



REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADOS

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Evaluación de residuos agroindustriales de cacao (*Theobroma cacao* L. cv. CCN51) y plátano maduro (*Musa paradisiaca* var. *Barraganete*) para la producción de bioetanol mediante fermentación alcohólica.

AUTOR:

Christian Orlando Camacho López

TUTOR:

PhD. Diego Geovanny Barzallo Granizo

MILAGRO, 2026

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Christian Orlando Camacho López**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación a través de bioproductos para su producción industrial** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **21 de noviembre del 2025**



Christian Orlando Camacho López

C.I.: 1804639894

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Diego Geovanny Barzallo Granizo PhD**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Christian Orlando Camacho López**, cuyo tema es **Evaluación de residuos agroindustriales de cacao y plátano maduro para la producción de bioetanol mediante fermentación alcohólica**, que aporta a la Línea de Investigación **Innovación a través de bioproductos para su producción industrial**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 21 de noviembre del 2025



Diego Geovanny Barzallo Granizo PhD

C.I.: 0603923095

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
ACTA DE SUSTENTACIÓN
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los veintisiete días del mes de febrero del dos mil veintiseis, siendo las 08:30 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. CAMACHO LÓPEZ CHRISTIAN ORLANDO, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **EVALUACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE CACAO (THEOBROMA CACAO L. CV. CCN51) Y PLