las muestras antes descritas. Esta información será de utilidad para los procesos asociados al tratamiento de los residuos previa fermentación alcohólica.

Para realizar el tamizaje se usaron técnicas simples y rápidas en las que se usó poco reactivo y poco equipamiento. Este tamizaje se desarrolló según metodología descrita por (Miranda & Cuellar, 2000). Los protocolos y métodos se detallan en la Tabla 3.5, y en los esquemas descritos en la Figura 3.1 de extractos alcohólicos y Figura 3.2 de extractos acuosos.

Tabla 3.5. Grupos químicos evaluados en los lixiviados de café y Cacao

Grupos químicos	Método	Protocolo
Alcaloides	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006
Taninos	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006
Mucilago	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006
Flavonoides	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006
Saponinas	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006
Azúcares	Colorimétrico	CBE-PROT-BP006

Fuente: (Miranda & Cuellar, *Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales*, 2000)
Elaborado por: Autor, 2015.



Fotografía: Análisis de tamizaje fitoquímico practicado a lixiviados

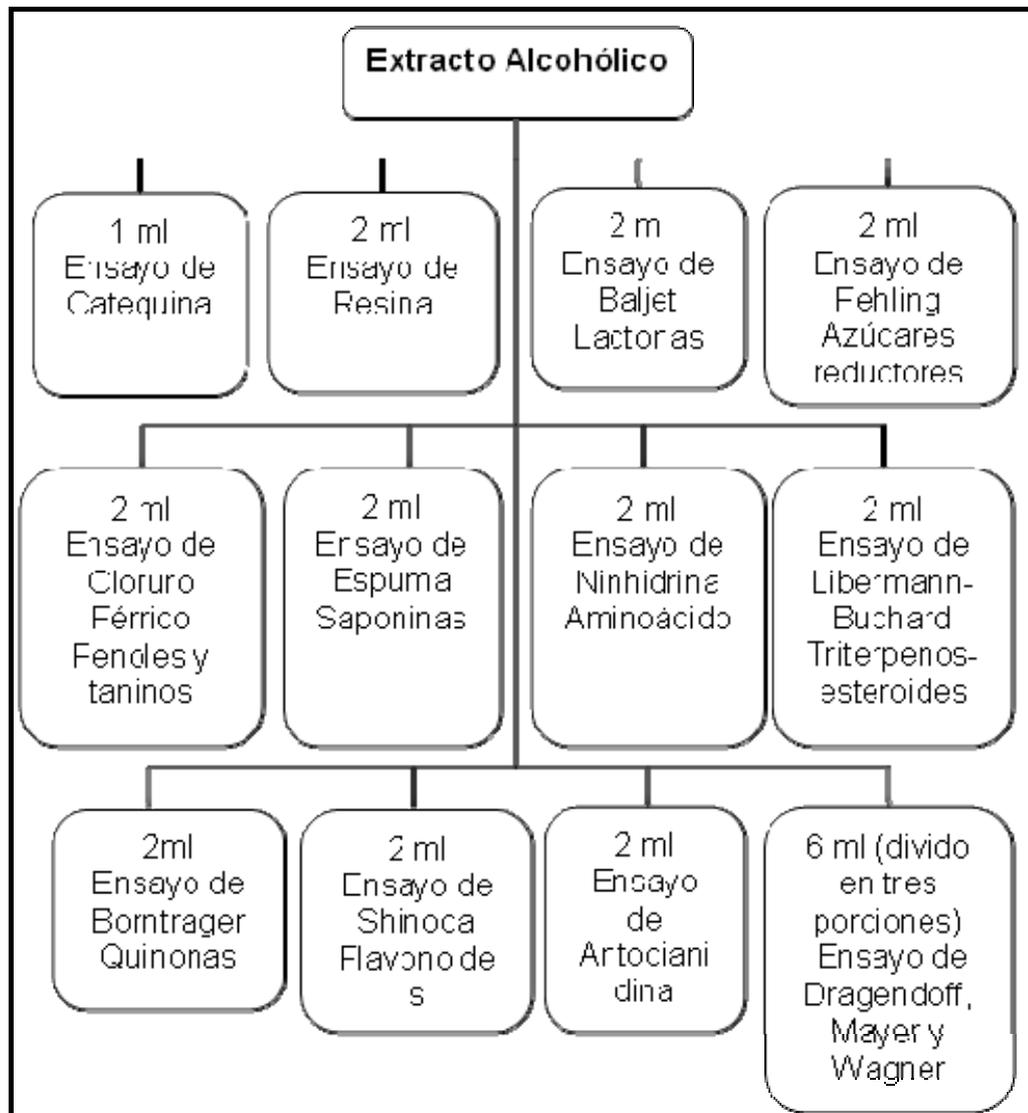


Figura 3.3. Esquema de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólicos.
Fuente: (Miranda & Cuellar, Farmacognasia y productos naturales, 2001)



Fotografía: Reacción química de grupos químicos con reactivo reveladores

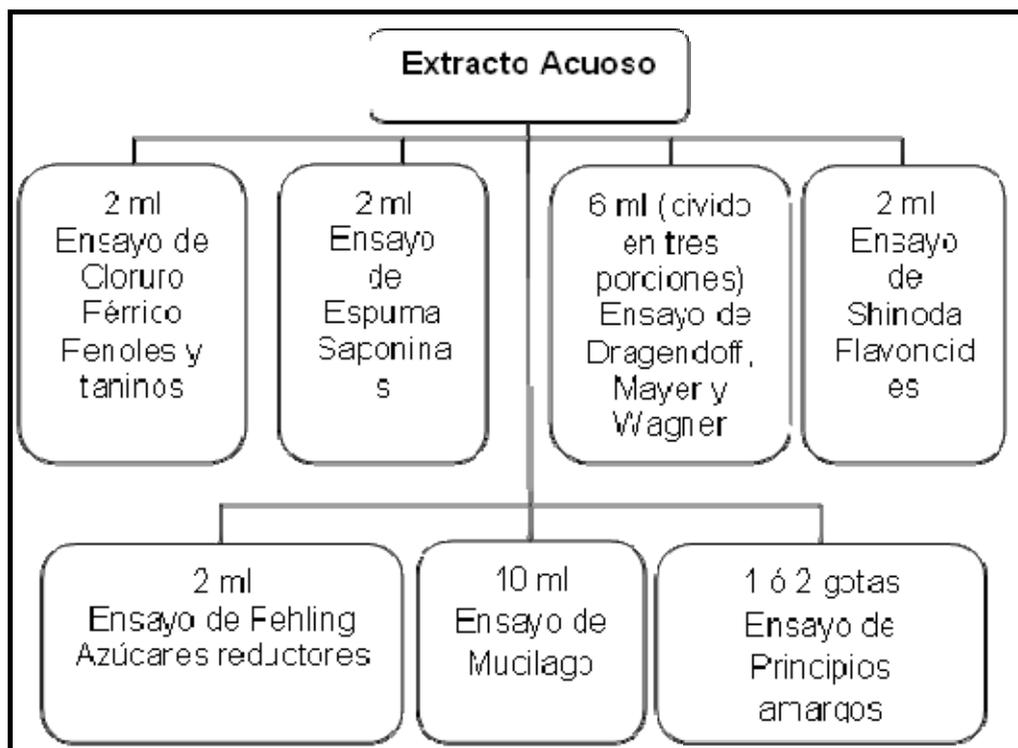


Figura 3.4.- Esquema de tamizaje fitoquímico en extracto alcohólicos.
Fuente: (Miranda & Cuellar, Farmacognasia y productos naturales, 2001)



Fotografía: Resultados cualitativos de tamizaje fitoquímico

3.6. Preparación y deshidratación de las muestras

Los lixiviados obtenidos fueron filtrados y congelados a -80°C para posterior liofilización. Se usó un equipo LABCONCO a una presión de vacío de 150×10^{-3} MBAR y temperatura del colector -46°C . El liofilizado obtenido se pulverizó en un mortero y se colocaron en botellas de vidrio color ámbar de 10ml en un desecador para su posterior análisis.



Fotografía: Lixiviados liofilizados



Fotografía: Equipo liofilizador empleado

3.7. Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masa

3.7.1. Silanización de muestras deshidratadas

Previo al análisis de las muestras liofilizadas, estas fueron derivatizadas con el objetivo de modificar químicamente los compuestos, mejorar su estabilidad térmica, volatilidad y detectabilidad de los analitos en GC-MS.

La derivatización se realizó con el reactivo Bis (trimethylsilyl)-trifluoroacetamide de marca Sigma-Aldrich mezclando 2mg de muestra liofilizada con 200 μ l del agente derivatizante. El procedimiento empleado para este proceso fue adaptado a partir de la metodología descrita por (Yougen, Xianchao, Dongmei, & Xinwen, 2013), La mezcla se agitó en vortex y se incubó en baño María a 80°C durante 2 horas, se enfriaron a temperatura ambiente y se centrifugaron a 10500 rpm, la mezcla sin solidos suspendidos (sobrenadante) fue separada y trasvasada en insertos cónicos de

175 μ L. Los insertos fueron puestos dentro viales de 2ml para el posterior análisis en GC-MS.



Fotografía: Cromatografo de Gases-Masas

3.7.2. Análisis cromatográfico

La identificación de los compuestos se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, marca Agilent Technologies. Se usó una columna capilar HP-5MS (30 x 0,25mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0,25 micras de espesor de película) y helio como fase móvil (1 mL/min). Las condiciones de trabajo del cromatógrafo se detallan en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6.- Condiciones de trabajo del GC-MS

Condición	Unidad
Modo de inyección	Splitless
Temperatura de inyección	250°C
Temperatura de detector	280°C
Temperatura inicial del horno	80°C (durante 1 minuto)
Tasa de cambio	3°C/min
Temperatura final del horno	300°C

Elaborado por: Auto, 2015.

La identificación de los compuestos se realizó por comparación espectral con los compuestos de referencia existentes en la biblioteca WILEY 9TH WITH NIST 2011 instalada en el GC-MS.

3.8. Absorción atómica

Para la determinación de Na, K, Fe, Mg, Ca se empleó un espectrómetro de absorción atómica marca Thermo Scientific iCE-3000 y un horno microondas Milestone modelo Start D. según metodología descrita en Standard Methods SM 3111B.

3.8.1. Digestión de la muestra

Las muestras previamente fueron filtradas con papel filtro de 0,45µm. Posteriormente se realizó una mezcla de HNO₃, H₂O₂ en relación 4:1 con 0,3g de muestra, que se calentó a una temperatura máxima de 120°C en el digestor de microondas Milestone durante 40 minutos. La mezcla final fue filtrada y enrasada a 25 ml.

3.8.2. Lectura en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica

El método usado para la determinación de los elementos fue el de LLAMA. Para ello se utilizaron lámparas de cátodo hueco específicas para cada uno, cuyos modelos, longitudes de onda y fuentes de gas se detallan en Tabla 3.7

Tabla 3.7.- Modelo de Lámpara y condiciones de trabajo usados en equipo de AA

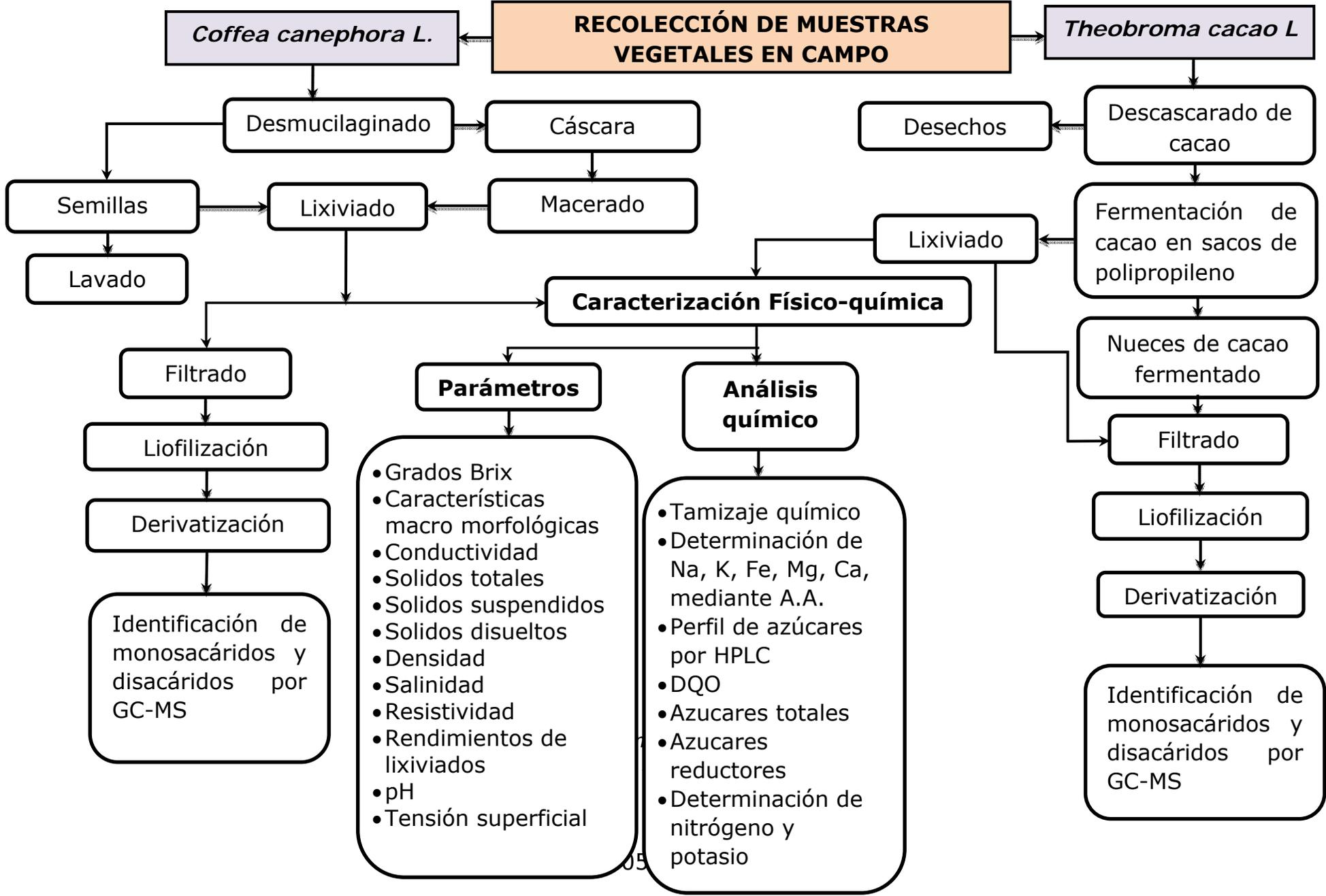
Elaborado por: Autor, 2015.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Lámpara	Fuente de gas
Mg	285,2	Modelo: 942339030121 Fabricante: Thermo Scientific	Aire/acetileno
Na	589	Modelo: 942339030111 Fabricante: Thermo Scientific	Aire/acetileno
Fe	248,3	Modelo: 94233902026V Fabricante: Thermo Scientific	Aire/acetileno
K	766,5	Modelo: 942339030191 Fabricante: Thermo Scientific	Aire/acetileno
Ca	422,7	Modelo: 942339030201 Fabricante: Thermo Scientific	Acetileno/óxido nitroso

3.9. Esquema metodológico

El Esquema metodológico integral aplicado en este trabajo investigativo, se describe en la Figura 3.3

Metodología de la investigación



CAPÍTULO 4

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Introducción

El presente capítulo muestra los resultados obtenidos de todos los análisis efectuados y sus correspondientes discusiones, en relación con los objetivos específicos planteados.

Las variables objeto de estudio, están agrupadas según el tipo de análisis que se efectuó (físicos o químicos) y los resultados tabulados de manera descriptiva, para facilitar su discusión y contraste con estudios similares en los casos correspondientes.

Resultados obtenidos y discusión

4.2. Caracterización macromorfológica de los frutos del café y cacao y sus lixiviados.

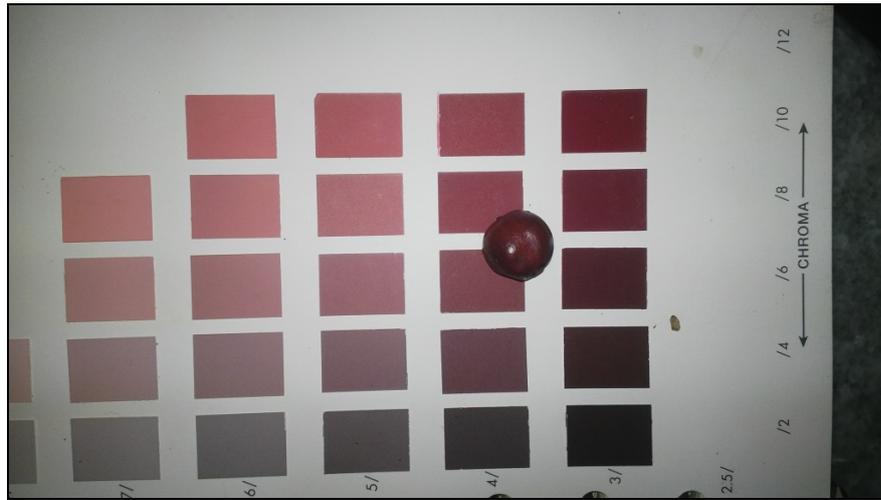
Coffea canephora L.

Se caracterizaron los frutos de *Coffea canephora L.*, de dos provincias del Ecuador; Guayas y Manabí, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.1., y corresponden al promedio de las características físicas externas de 340 granos de café, escogidos aleatoriamente para la caracterización macromorfológica de esta investigación.

Tabla 4.1. Características físicas del fruto de *Coffea canephora L.*

Magnitud física	Unidad mm	Desviación estándar σ
Diámetro ecuatorial	10,60	0,09
Diámetro polar	12,90	0,09
Color*	5R 3/6	-

* Parámetro medido según colores Munsell para tejidos vegetales.
Elaborado por: Autor, 2015.



Fotografía: Carta de Munsell para medición de colores en especies vegetales

En la Tabla 4.2., se muestra la composición en peso del café robusta obtenido por balance de materia, y su tabulación nos permitirá exponer su composición porcentual, para posterior contrastación en la discusión. Figura 4.1.

Tabla 4.2. Composición en peso de *Coffea canephora* L.

Componentes	Peso miligramos	%	Desviación estándar σ
Café en cereza	1184,5	100	22,73
Cáscara	569,83	50,66	33,53
Grano (BH)	584,5	49,34	26,35

BH= Base húmeda.

Elaborado por: Autor, 2015

Los resultados arrojan un 49,34 % de cáscara en peso, correspondiendo la diferencia al grano húmedo. Estos resultados son

Análisis y discusión de resultados

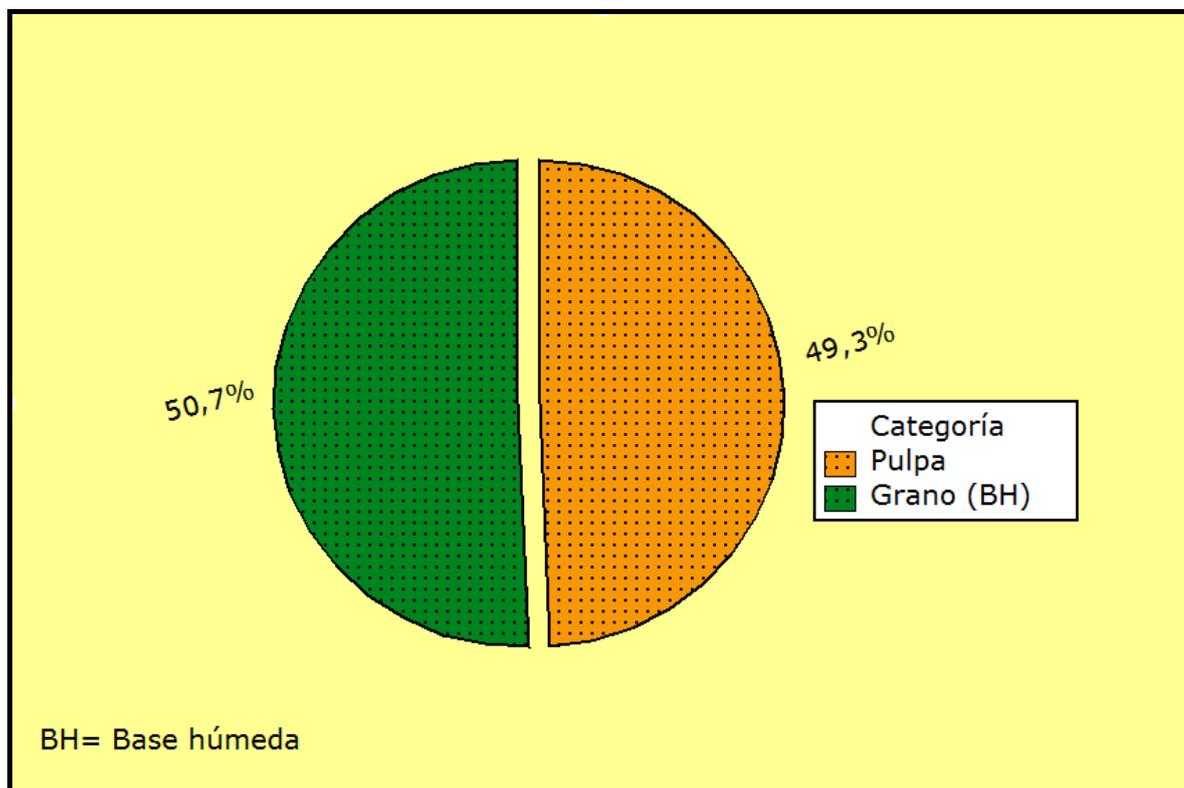
similares a los reportados por CENICAFÉ (Cenicafé, 2012), que indican valores de cáscara (pulpa) 50,2% y grano húmedo 49,8%.

El lixiviado de café luego del proceso de despulpado, se logró por vía húmeda, agregando agua al grano en la relación 1:1 en peso de base húmeda de la cosecha del fruto, (Tabla 4.3.). La caracterización física del lixiviado de café se describirá más adelante, en conjunto con el lixiviado de cacao para un mejor contraste y discusión.

Tabla 4.3. Rendimiento de lixiviado de *Coffea canephora* L.

	Magnitud	Unidad
Rendimiento de lixiviado	1	Kg /Kg cafeto (BH)

BH= Base húmeda.
Elaborado por: Autor, 2015.



Gráfica 4.1. Composición porcentual del fruto de *Coffea canephora* L.
Elaborado por: Autor, 2015.

Análisis y discusión de resultados

En la gráfica 4.1., vemos que realizado el despulpado, el 49,3% del fruto fresco lo constituye la pulpa y el 50,7% restante corresponde al grano de café más el mucílago y la humedad que lo acompaña. Después del proceso de secado, hasta un una humedad final promedio del 12%, el porcentaje de grano seco neto está alrededor del 20% del total en peso de base húmeda. Este valor coincide con los reportados por Duicela y otros (Duicela, Guamán, & Farfán, 2015)

Theobroma cacao L.

Se caracterizaron las mazorcas de *Theobroma cacao L.*, de las provincias del Guayas y Los Ríos, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.4., y corresponden al promedio de las características físicas externas de 210 mazorcas de cacao.

Las mazorcas fueron escogidas aleatoriamente para su caracterización macromorfológica en esta investigación.

Tabla 4.4. Características físicas de la mazorca de *Theobroma cacao*

Componente *	Magnitudes físicas	Unidad mm	Desviación estándar σ
1	Perímetro ecuatorial	312,6	1,60
2	Diámetro polar	246,4	1,45
7	Espesor de caballete	16,4	0,17
8	Profundidad de surco	10,2	0,12

* Los números de componentes están asociados a las magnitudes físicas que serán reportadas en la figura 4.3.
Elaborado por: Autor, 2015.

Análisis y discusión de resultados

La distribución promedio en peso de los componentes de la mazorca de cacao: cáscara, almendra y placenta, se muestran en la tabla 4.5. Esta magnitud física, asociada con las mostradas en la Tabla 4.4., constituyen la base de datos para el análisis estadístico en la determinación de los componentes principales que definen las características macromorfológicas del fruto de *Theobroma cacao L.*, que están representados en la gráfica 4.3

Tabla 4.5. Composición promedio del fruto de *Theobroma cacao L.*¹

Componente	Magnitudes físicas	Unidad gramo	Desviación estándar σ
3	Peso de mazorca	690,52	120,81
4	Peso de cáscara	493,86	96,98
5	Peso de almendra (BH ²) (47 Almendras, C6)	187,71	28,59
9	Peso de placenta (BH ³)	21,14	5,32

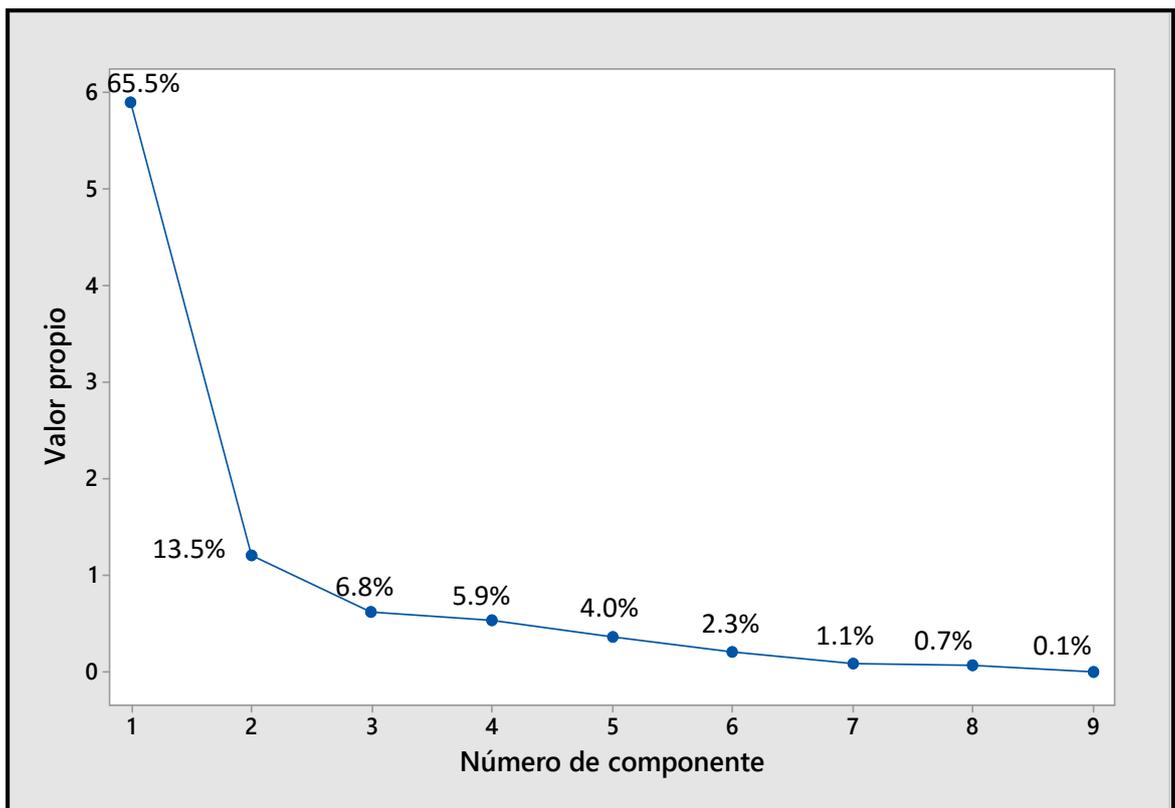
^{2,3} BH= Base húmeda. Considerando el mucílago asociado antes de la fermentación.
C6= representa componente número 6 (número de almendras promedio/ mazorca).

¹ Valores promedios de 21 mazorcas muestreadas en la localidad de Milagro, Guayas-Ecuador.

Elaborado por: Autor, 2015.

Análisis Estadístico de los datos macromorfológicos

La gráfica de sedimentación 4.2., muestra que el número de valores propios es mayor que 1 (eje y) para los dos primeros componentes (perímetro ecuatorial y diámetro polar) según criterio de Káiser (Kaiser, 1958), que juntos proporcionan el 79% de los dos componentes principales, 65.5% y 13.5% respectivamente, lo que sugiere que estos dos componentes explican adecuadamente la variación en los datos de las características macromorfológicas de las mazorcas de cacao. Los otros componentes son el ruido.



Gráfica 4.2. Evaluación del número necesario de componentes principales (Gráfico de sedimentación)

Elaborado por: Autor, 2015.

Análisis y discusión de resultados

De acuerdo a la Tabla 4.6., para los datos sobre los rasgos morfológicos, las primeras puntuaciones del componente principal se calculan a partir de los datos originales utilizando los coeficientes que se muestran a continuación:

$$\text{CP1} = 0.378 \text{ Perímetro ecuatorial} + 0.360 \text{ Diámetro polar} + 0.401 \text{ Peso de la mazorca} + 0.398 \text{ Peso de la cáscara} + 0.330 \text{ Peso de la almendra húmeda} + 0.228 \text{ Número de Almendras} + 0.287 \text{ Espesor de caballete} + 0.204 \text{ Profundidad del surco} + 0.352 \text{ Peso de placenta.}$$
$$\text{CP2} = -0.005 \text{ Perímetro ecuatorial} + 0.027 \text{ Diámetro polar} - 0.008 \text{ Peso de la mazorca} - 0.016 \text{ Peso de la cáscara} + 0.232 \text{ Peso de la almendra húmeda} + 0.587 \text{ Número de Almendras} - 0.467 \text{ Espesor de caballete} - 0.603 \text{ Profundidad del surco} + 0.138 \text{ Peso de placenta.}$$

A partir de esta información, se obtiene que los factores más relevantes, corresponden al peso de la mazorca y de la cáscara, los cuales se encuentran positivamente asociados a la variabilidad morfológica del cacao, mientras que la profundidad del surco tiene cargas negativas grandes sobre el componente 2.

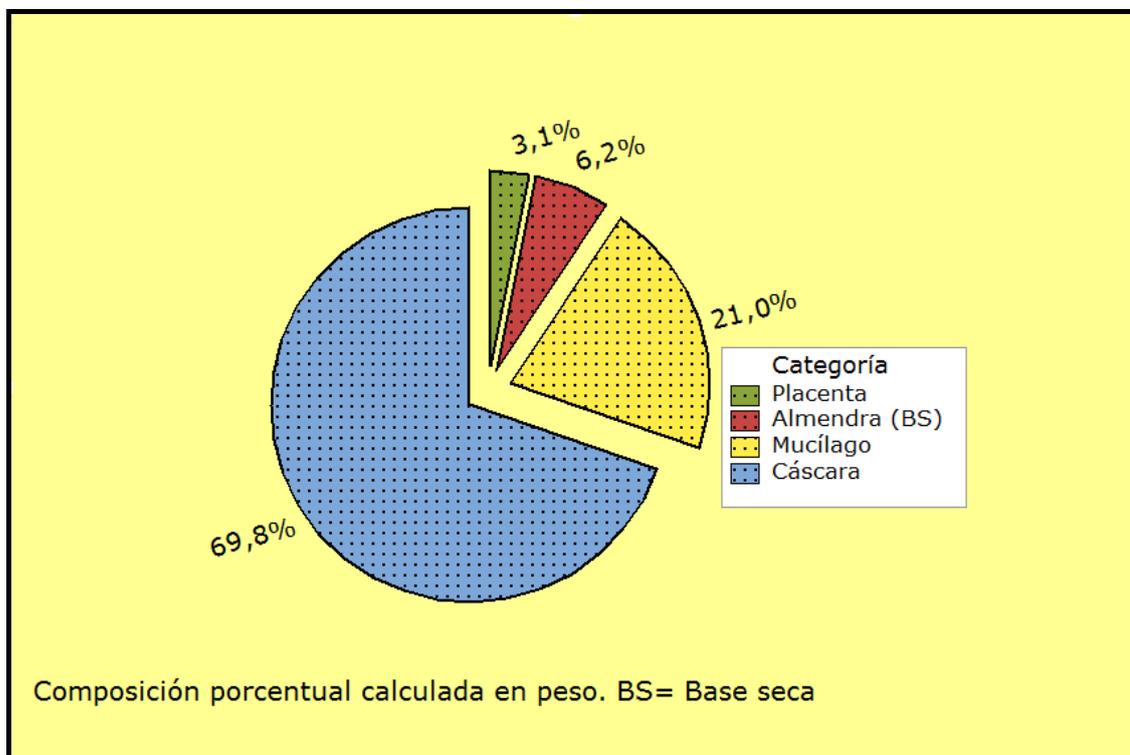
Tabla 4.6. Vectores propios de los rasgos morfológicos más descriptivos medidos en mazorcas de cacao.

Factor	Componente Principal	
	1	2
Perímetro ecuatorial (cm)	0.378	-0.005
Diámetro polar (cm)	0.360	0.027
Peso de la mazorca (g)	0.401*	-0.008
Peso cáscara (g)	0.398*	-0.016
Peso de la almendra húmeda (g)	0.330	0.232
Número de almendras	0.228	0.587
Espesor de caballete (cm)	0.287	-0.467
Profundidad del surco (cm)	0.204	-0.603*
Peso de placenta (g)	0.352	0.138

Valores con asteriscos indican los factores más descriptivos.

Elaborado por: Autor, 2015.

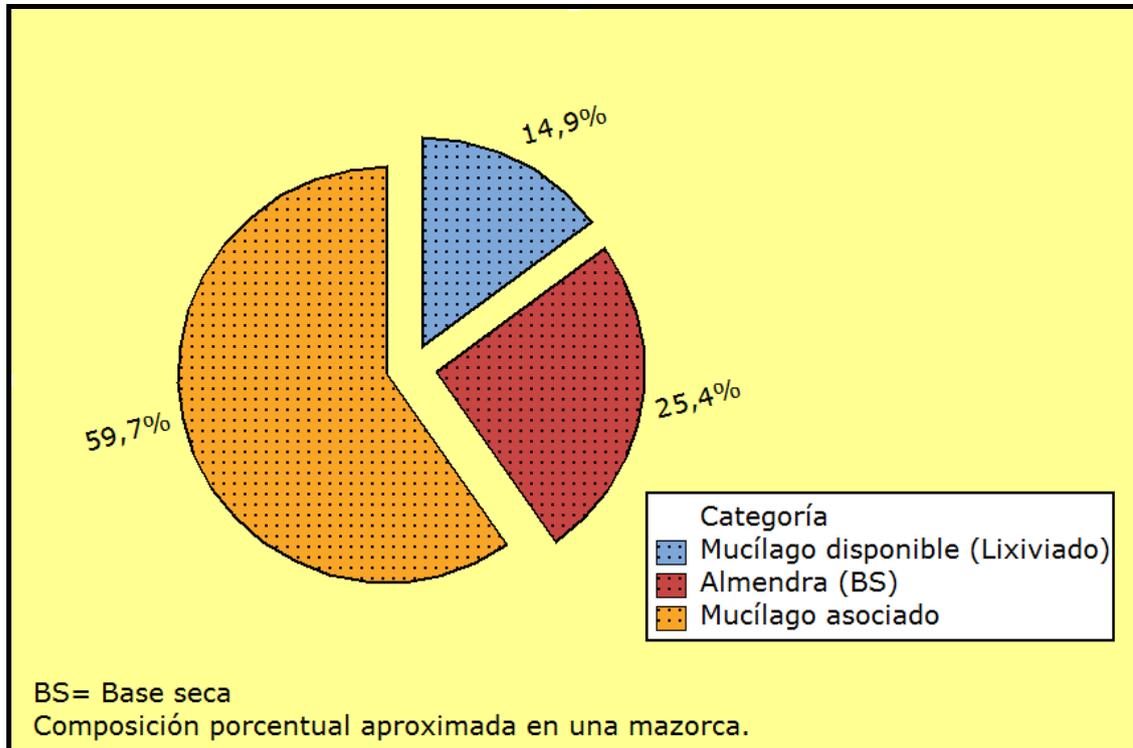
La Gráfica 4.3 representa las composiciones porcentuales de los constituyentes de la mazorca de cacao. En ella se observa que la almendra seca, que es el producto final de interés comercial, representa apenas el 6,2% en base seca del peso total de la mazorca, mientras que la considerable diferencia lo constituyen los desechos agrícolas que en nuestro país poco o nulo aprovechamiento tienen.



Gráfica 4.3. Composición porcentual del fruto de *Theobroma cacao* L.
Elaborado por: Autor, 2015.

En referencia al mucílago, que representa el 21% del peso total de la mazorca, debemos indicar que una porción de él utiliza la propia almendra para su fermentación natural y el excedente es el lixiviado que se pierde en campo (Gráfica 4.4.).

En la presente investigación se determinó por balance de materia basado en la información expuesta, que por cada kilogramo de almendra seca lo acompañaron 0,59 kilogramos de lixiviado. Tabla 4.6.



Gráfica 4.4. Composición de la almendra húmeda de *Theobroma cacao L.*, antes de la fermentación.

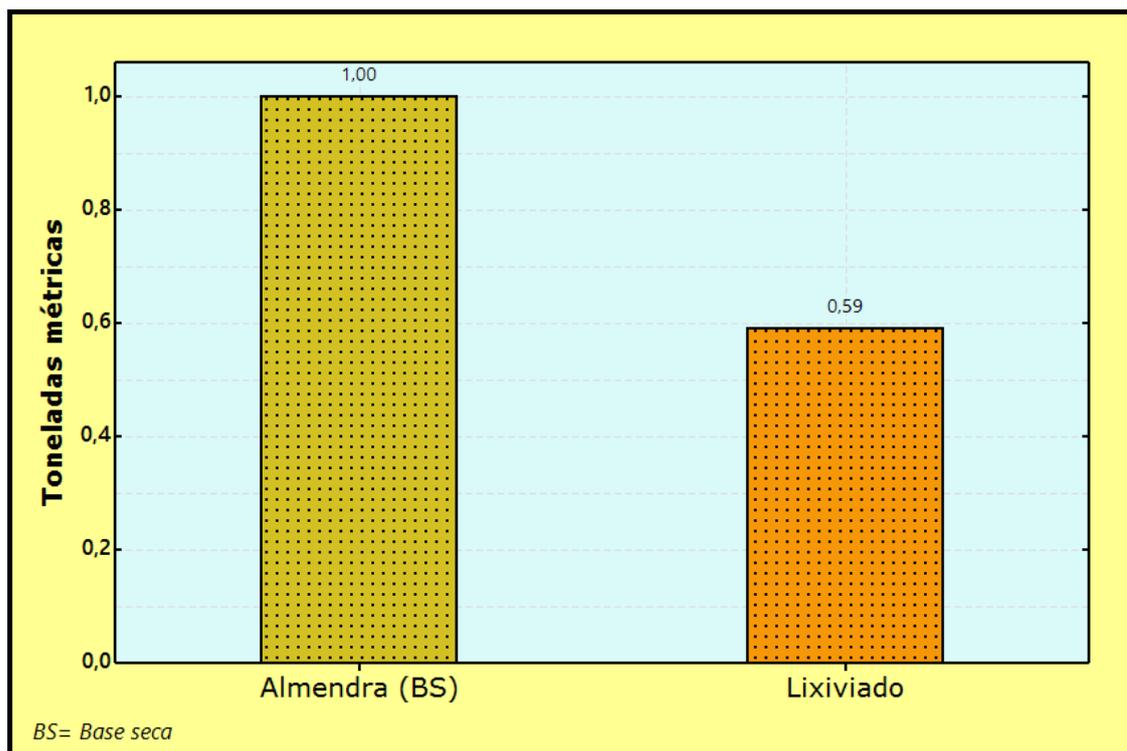
Elaborado por: Autor, 2015.

Tabla 4.7. Rendimiento de lixiviado de *Theobroma cacao L.*, no asociado a la fermentación.

	Magnitud	Unidad
Rendimiento de lixiviado	0,59	Kg Lixiviado/Kg almendra (BS)

BS= Base seca.

Elaborado por: Autor, 2015.



Gráfica 4.5. Rendimiento de lixiviado de *Theobroma cacao L.*, no asociado a la fermentación.

Elaborado por: Autor, 2015.

Con base a la relación del peso de lixiviado por unidad de peso de cacao seco, la gráfica 4.5., lo extrapola por tonelada métrica de cacao producto final, que es la unidad internacional de comercio, observando que por cada tonelada métrica de cacao seco, 590 kilogramos de lixiviados se quedan en campo.

Dando continuidad a la caracterización de los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*, en la tabla 4.8 se muestran los resultados de nueve parámetros físicos estudiados, los mismos que abarcan un amplio espectro de análisis para poder describir la naturaleza física de esos exudados.

Para el presente trabajo investigativo, cuya finalidad es explorar el potencial empleo de los lixiviados del cacao y café como fuentes de producción de bioetanol, sin lugar a dudas que los °Brix y el potencial de hidrógeno (pH) constituyen importantes indicadores hacia ese propósito.

Análisis y discusión de resultados

Tabla 4.8. Características físicas de los lixiviados de *Theobroma cacao* L., y *Coffea arábica* L.

Parámetro (Unidad)	Cacao	Café	Cáscara de café
Densidad (g/ml)	1,10	1,10	1,03
	0,01	0,01	0,01
°Brix	19,60	4,2	3,25
	0,57	0,8	0,25
pH	3,58	3,83	4,05
	0,07	0,09	0,05
Sólidos suspendido totales (mg/l)	9711,00	2598,00	867,50
	685,89	483,66	114,50
Sólidos totales (mg/l)	192154,00	23605,00	11813,50
	6683,57	8379,22	1171,50
Conductividad (mS/cm)	3,29	3,39	4,29
	0,06	0,32	0,97
Salinidad (ppt)	1,71	1,79	2,26
	0,03	0,20	0,53
Resistividad (Ω -cm)	3,04 ^{E-2}	2,97 ^{E-2}	2,46 ^{E-2}
	0,02	0,01	0,02
Tensión superficial (N)	52,65	54,68	53,75
	1,91	1,39	0,65

Valores promedios obtenidos de muestras provenientes de las localidades de Milagro y Los Ríos (Cacao), Manabí y Bucay (Café).

Valores sombreados corresponden a la desviación estándar.

Elaborado por: Autor, 2015.

Los valores de la densidad reportados en el presente estudio, 1,10 g/ml para el café y 1,10 g/ml para el cacao, son similares a los expuestos en un estudio realizado por CENICAFÉ (Cenicafé, 2012) y (Cedeño, 2013), con valores de 1,38 y 1,076 g/ml para café y cacao respectivamente.

Análisis y discusión de resultados

Sin embargo es muy importante destacar que, CENICAFÉ reporta la densidad y grados Brix del mucílago puro (sin adición de agua), mientras que en este trabajo, el mucílago fue extraído con agua en una relación 1:1 p/p, y a pesar de esta notable diferencia, los resultados de densidad son cercanos.

Los valores de °Brix para el café, difieren significativamente con respecto a los reportados por CENICAFÉ, mientras que para el exudado de cacao se observa una diferencia de 2 Brix en comparación con lo reportado por (Cedeño, 2013).

Uno de los parámetros físicos importantes de analizar es el pH, pues, según CENICAFÉ, (Cenicafé, 2012), su valor indica la madurez del fruto. Cedeño, (Cedeño, 2013), reporta un valor 3,7 para el lixiviado de cacao, mientras que en este estudio se determinó un valor 3,58.

La importancia del valor del pH encontrado, radica en que su concentración afecta el crecimiento celular y la producción de metabolitos secundarios (Buzas, 1988). Estudios realizados por Buzas en 1988 determinaron que pHs entre 3,5 y 5,0 son valores óptimos en donde hubo un mayor desarrollo de levaduras de pan.

Dadas estas características, los lixiviados de café y cacao poseen un potencial de hidrógeno favorable para el desarrollo de microorganismos capaces de desdoblar azúcares y convertirlos en bioetanol.

A manera de aporte a la investigación, se evaluó las características de la cascara de café, encontrándose que sus propiedades son similares a las de los lixiviados.

Análisis y discusión de resultados

Análisis Estadístico de los datos físicos

La Tabla 4.9 muestra que no hay una diferencia significativa en los valores del pH de las muestras de cacao de las provincias de Guayas y Los Ríos.

De igual forma, las muestras de café de las provincias de Manabí y Guayas, no muestran diferencias apreciables con respecto al pH, sin embargo, el pH de la cáscara del café de Manabí, muestra un valor mayor al pH del grano de café.

Con respecto a la conductividad, se encontraron diferencias significativas en las muestras, con excepción del cacao del Guayas y la cáscara de café del Guayas. Resultados similares se observan en el parámetro de salinidad.

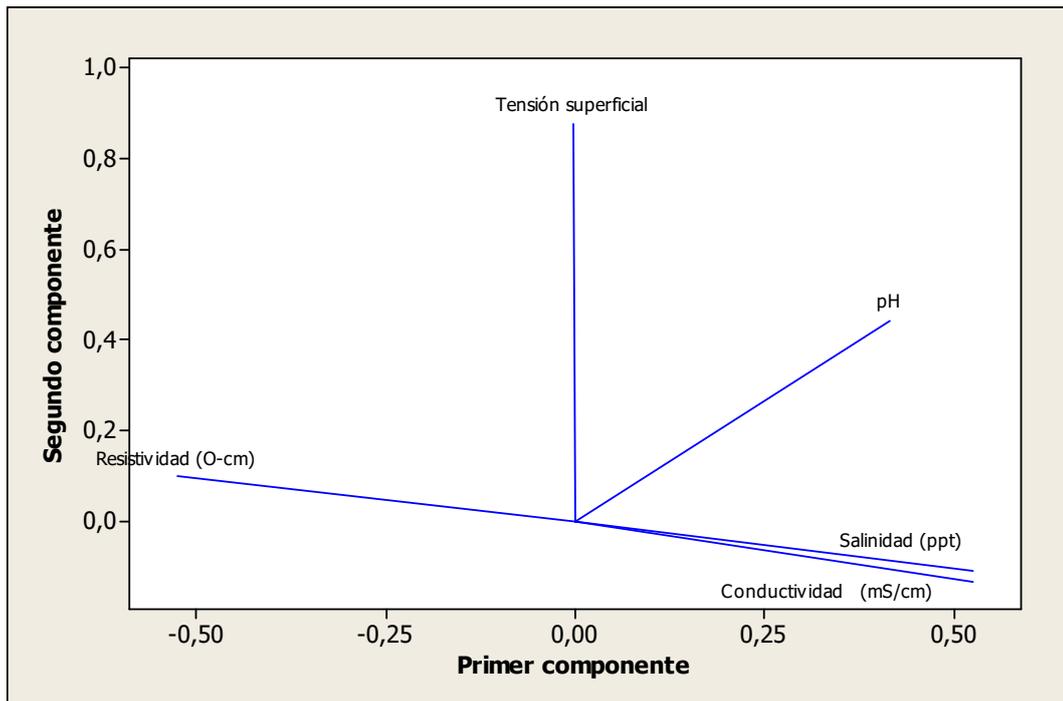
Los valores de resistividad no fueron significativos para el cacao de Los Ríos. En el Gráfico 4.6, se muestran los valores de resistividad asociados a los de conductividad. En lo referente a la tensión superficial, el cacao de Los Ríos, el café del Guayas y la cáscara del café del Guayas no mostraron diferencias significativas.

Tabla 4.9. Características físicas de los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea arábica L.*

	pH	Conductividad (mS/cm)	Salinidad (ppt)	Resistividad (Ω-cm)	Tensión superficial
Cacao Guayas (Milagro)	3.53 ± 0.01 A	3.33 ± 0.02 A	1.73 ± 0.00 A	3.00 ± 0.02 A	51.33 ± 0.57 A
Cacao Los Ríos	3.63 ± 0.01 A	3.24 ± 0.03 B	1.69 ± 0.02 AB	3.08 ± 0.03 B	54.00 ± 0.00 BC
Café Manabí	3.89 ± 0.01 BC	3.61 ± 0.01 C	1.92 ± 0.03 B	2.76 ± 0.01 C	55.67 ± 0.57 D
Café Guayas (Bucay)	3.77 ± 0.11 C	3.15 ± 0.01 D	1.65 ± 0.01 C	3.17 ± 0.01 D	53.67 ± 0.57 B
Café Manabí CASCARA	4.10 ± 0.01 D	5.26 ± 0.05 E	2.79 ± 0.02 D	1.91 ± 0.02 E	53.00 ± 0.50 C
Café Guayas (Bucay) CASCARA	4.00 ± 0.02 BD	3.32 ± 0.01 A	1.72 ± 0.01 A	3.00 ± 0.00 A	54.33 ± 0.29 BC

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (p<0,05)

Elaborado por: Autor, 2015.



Gráfica 4.6. Gráfica de cargas de componentes principales
Elaborado por: Autor, 2015.

Asimismo se procedió a realizar un análisis estadístico de los datos obtenidos, empleando el análisis de varianza obteniéndose los siguientes resultados:

ANOVA unidireccional: pH vs. Variedad

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Variedad	5	0,71429	0,14286	60,36	0,000
Error	12	0,02840	0,00237		
Total	17	0,74269			

S = 0,04865 R-cuad. = 96,18% R-cuad.(ajustado) = 94,58%

ANOVA unidireccional: Conductividad (mS/cm) vs. Variedad

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Variedad	5	9,595044	1,919009	2808,31	0,000
Error	12	0,008200	0,000683		
Total	17	9,603244			

S = 0,02614 R-cuad. = 99,91% R-cuad.(ajustado) = 99,88%

ANOVA unidireccional: Salinidad (ppt) vs. Variedad

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Variedad	5	2,878494	0,575699	1419,53	0,000
Error	12	0,004867	0,000406		
Total	17	2,883361			

S = 0,02014 R-cuad. = 99,83% R-cuad.(ajustado) = 99,76%

ANOVA unidireccional: Resistividad (Ω -cm) vs. Variedad

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Variedad	5	3,283894	0,656779	1791,22	0,000
Error	12	0,004400	0,000367		
Total	17	3,288294			

S = 0,01915 R-cuad. = 99,87% R-cuad.(ajustado) = 99,81%

ANOVA unidireccional: Tensión superficial vs. Variedad

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Variedad	5	31,333	6,267	28,20	0,000
Error	12	2,667	0,222		
Total	17	34,000			

S = 0,4714 R-cuad. = 92,16% R-cuad.(ajustado) = 88,89%

4.3 Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico.

Con base a los alentadores resultados en la caracterización física de los lixiviados de café y cacao, principalmente en los °Brix, se continuó la exploración hacia la siguiente etapa, que corresponde a la identificación de metabolitos secundarios que pueden convertirse en importantes precursores para la producción de bioetanol.

Los resultados muestran la presencia de azúcares reductores, Triterpenos y/o esteroides, alcaloides y aminoácidos para el lixiviado de cacao, mientras que para el lixiviado de café se muestra la presencia de compuestos grasos, azúcares reductores, fenoles/taninos, Triterpenos y/o esteroides, y alcaloides Tabla 4.9., Tabla 4.10.

Análisis y discusión de resultados

Tabla 4.10. Compuestos Fitoquímicos del lixiviado de *Theobroma cacao L*

Compuestos Fitoquímicos	Lixiviado primario	Extracto etéreo	Extracto alcohólico	Extracto acuoso	Ensayo
Compuestos grasos	X	x	-	-	Sudán III
Azúcares reductores	+	-	-	+	Fehling
Fenoles, Taninos o ambos	X	-	X	X	Cloruro férrico
Flavonoides	X	-	X	X	Shinoda
Triterpenos y/o esteroides	+	X	+	-	Liebermann-Buchard
Alcaloides	++	X	+	+	Dragendorff
Alcaloides	++	X	X	+	Mayer
Alcaloides	++	X	+	+	Wagner
Aminoácidos	+	-	+	-	Ninhidrina
Cumarinas	X	X	X	-	Baljet
Saponinas	X	X	X	X	Espumas

*X: Ausencia de metabolito, +: Presencia de metabolito Alcaloides; +: Opalescencia, ++: Turbidez definida; +++: Precipitado
Elaborado por: Autor, 2015.*

Existen trabajos similares realizados a pulpa deshidratada de café (Castillo, 2002), sin embargo en el lixiviado de café no se evidencia la presencia de saponinas y flavonoides a diferencia por lo reportado por Castillo, 2002.

El lixiviado de café resultó con gran presencia de alcaloides, lo cual es característico en esta especie (Flament, 2002) Tabla 4.10.

Análisis y discusión de resultados

Tabla 4.11. Características Fitoquímicas del lixiviado de *Coffea arábica L*

Compuestos Fitoquímicos	Lixiviado primario	Extracto etéreo	Extracto alcohólico	Extracto acuoso	Ensayo
Compuestos grasos	+	+	-	-	Sudán III
Azúcares reductores	+	-	-	+	Fehling
Fenoles, Taninos o ambos	+	-	+	X	Cloruro férrico
Flavonoides	X	-	X	X	Shinoda
Triterpenos y/o esteroides	+	X	+	-	Liebermann-Buchard
Alcaloides	+++	+++	++	++	Dragendorff
Alcaloides	+++	-	++	-	Mayer
Alcaloides	++	X	+	X	Wagner
Aminoácidos	-	-	X	-	Ninhidrina
Cumarinas	X	X	X	-	Baljet
Saponinas	X	X	X	X	Espumas

X: Ausencia de metabolito, +: Presencia de metabolito

Alcaloides; +: Opalescencia, ++: Turbidez definida; +++: Precipitado

Elaborado por: Autor, 2015.

Estos favorables resultados de compuestos fitoquímicos encontrados en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*, dan evidencia de la presencia de importantes compuestos, con potencial para su transformación en otras especies químicas como alcoholes.

4.4 Contenido de azúcares totales, azúcares reductores y perfil de azúcares.

Dado los resultados cualitativos positivos de azúcares reductores y otros compuestos, que arroja el tamizaje químico, se procedió a realizar la cuantificación de azúcares totales y reductores a los lixiviados de café y cacao, así como a la cáscara del café, debido a su importancia como otro posible desecho aprovechable. Los análisis cuantitativos se muestran en la Tabla 4.11.

El lixiviado de cacao presentó un mayor porcentaje tanto de azúcares reductores (6,39%) como de azúcares totales (12,33%). Estos valores son similares a los reportados por Endraily, quien en su investigación asevera que el lixiviado de cacao posee entre 10 a 12% de contenido de azúcares (Endraily, 2001).

El contenido tanto de azúcares reductores como el de azúcares totales en el lixiviado de café difiere en gran parte con otros estudios realizados. Para el presente trabajo se reporta 1,64% de azúcares reductores mientras que para azúcares totales es un 2,30%, la cantidad de azúcares reductores constituye un 41,62% del total de azúcares. Estos valores no han sido acordes a los expuestos por (Puerta & Ríos, 2011), quienes informan que el lixiviado de café contiene entre el 6,2% y el 7,2% de azúcares, siendo constituida en un 63% por azúcares reductores.

Es importante mencionar que los resultados obtenidos para lixiviado de café están muy por debajo de los valores que se reportan en la literatura, sin embargo esto posiblemente sea debido a que el lixiviado obtenido para esta presente investigación no fue extraído con un porcentaje de pureza alta, sino que se trabajó con una relación 1:1 de fruto fresco en agua.

Análisis y discusión de resultados

Los valores presentados en la Tabla 4.11., muestran los contenidos de azúcares basado en procesos de extracción muy cercanos a campo, lo cual nos permite concluir que son valores reales de las condiciones del lixiviado que se está quedando en campo tanto de cacao como de café.

La cáscara de café tiene un espacio en los análisis de azúcares debido a que esta se desecha en combinación con el lixiviado luego del despulpado, a diferencia del cacao cuya cáscara es desechada en la cosecha.

Tabla 4.12. Azúcares reductores y totales en muestras de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea arabica L.*

Muestra	Azúcares Reductores	Azúcares Totales	Unidad
Lixiviado Cacao	6,39	12,33	g%
Lixiviado Café	1,64	2,30	g%
Cáscara de café	1,79	1,86	g%

Elaborado por: Autor, 2015.

Tabla 4.13. Perfil de Azúcares de *Theobroma cacao L*

Parámetros	LOQ	Resultado	Unidad
Total de azúcares	1	8,70	g/100g
Maltosa	1	-	g/100g
Lactosa	1	-	g/100g
Sacarosa	1	2,15	g/100g
Glucosa	1	2,13	g/100g
Fructosa	1	4,42	g/100g

La Tabla 4.12 muestra el perfil de azúcares del lixiviado de *Theobroma cacao L.*, en los que se encontró la cantidad de sacarosa, glucosa y fructosa. Los valores obtenidos de sacarosa y glucosa son menores a los reportados por (Endraly, 2001), mientras que el valor de fructosa está por encima del valor reportado.

4.5. Identificación de compuestos por CG-EM de los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*

La identificación de los compuestos se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, marca Agilent Technologies.

En la Figura 4.1. podemos observar el cromatograma obtenido para el análisis de los lixiviados del *Theobroma cacao L.* y en la Figura 4.2. el cromatograma para los lixiviados de *Coffea arabica L.*

En la Tabla 4.14 y 4.15 se indican los compuestos detectados en función del tiempo de retención, la identificación se realiza por comparación espectral con los compuestos de referencia existentes en la biblioteca WILEY 9TH WITH NIST 2011 instalada en el GC-MS marca Agilent Technologies

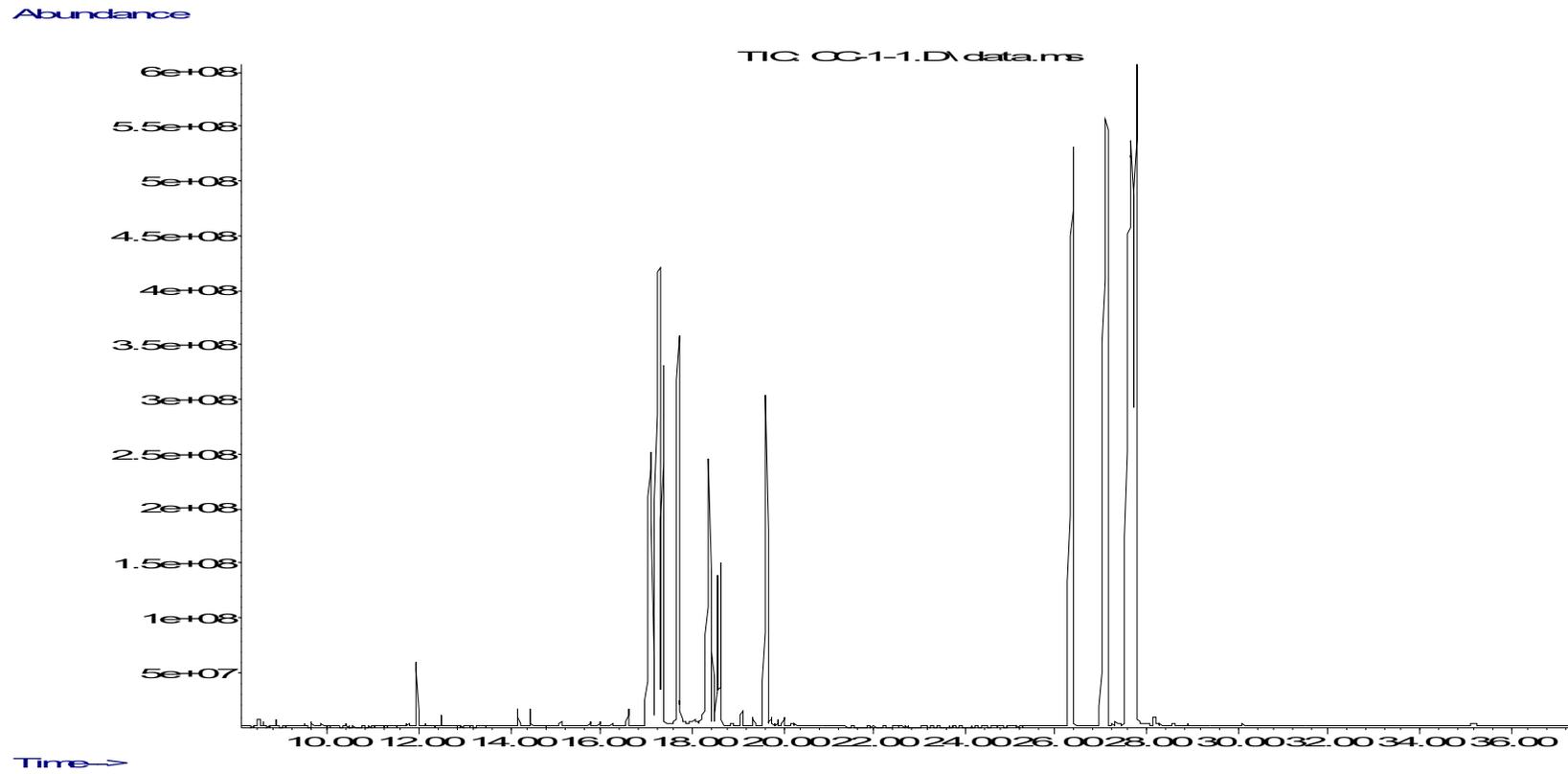


Figura 4.1: Cromatograma del lixiviado de *Theobroma cacao* L.

Tabla 4.14. Compuestos identificados en los lixiviados de *Theobroma cacao* L.
Elaborado por: Autor, 2015

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$
(16R)-Ent-3.alpha.-Hydroxykauran-15-one	11.127	0,045	0,007
Butanedioic acid	12.732	0,607	0,090
1,2-Dicarbododecaborane(12), 1-[(propylthio)methyl]-	12.732	0,735	0,007
L-Aspartic acid	13.263	0,184	0,031
Glutamic acid	14.964	0,158	0,044
L-(+)-Tartaric acid	15.219	0,218	0,015
Xylitol	16.537	0,078	0,008
1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid	17.036	0,080	0,014
GLUTAMINE	17.408	0,312	0,038
3-Bromo-5-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde	18.886	1,647	2,457
L-Ascorbic acid	19.927	0,173	0,044
4,8-Propanoborepino[1,2-b][1,2,5]oxadiborole, 2,3-diethyloctahydro-3a-methyl-	20.554	0,217	0,049
Palmitic acid	21.351	0,115	0,106
Stearic acid	23.892	0,085	0,049
Oleamide	25.901	0,205	0,007
Ethyl 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenoate	25.996	0,085	0,007
N-[(-)-jasmonoyl]-(S)-glutamic aci	29.047	0,163	0,116
3-(2',3'-DIACETOXY-2'-METHYBUTYRYL)-CUAUHTEMONE	29.706	0,170	0,127

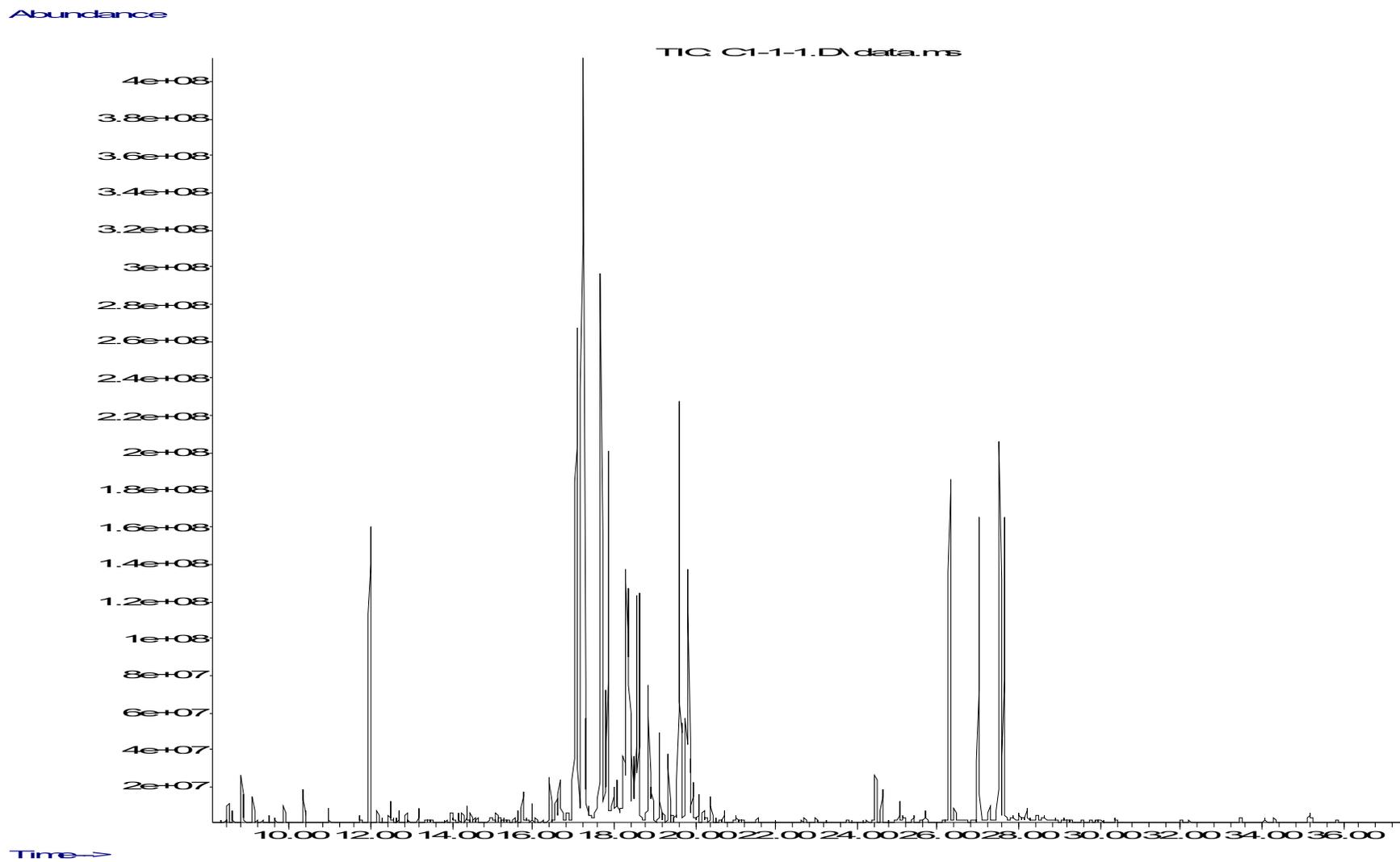


Figura 4.2.: Cromatograma de los lixiviados de *Coffea canephora* L.

Tabla 4.15. Compuestos identificados en los lixiviados de *Coffea canephora L.*

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$
16,17-Dimethyloctacyclo	13.635	0,100	1,700E-17
2,4-Diphenoxy-1,5-naphthyridine	13.465	0,120	0,000E+00
2,3,4,5-Tetrahydroxypentanoic acid-1,4-lactone	15.166	0,142	4,550E-02
(R*,S*)-3,4-DIHYDROXYBUTANOIC ACID	11.711	0,150	0,000E+00
TETRONICACID	13.933	0,150	1,414E-02
Spiro[cyclopropane-1,8'(1H')[3a.6]methano[3ah]cyclopentacycloocten]-10'-one, oct	28.802	0,165	2,121E-02
D-Arabinonic acid	15.166	0,165	7,778E-02
L-Proline	9.235	0,200	0,000E+00
2-Pentenedioic acid	14.751	0,223	5,774E-03
GALACTARIC ACID	21.224	0,236	1,241E-01
1H-Indole-2-carboxylic acid	15.038	0,240	1,473E-01
L-Aspartic acid	13.263	0,247	1,454E-01
Propanoic acid	9.830	0,249	2,948E-01
3-(2',3'-DIACETOXY-2'-METHYBUTYRYL)-CUAUHTEMONE	28.090	0,257	9,394E-02
Oleamide	25.901	0,313	5,774E-03
D-Glucuronic acid	20.926	0,330	0,000E+00

Tabla 4.15: Continuación

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$
BUTANEDIOIC ACID	9.575	0,360	6,799E-17
9-(3-Methyl-1-azulenyl)fluorene	9.607	0,380	1,414E-02
7.alpha.-(1,2-epoxy-1-methylethyl)-2.alpha.-hydroxy-4a.beta.-methyl-2,3,4,4a,5,6	19.980	0,685	6,718E-01
Hexanoic acid	20.820	0,820	0,000E+00
4,8-Propanoborepino[1,2-b][1,2,5]oxadiborole, 2,3-diethyloctahydro-3a-methyl-	20.501	0,938	2,630E-02
(+)-1,4a.beta.-Dimethyl-5.alpha.- ethynyl-5.beta.-hydroxy-4,4a,5,6,7,8-hexahydro	20.182	1,015	3,465E-01
3-Bromo-5-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde	19.694	1,039	9,525E-01
Barbatusol	8.789	1,430	0,000E+00
Rubrolide C	18.152	10,636	1,814E+00
5.beta.-Ergost-24-ene	26.528	0.31	2,828E-02
Androstan-17-one, 5,6-epoxy-3-fluoro-, (3.alpha.,5.alpha.,6.alpha.)-	29.461	0.38	7,071E-03
Rubianol-h	18.173	16.67	6,559E-01

Elaborado por: Autor, 2015

Análisis y discusión de resultados

La técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas, aplicada para la separación e identificación de compuestos, presentes en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*, arrojaron los siguientes resultados:

Los compuestos presentados fueron escogidos con un porcentaje de probabilidad mayor a 95%.

Se identificaron un total de 18 compuestos en el lixiviado de *Theobroma cacao L.*, los mismos que se presentan en la Tabla 4.13. De los cuales 3 compuestos fueron identificados como monosacáridos; Fructose, Mannose y alpha Glucopyranoside, con tiempos de retención de 18,801, 21,893 y 36,327 respectivamente, y 5 compuestos fueron identificados como disacáridos: Palatinose, Melibiose, Maltose, beta.-Gentiobiose y sucrose con tiempos de retención de; 29,961, 30,141, 30,450, 30,885 y 36,540 respectivamente. Tabla 4.16.

El presente trabajo investigativo evidencia la presencia de una cantidad considerable de azúcares monosacáridos y disacáridos en el lixiviado de *Theobroma cacao L.*; así mismo, se identificaron 2 compuestos polisacáridos; xylitol y Inositol, con tiempos de retención de 16.537 y 20.172 respectivamente (Tabla 4.18.), que pueden ser desdoblados a grupos alcohólicos.

Para el lixiviado de *Coffea canephora L.*, se identificaron un total de 28 compuestos químicos, que están presentados en la Tabla 4.14.: 7 azúcares monosacáridos fueron identificados como; L-Threonic acid, D-(-)-Ribofuranose, Arabinose, D-lyxose, d-(+)-Xylose, Glucaric acid, D-(+)-Galacturonic acid, y D-(+)-Cellobiose; con tiempos de retención de 13.933, 15.240, 15.336, 16.420, 17.217, 20.852, 20.969, 30.800 respectivamente, mientras que solo un disacárido fue encontrado: D-(+)-Cellobiose con un tiempo de retención de 30.800.

El lixiviado de *Coffea canephora L.*, presentó un total de 8 azúcares de fácil conversión a otra especie química, y 3 polialcoholes: ERYTHRITOL, Glucitol e INOSITOL, con tiempos de retención de; 13.040, 19.789 y 21.862 respectivamente (Tabla 4.17).

Cabe recalcar que se identificaron otros tipos de compuestos como compuestos triterpénicos para lixiviado de cacao y alcaloides para café, compuestos que contrastan el tamizaje fitoquímico

realizado. Sin embargo se presentan solo los compuestos de mayor interés para canalizar el cumplimiento del objetivo planteado.

Monosacáridos y Disacáridos

Tabla 4.16. Azúcares identificados en los lixiviados de *Coffea canephora* L.

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$	Tipo
L-Threonic acid	13.933	0,157	1,528E-02	Monosacárido
D-(-)-Ribofuranose	15.240	0,075	0,007	Monosacárido
Arabinose	15.336	0,080	0,014	Monosacárido
D-lyxose	16.420	0,105	0,021	Monosacárido
d-(+)-Xylose	17.217	0,510	0,110	Monosacárido
Glucaric acid	20.852	0,300	0,170	Monosacárido
D-(+)-Galacturonic acid	20.969	0,137	0,006	Monosacárido
D-(+)-Cellobiose	30.800	0,240	0,042	Disacárido

Elaborado por: Autor, 2015

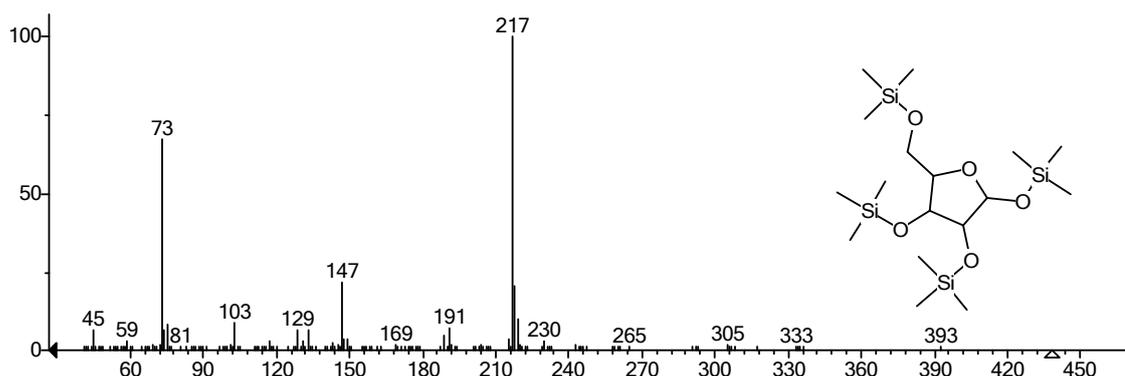


Figura 4.3.: Espectro de masas de D-(-)-Ribofuranose

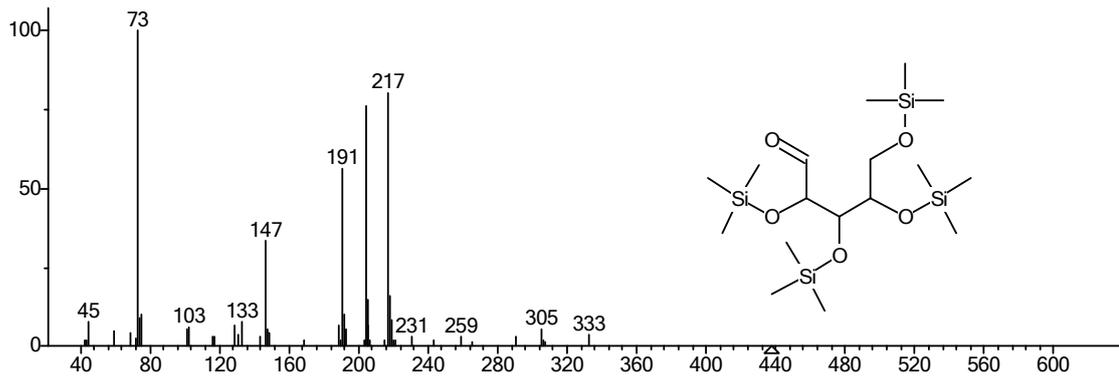


Figura 4.4.: Espectro de masas de Arabinose

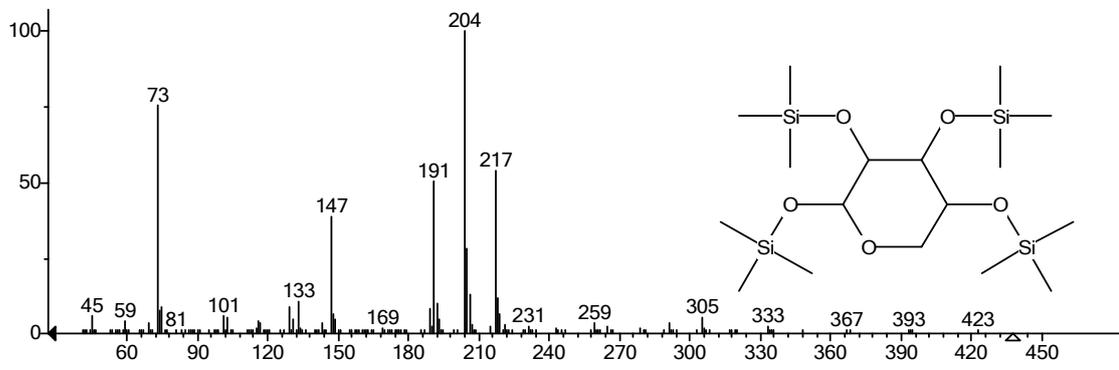


Figura 4.5: Espectro de masas de D-lyxose

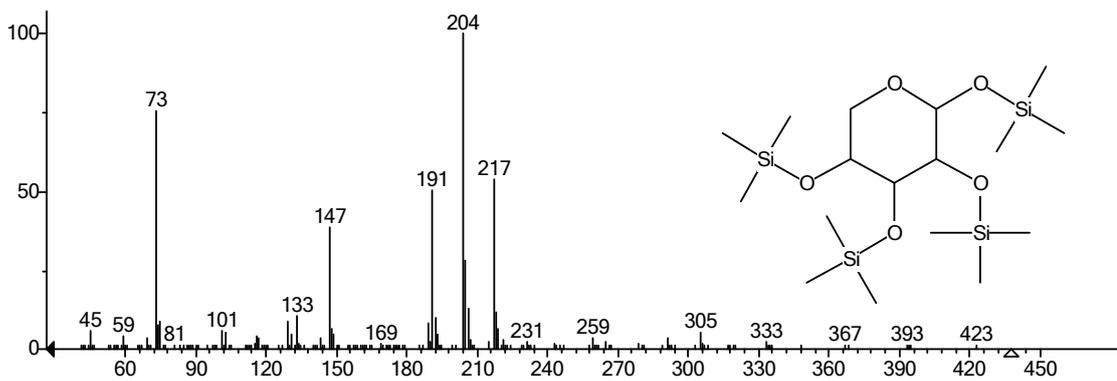


Figura 4.6: Espectro de masas de d-(+)-Xylose

Análisis y discusión de resultados

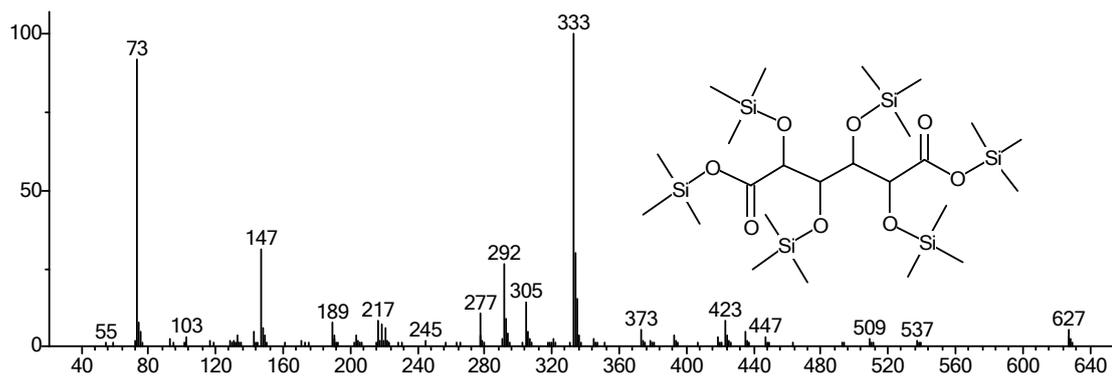


Figura 4.7.: Espectro de masas de Glucaric acid

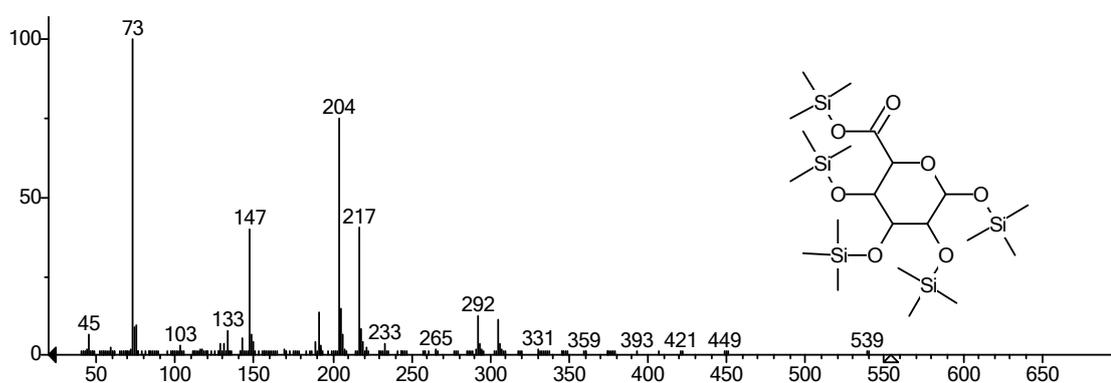


Figura 4.8: Espectro de masas de D-(+)-Galacturonic acid

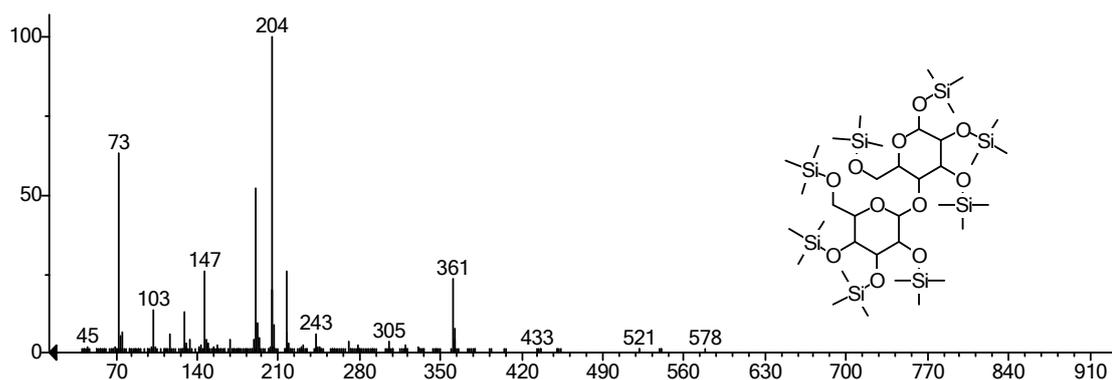


Figura 4.9.: Espectro de masas de D-(+)-Cellobiose

Tabla 4.17. Azúcares identificados en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$	Tipo
d-(-)-Fructose	18,801	0,245	0,021	Monosacárido
D-Mannose	21,893	0,035	0,007	Monosacárido
Palatinose	29,961	0,045	0,006	Disacárido
Melibiose	30,141	0,050	0,017	Disacárido
MALTOSE	30,450	0,045	0,007	Disacárido
.beta.-Gentiobiose	30,885	0,078	0,026	Disacárido
.alpha.-D-Glucopyranoside	36,327	0,043	0,006	Monosacárido
Sucrose	36,540	0,170	0,020	Disacárido

Elaborado por: Autor, 2015

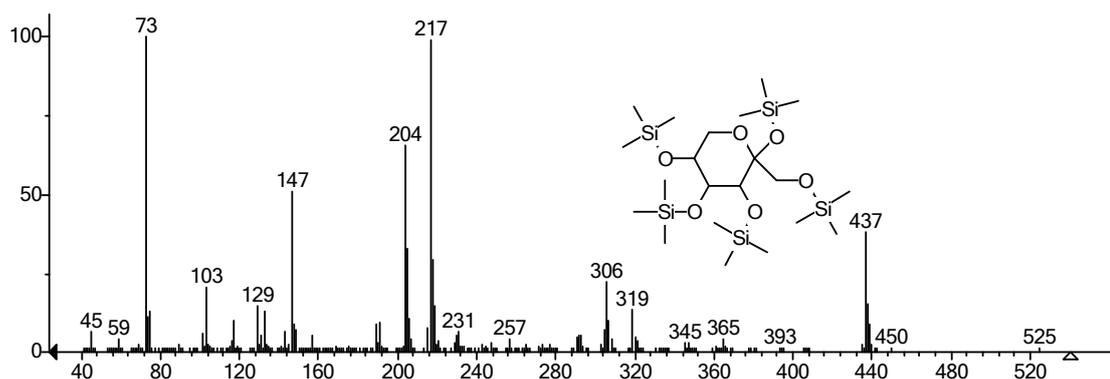


figura 4.10: Espectro de masas de d-(-)-Fructose

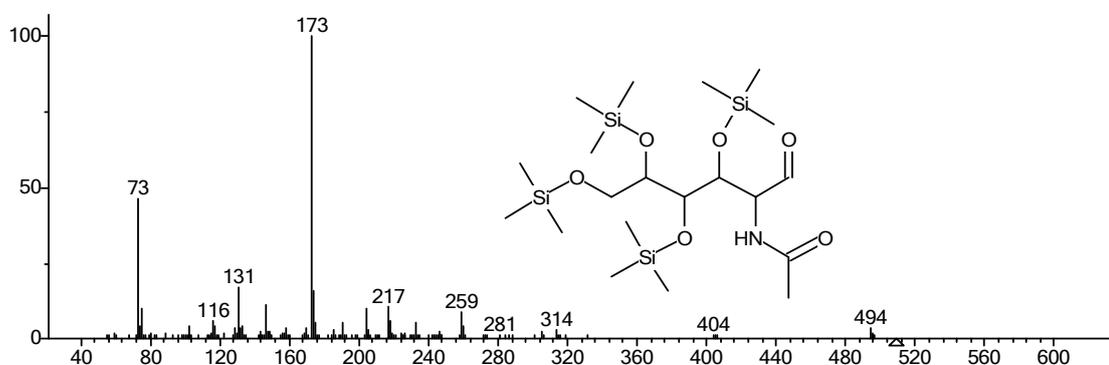


Figura 4.11: Espectro de masas de d-(-)-Fructose

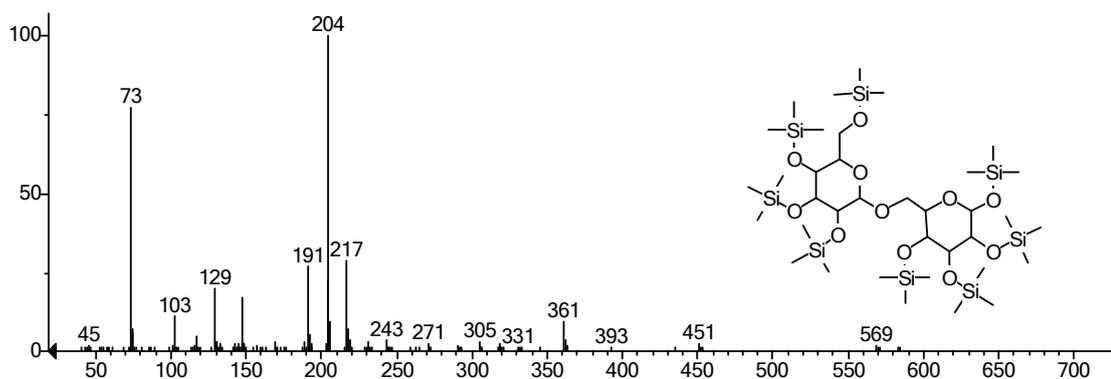


figura 4.12: Espectro de masas de Melibiose

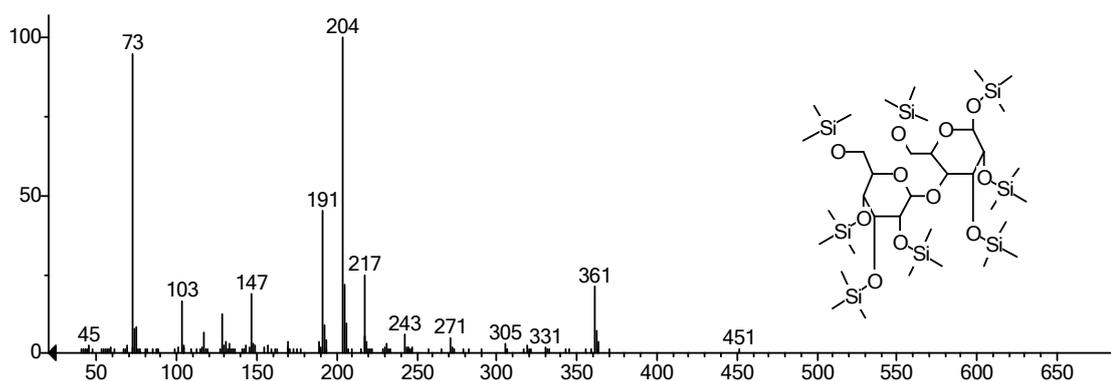


Figura 4.13: Espectro de masas de MALTULOSE

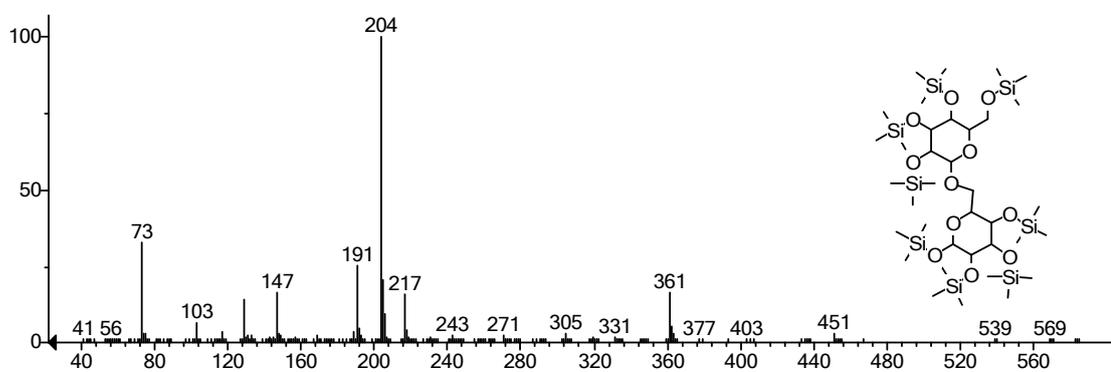


Figura 4.14: Espectro de masas de .beta.-Gentiobiose

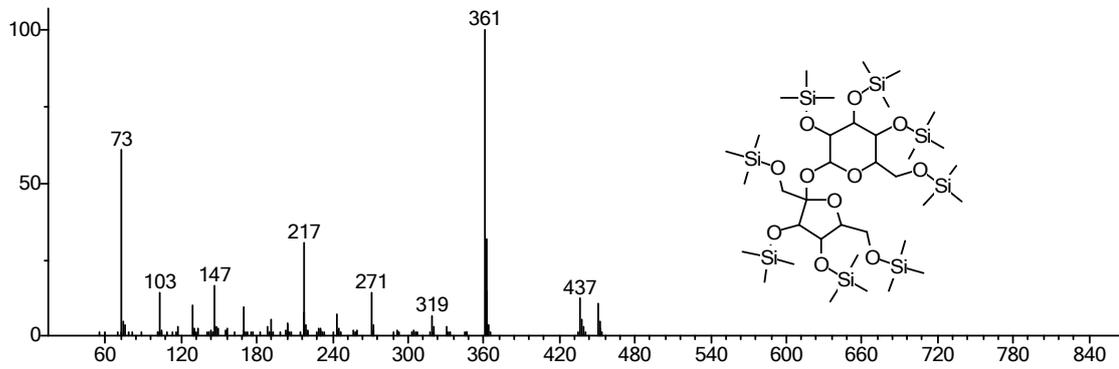


figura 4.15: Espectro de masas de .alpha.-D-Glucopyranoside

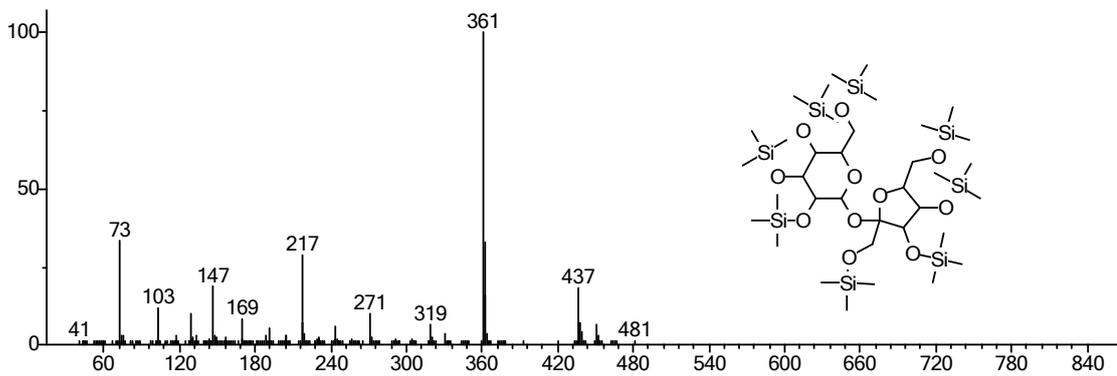


Figura 4.16: Espectro de masas de Sucrose

Tabla 4.18. Polialcoholes identificados en los lixiviados de *Coffea canephora L.*

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$
ERYTHRITOL	13.040	0,087	0,006
Glucitol	19.789	0,450	0,000
MYO-INOSITOL	21.862	0,625	0,007

Elaborado por: Autor, 2015

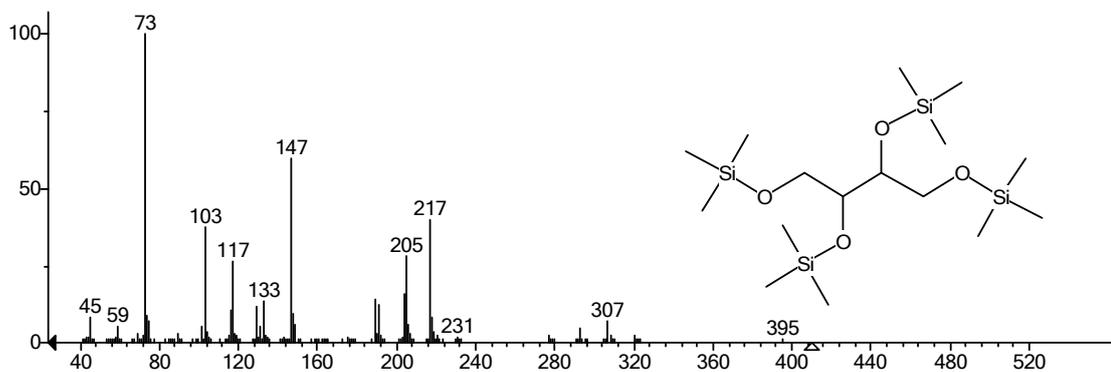


Figura 4.17: Espectro de masas de ERYTHRITOL

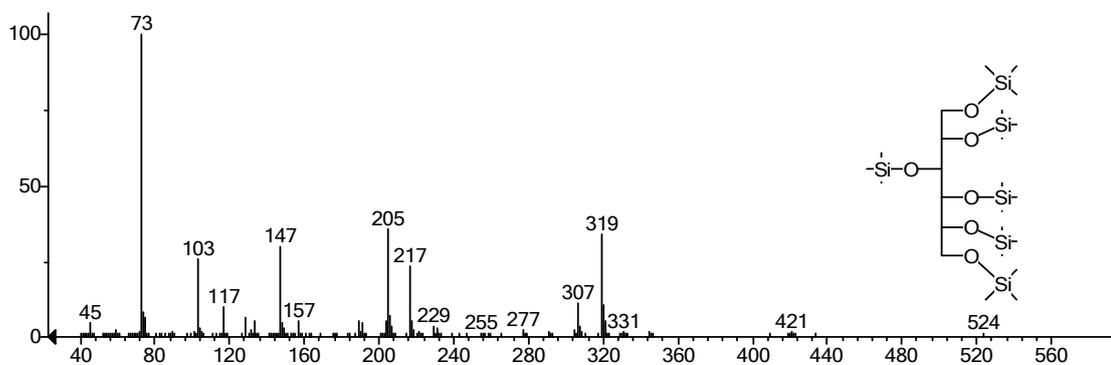


Figura 4.18: Espectro de masas de Glucitol

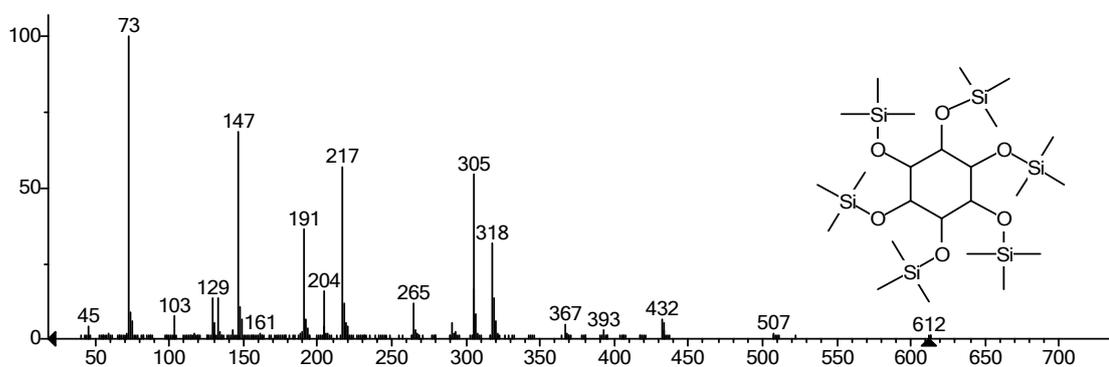


Figura 4.19: Espectro de masas de MYO-INOSITOL

Tabla 4.19. Polialcoholes identificados en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*

Compuesto	TR	Área	$\sigma(\text{Área})$
Xylitol	16.537	0,110	0,047
Myo-Inositol	20.172	0,147	0,015

Elaborado por: Autor, 2015

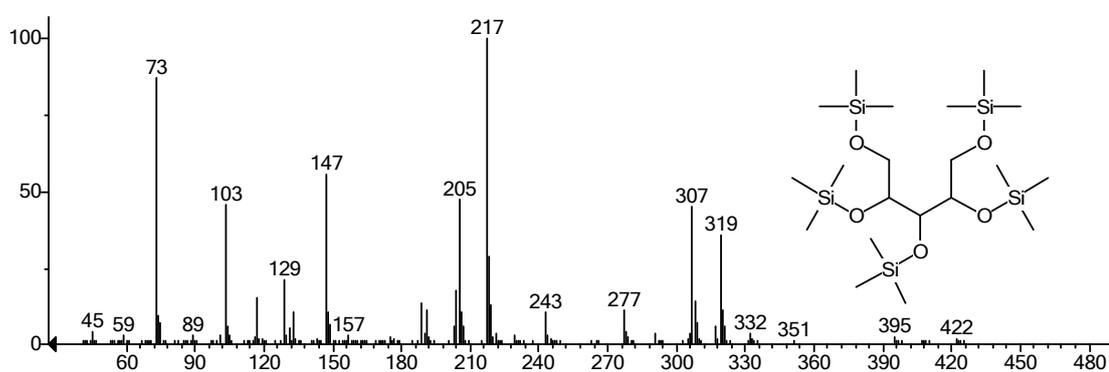


Figura 4.20: Espectro de masas de Xylitol

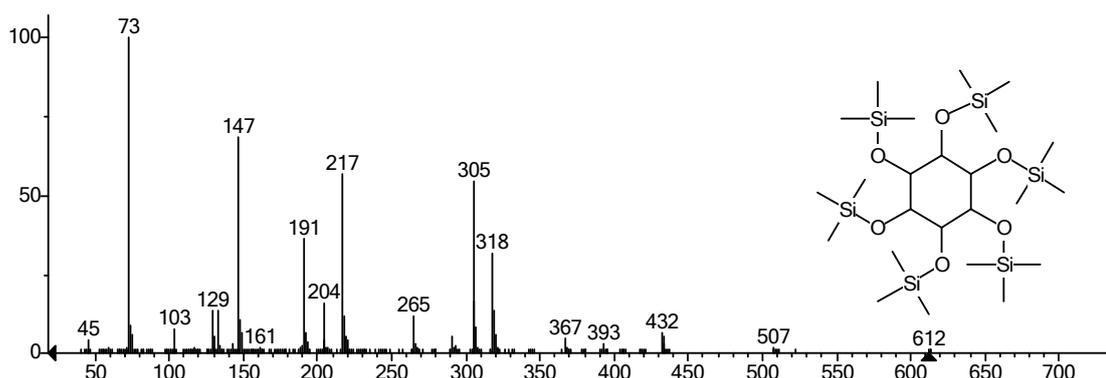


Figura 4.21: Espectro de masas de MYO-INOSITOL

4.6. Cuantificación de microelementos por Espectroscopia de Absorción Atómica y otras especies presentes en los lixiviados de *Theobroma cacao* L., y *Coffea canephora* L.

A continuación se muestra la cuantificación de varias especies químicas entre las cuales se describen: sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, fósforo, nitratos, nitritos y demanda química de oxígeno.

De las cifras mostradas en la Tabla 4.17., los valores que destacan son: Potasio con 0,19% para lixiviado de cacao y 0,14 % para lixiviado de café, estos valores se representa en porcentaje por su alta concentración con respecto a los demás elementos analizados.

Las cantidades de calcio y magnesio, son las más representativas con respecto a los otros elementos, tanto para el cacao como para el café.

Tabla 4.20. Microelementos presentes en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*, identificados por AAS

	Cacao Guayas	Cacao Los Ríos	Café Manabí	Café Guayas	Unidad
Sodio (Na)	0,02	10,00	3,76	5,88	mg/l
Potasio (K)	0,19	0,18	0,15	0,14	%
Calcio (Ca)	63,75	102,51	307,01	374,86	mg/l
Magnesio (Mg)	432,88	313,43	40,83	34,29	mg/l
Hierro (Fe)	0,073	0,237	0,008	0,103	mg/l

La cantidad de fósforo encontrado en los lixiviados de café y cacao superan los límites permitidos, siendo 12 veces más lo recomendable para descargas en cuerpos receptores (INEN, 2002).

Tabla 4.21. Microelementos presentes en los lixiviados de *Theobroma cacao L.*, y *Coffea canephora L.*

	Cacao Guayas	Café Guayas	Cáscara café Manabí	Unidad
Fósforo (P)	127,9	128,5	118,7	mg/l

Los análisis realizados al lixiviado de café muestran una alta demanda química de oxígeno, con valores de 46416 mg/l, lo cual es casi 100 veces más de lo permitido para descargas en cuerpos receptores según (INEN, 2002).

La cantidad nitratos, nitritos y nitrógeno total, son preocupante debido a que una alta concentración de estos compuestos generan problema de eutrofización en el ecosistema.

Tabla 4.22. Análisis químico del lixiviado de *Coffea canephora L.*

Parámetro	Resultados	Unidades
Demanda química de oxígeno (DQO)	46416	mg/l
Nitratos	35,03	mg/l
Nitritos	3,00	mg/l
Nitrógeno Total	94	mg/l

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

De los análisis efectuados a los lixiviados de café y cacao, así como del estudio macromorfológico realizada a muestras de esos subproductos de desechos, podemos concluir lo siguiente:

1. El análisis estadístico permite concluir que, a través de las características macromorfológicas del cacao, se puede decir que el peso de la mazorca, peso de la cáscara y profundidad del surco, son suficientes parámetros para explicar la variabilidad de las características morfológicas en mazorcas de *Theobroma cacao L.*, Las demás características no inciden y se consideran ruido.
2. El exudado del mucílago del cacao que no es aprovechado por la almendra para su fermentación natural, representa el 59% del peso total del grano seco. Este lixiviado tiene en promedio 19,6 °Brix y 3,58 de pH, que el tamizaje fitoquímico, determinó la presencia de azúcares reductores, triterpenos y alcaloides fundamentalmente. Los azúcares reductores constituyen el 8,7% en peso de la masa total de lixiviado. Estos azúcares reductores perfectamente convertibles por fermentación en etanol, constituyen la materia prima para ese propósito.
Si consideramos que la producción total de cacao seco de Ecuador en el 2014, fue de 240.000 TM y el 59% de esa cantidad es mucílago no empleado por la almendra para su fermentación; entonces, 141.600 TM de lixiviado de cacao se quedan en campo. Esa cantidad de subproducto del beneficio del cacao, equivale a 12.320 TM de azúcares reductores.

Considerando una eficiencia de conversión, de tan solo el 60% durante la fermentación (cifra realmente menor a la media para este tipo de reacción química), esos azúcares presentes en el lixiviado, producirían 1.261.450 galones de etanol hidratado (4-5% de agua), que el estado ecuatoriano lo emplearía para rectificarlo y mezclarlo con naftas importadas, para producir la gasolina ecopaís.

3. Con respecto a los desechos agrícolas del beneficio del café, la secuela negativa que estos dejan en campos, podemos resumirlas en las siguientes. El año 2014 Ecuador produjo 1.131.190 sacos de café oro de 60 Kg (67.871 Tm), que dejó como huella 54.700 Tm de desechos altamente contaminantes, por las siguientes causas:

- DQO: 46.416 mg/l (100 veces más de lo que permite la norma en el Ecuador para descarga en cuerpos de agua).
- Fósforo: 128,5 mg/l (12 veces más de lo que permite la norma en el Ecuador para descarga en cuerpos de agua).
- Nitrato y nitritos presentes en lixiviados.

Estos altísimos valores, originan severos daños ambientales a los cuerpos receptores debido a que los lixiviados se infiltran en el subsuelo y desembocan en cuerpos hídricos ocasionando eutrofización. Dado que el presente estudio cuantifica los azúcares reductores de los lixiviados, que al igual que los del cacao, por fermentación se convierten en alcoholes, su aprovechamiento como valor agregado para la producción de biocombustible, se constituiría en una solución práctica de doble beneficio: obtención de bioetanol y reducción considerable del grave daño ambiental que origina su actual manejo.

4. El presente estudio, desarrollado con el empleo de técnicas y equipos de análisis instrumental moderno, ha permitido por Cromatografía de Gases acoplada a Masas, identificar una amplia gama de especies químicas con un 95% de probabilidad de existencia, donde se destacan principalmente: azúcares monosacáridos, disacáridos, polialcoholes, alcaloides, Triterpenos, entre otros, que a partir del presente trabajo, podrían constituirse en importantes líneas de investigación para futuros doctorandos.

BIBLIOGRAFÍA



Bibliografía

- Abarca, D. (2010). Residuos de Café, Cacao y Clododio de Tuna: Fuentes promisorias de fibra dietaria. Guayaquil: Revista Tecnológica ESPOL.
- AEBE. (2014). Estadísticas 2014.
- AGROCALIDAD. (2012). Guía de buenas prácticas agrícolas para cacao. AGROCALIDAD, 25 - 27.
- Aguavil, J. (2011). Elaboración de galletas a partir de la harina de placenta del caco de la UTE.STO.DGO. Santo Domingo: Universidad Tecnológica Equinoccial de Santo Domingo.
- Alarcón, E. (1979). Manual del cafetero colombiano. En E. Alarcón, Ffederación Nacional de Cafeteros de Colombia (págs. 149-179). Colombia.
- Albornoz, A. (1980). Productos naturales. Universidad Central de Venezuela, 616.
- ANDES. (2010). País más mega diverso del mundo. Quito.
- ANDES. (2014). Ecuador destaca entre los cinco mayores productores de cacao del mundo. ANDES.
- ANDES. (2014). Exportaciones banano ecuatoriano. Agencia Pública de noticias de Ecuador y Sudamérica.
- ANECAFE. (2014). Exportaciones 2014.
- ANECAFE. (2014). Exportaciones 2014. Obtenido de <http://www.anecafe.org.ec/wp->

content/uploads/2014/03/Acumulado-por-calidad-a%C3%B1o-1992-2014.pdf

- Armas, E., Corneja, N., & Murcia, K. (2008). Propuesta para el aprovechamiento de los subproductos del beneficiado del café como una alternativa para la diversificación de la actividad cafetalera. El Salvador: Universidad de El Salvador.
- Astor, Y. M., Lorenzoni, L., Thunell, R., Muller Karger, F., Troccoli, L., Taylor, G. T., y otros. (2013). Internannual variability in sea surface temperature and fCO₂ changes in the Cariaco Basin. *Deep Sea Res.*, 33-34.
- Baena, L. (2012). Obtención y caracterización de fibra dietaria a partir de la cascarilla de las semillas tostadas de *Theobroma cacao* L. de una industria chocolatera colombiana. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.
- Ballesteros, M. (2004). La biomasa como fuente de energía. Universidad de Salamanca.
- Barazarte, H., & Sangranis, E. (2008). *Theobroma cacao* L, una posible fuente comercial de pectinas. Caracas: Sociedad Latinoamericana de nutrición.
- Barazarte, H., & Sangronis, E. (2008). La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L): una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos latinoamericanos de Nutrición*.
- Barén cedeño, I. (2013). "utilización del mucílago de cacao (*theobroma cacao* l.), tipo nacional y ccn-51 en la obtención de dos jaleas a partir de tres formulaciones, quevedo, ecuador 2013". Universidad técnica estatal de quevedo, quevedo.
- BCE. (2013). Economía del Ecuador 2013. Banco Central del Ecuador.

-
- BCE. (2014). Estadísticas de comercio exterior. Quito: BANCO CENTRAL DELECUADOR.
- BCE. (2015). Reporte de coyuntura Sector Agropecuario. Quito: ISSN N|° 1390 - 0579.
- Bermúdez, R., & at, a. (2002). Fermentación sólida de la cáscar de cacao por pleorotus sp. Cuba: Tecnología Química. Centre de Estudios de Tecnología Industrial. Universidad de Oriente Cuba.
- Biocomercioandino. (2014). Biodiversidad en Ecuador. Biocomercio andino.
- Boada, A. O. (2002). Empresario y medio ambiente. Principio de economía sostenible. Colombia.
- Bouafou, G., Konan, A., Zannou, T., Choko, V., & Kati-Coulibally, S. (2011). Potential Food Waste and By-products of Coffe in animal feed. Elcectron J Biol.
- Bravo, B. (2009). Aislamiento, selección, producción de biomasa y preservación de cepas ácido lácticas a partir de residuos del cafeto. Quito: Universidad Central del Ecuador.
- Bravo, D. (2010). Evaluación fisicoquímica del comportamiento de las almendras de cacao. Perú: Universidad Nacional de San Martín Tarapoto. facultad de Ingeniería Agro Industrial.
- Buzas, k. D. (20 de december de 1988). Influence of ph on the growth and ethanol. Jozsef attila university, department of biochemistry.
- Cabodevilla, M. (1994). Los Huaoranis en la Historia de los Pueblos del Oriente. CICA-ME. Coca.
- Calle V, H. (1977). Subproductos del café. CENICAFÉ, 84.

-
- Carrión, J. (2012). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51, Jama-Manabí. Tesis, Quito.
- Castaño, B. (1999). Caracterización microbiológica y físico-química de la pulpa de café sola y con mucílago, en proceso de lombricompostaje. Cartago - Costa Rica: IICA - CATIE.
- Castillo Corella E, Acosta Acosta Y, Betancourt Santos NN, Castellanos Mc Cook EL, Matos Gómez AM, Cobos Tellez V, Jover Cerdá M. Utilización de la pulpa de café en la alimentación de alevines de tilapia roja. Revista AquaTIC, nº 16, Abril 2002. [Disponible el 16/11/2015 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=&c=143>]
- Cavieres, P. (2008). Biocombustibles de primera generación. ELECTRO INDUSTRIA.
- Cenicafé. (agosto de 2012). Factores, procesos y controles en la fermentación del café. 8.
- Chinappi, I., & Jeréz, A. (2008). Biodigestión anaeróbica de la pulpa del café. Propuesta de saneamiento ambiental y ahorro energético. Trujillo - Venezuela: Universidad de los Andes.
- COFEEA. (2008). La cascarilla de café como materia prima para elaborar papel. México: Universidad Nacional autónoma de México.
- COFENAC. (2010). Influencia métodos de beneficio sobre calidad café robusta. Portoviejo.
- COFENAC-SICA. (2010). INFLUENCIA DE MÉTODOS DE BENEFICIO SOBRE LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA DEL CACAO ROBUSTA. COFENAC - SICA, 53.

-
- Crescente, O., & al, a. (1999). Aprovechamiento de los desechos de cacao (*Theobroma Cacao* L). Venezuela.
- Crescente, O., & al, e. (1999). Aprovechamiento de los desechos del cacao. *Saber*, Vol. 11 No.2.
- Cuéllar, O., & Guerrero, G. (2012). Actividad antibacteriana de la cáscara de cacao. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Escuela de Tecnología Química.
- D, S., M, C., & W, V. (2013). Encuesta de superficie y Producción Agropecuaria. Ecuador en cifras.
- Duicela, A., & otros. (2010). Influencia de métodos de beneficio sobre la calidad organoléptica del café robusta. Portoviejo: COFENAC.
- Duicela, L. a. (2004). Pos cosecha y calidad del café arábigo. COFENAC, EL CAFÉ, PROMSA, 56.
- Duicela, L., & Sotomayor, I. (1993). Manual del cultivo del café. INIAP.
- Duicela, L., & Sotomayor, I. E. (1993). Cosecha y beneficio. En Manual del cultivo del café. INIAP, FUNDAGRO, GTZ. (págs. 198-211). Quevedo. Estación Experimental Pichilingue.
- Duicela, L., Corral, R., & Farfán, D. (2002). El clima en las zonas de producción de café arábigo. COFENAC.
- Duicela, L., Guamán, J., & Farfán, D. (2015). Guayaquil: Solubles Instantáneos C.A.
- Duicela, L., Guamán, J., & Farfán, D. (2015). Guayaquil: Solubles Instantáneos C.A.
- Enríquez, G. (1989). El cultivo del cacao. Obtenido de www.ute.edu.ec/pdf-itt/Tsafiqui_No_4.pdf.

-
- EP Petroecuador: Gasolina Ecopaís. (2014). Business Culture.
- Faba, I., Díaz, E., & Ordoñez, S. (Junio de 2013). La biomasa como materia prima para la obtención de combustibles líquidos. *Ecotimes*. Obtenido de <http://www.ambientum.com/revista/2013/junio/biomasa-como-materia-prim-para-obtencion-combustibles-liquidos.asp>
- FAO. (10 de Mayo de 2010). Directrices para prevenir la formación de mohos en el café. Obtenido de ftp://ftp.fao.org/ag/agn/coffee/guidelines_final_es.pdf.
- Farfán, D. (2000). Comparación de tres procesos post cosecha sobre la calidad organoléptica del café robusta. En D. Farfán, Tesis de Grado (pág. 82). Portoviejo.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2003). Ensilaje de pulpa de café. CENICAFE, 6.
- Figueira, e. a. (1993). Exudate appearance.
- G, E. (1989). El cultivo del cacao. EUNED.
- Galindo, Y. (1998). Caracterización de los beneficios húmedos del café y estimación de sus cargas contaminantes. Guatemala: Tesis de Grado.
- García, J. (2008). Evaluación de la cascarilla de café para utilizarse como sustrato en cultivo sin suelo de hortalizas. Tesis, Oaxaca, México.
- Gómez, D. N., & Adalid, J. (2006). Producción de alcohol etílico a partir del mucílago del café. Tesis de Grado.
- Gradwell, S. E. (2004). Surface modification of cellulose fibers: towards wood composites by biomimetics. *Comptes Rendus Biologies*.

-
- Haarer, A. (1984). Producción moderna de café. Continental.
- Hackenberg, N. (2008). Biocombustibles de segunda generación. revistavirtual.redesma.org - vol4.
- Hites, R. A. (1997). Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. (F. A. Settle, Ed.) United States of America: Precision Graphics Services, Inc.
- INAMHI. (2015). La meteorología al servicio del sector agropecuario del Ecuador.
- INEC. (2013). Encuesta de superficie y producción agropecuaria. Quito.
- INEN. (1998). NTE INEN 2 169:98. Quito: INEN .
- INEN. (2006). Café verde en grano. Clasificación y requisitos. Quito: NTE INEN 285: 2006. EC. s.p. .
- INEN. (2006). NTE INEN 285:2006. Café verde en grano. Clasificación y requisitos, 10.
- INEN. (2006). Requisitos cacao en grano. Quito.
- INOCAR. (2012). Información general de la Republica del Ecuador. Instituto Oceanográfico de la Armada, 13.
- Institute of nutrition of central america and panama. (s.f.). Coffee pulp (composition, technology, and utilization). (j. B. Bressani, ed.)
- Kaiser, H.F. "The Varimax criterion for analytic rotation in factor analysis". Psychometrika, 1958.
- Las enzimas. (17 de Octubre de 2015). Obtenido de <http://www.uned.es/pea-nutrición-y-dietética-I/guía/guianutr/enzimas.htm>

-
- Lescaroux, F. (2011). Dynamics of final sectoral energy demand and aggregate energy intensity. *Energy Policy*, 66-82.
- Leyva, A., & Gonzaga, R. (Octubre de 2011). Cultivos energéticos y biocombustibles. LYCHNOS.
- López, A., & Castlo, b. (2011). Aprovechamiento de las aguas mieles para la producción de etanol y abono orgánico. Guatemala: Universidad Nacional de Ingeniería.
- López, G. (2013). Valoración de biomasa de origen vegetal mediante procesos térmicos y termoquímicos. UCLM.
- López, T., & at, a. (2014). La pulpa de café, un residuo como fuente de antioxidantes polifenólicos. *CIENCIA CIERTA. Revista de divulgación científica*.
- López, V. (2014). Tratamiento de desechos sólidos de derivados del cacao y la productividad en la planta de chocolate. Ambato: Repositorio Digital Universidad Técnica de aMBATO.
- MAGAP. (2012). Planta extractora de aceite piñón para generación electricidad en galápagos.
- MAGAP. (2012). Proyecto de reactivación cacao fino de aroma. Quito: MAGAP.
- MAGAP. (2013). Cacao. Superficie, producción y rendimiento. Quito.
- Mapas. (7 de Junio de 2014). www.mapsofworld.com. Obtenido de <http://www.mapsofworld.com>
- Marcillo, B., & Meza, M. (2010). Vino a partir del mucílago del caco. Calceta: Tesis de Grado.

-
- Marcolan, A., & al., a. (2009). Cultivo dos cafeeiros Conilon e Robusta para Rondônia. 3 Ed. rev. Sistema de Producao/Embrapa Rondônia., 61.
- Martínez, N. (1959). Coffe mucilage: Its chemical composition. Coffe and tee industries and the flavor field. 17-18.
- MCEP. (2014). Cacao y elaborados. Pro Ecuador.
- MEER. (2008). Políticas energéticas del Ecuador 2008 - 2020. MEER.
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2000). Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. La Habana, Cuba: Universidad de la Habana.
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Farmacognosia y productos naturales. La habana, Cuba: Felix Varela.
- Molina, L. (1999). Gastos defensivos del beneficiado del café en la Zona Pacífica Central de Nicaragua. Turrialba - Costa Rica: CATIE. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Montilla, J. (2006). Caracterización de algunas propiedades físicas y factores de conversión del café. Manizales: Universidad de Caldas.
- Moya, R. (2006). Climas del Ecuador. INAMHI. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología.
- Murillo, I., & Quilambaqui, M. (2008). Evaluación de 2 dietas experimentales con diferente niveles de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L) en las fases de crecimiento y acabado de cuyes (*cavia porcellus* L.) de raza andina. Tesis, Escuela Superior Politécnica del Litoral.

-
- N, P. (2002). Obtención del carbón activado a partir del residual sólido.
- Nernández, E. (2010). Modelo integral de producción de bioetanol, biogás y biofertilizantes a partir de los desechos del café. Tegucigalpa: SNV.
- Ohene Afoakwa, E. (2014). Cocoa production and Processing technology. Northwest: Taylor & Francis Group.
- Oliveira, R., & Carvalho, E. (2001). Influência da diversidade microbiana. Universidad Federal de Lavras-UFLA.
- PACARI. (2015). Ecuador, el paraíso donde nació el cacao fino de aroma. PACARI.
- Palacios, A., & al, a. (2007). Proceamiento de la pulpa de café como abonpo orgánico. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Phillips mora, w., arciniegas leal, a., & mata quirós, a. (2012). Catálogo de clones de cacao. Centro agronómico tropical de investigación.
- Plúa, J. (2008). Diseño de una línea procesadora de pasta de cacao artesanal. Tesis, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Guayaquil.
- PNUMA. (2009). Towards Sustainable Production and ue of Resources: Assessing Biofuels.
- PROECUADOR. (2013). Análisis del sector cacao y elaborados. Pro Ecuador, 2.
- PROECUADOR. (2013). Guayaquil: PROECUADOR.

-
- Puerta, G. (1999). Influencia del proceso de beneficio en la calidad del café. Colombia: Cenicafé 50.
- Puerta, G., & Ríos, S. (2011). Composición química del mucílago de café, según tiempo de fermentación. Colombia: CENICAFE.
- Puerta, Q., & Rodríguez, V. (2001). Buenas prácticas de manufactura y Plan HACCP para el proceso de café en finca. Universidad de Caldas. Facultad de Ingeniería.
- R.O. (2008). CONSTITUCIÓN REPÚBLICA DL ECUADOR. REGISTRO OFICIAL No. 449.
- Rajkumar, R., & Graziosi, G. (2005). Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. Organización Internacional del Café.
- Rathinavelu, R., & Graziosi, G. (2005). Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. Trieste - Italia: Organización Internacional del café.
- Roa, G., & at., a. (1999). Beneficio ecológico del café. CENICAFE.
- Rodríguez V., N. (2011). Obtención de pectinas a partir de la pulpa. CENICAFE, 90.
- Rodríguez, N. (2009). Estudio de un sistema integrado para el postratamiento de las aguas residuales del café, usando macrófitas acuáticas. Valencia - Colombia: Tesis Doctoral.
- Rodríguez, N. (2013). Producción de alcohol a partir de la pulpa de café. . Colombia: Revista Cenicafé 64 (2): 78-93. 2013.
- Rodríguez, N., & Zambrano, D. (2010). Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. CENICAFÉ, 4.

-
- Romero , C., & Zambrano, A. (2012). Análisis de azúcares en pulpa de cacao por colorimetría y electroforesis capilar. Revista Científica UDO Agrícola.
- Romero, O., & Hernández, I. (2013). EVALUACIÓN DE BAGAZO DE CAFÉ (*Coffea arabica*) como sustrato en la producción de pleurotus oryzae. México: Revista Mexicana de Agronegocios.
- Sánchez, J. (2012). Cascarilla de cacao. Perú.
- Sánchez, J. (2013). Evaluación energética cáscaras de cacao nacional y CCN-51. Cuenca.
- Sanchez, J. (2013). Evaluación energética de cáscara de cacao nacional y CCN-51. Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Sánchez, J. (2013). Evaluación energética de cáscaras de cacao nacional y CCN-51. Cuenca.
- SENAGUA. (2009). Delimitación y Codificación de unidades hidrológicas del Ecuador. Senagua.
- Sotolongo, j., & al, e. (2000). Impacto ambiental de los residuales del café sobre las principales cuencas de interés económico de la Provincia de Guantánamo, en el 200. Guantánamo.
- Tuchan, O. (2014). Evaluación del efecto de la pulpa de café (*coffea arábica*) en el incremento de la eficiencia biológica de la cepa inireb-8 de pleurotus ostreatus utilizando cáscara de cacao (*Theobroma cacao*) y bambú (*bambusa vulgaris var. striata*) como sustrato. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía.
- Twenergy. (01 de 12 de 2012). Endesa. Obtenido de <http://twenergy.com/a/emisiones-de-CO2-458>

-
- UNGTAD. (2012). Descripción y características del cacao.
- Universidad Veracruzana. (2015). Obtenido de <https://www.uv.mx/sara/facilidades/gcms/#>
- UNIVERSO. (19 de Julio de 2005). Cacao CCN-51 se reconoce como de alta productividad. EL UNIVERSO.
- Vázquez, M., Prada, P., & M., M. (2010). Optimización proceso de compostaje de productos post cosecha con aplicación de microorganismos nativos. Colombia: NOVA.
- Vélez, A., & López, J. (2011). Proceso para la obtención de miel de café a partir de la cáscara y mucílago del café. Colombia: <http://www.google.com/patents/EP2792245A1?hl=es&cl=es>.
- Vidya endrai, a. (2011). Total phenolics and antioxidant capacity of cocoa pulp:. University of new jersey, new brunswick.
- Villagómez, S. (2013). Vinagre a partir del mucílago de cacao. Quito: Tesis de Grado . Ingeniería de Alimentos. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Winkel, T. (2013). Ecuador and cacao: An old alliance. Colorado State University, Department of Horticulture and Landscape Architecture, Colorado.
- Yougen, W., Xianchao, L., Dongmei, Y., & Xinwen, H. (2013). Isolation and identification of the water-soluble components of Pogostemon cablin. Chemical Engineering III, 71–76.
- Zambrano, D. (1994). Lavado de café en los tanques de fermentación. CENICAFÉ.
- Zuloaga, J., & Zambrano, D. (1993). Manejo del agua en el proceso de beneficio húmedo del café para el control de la contaminación. CENICAFÉ.

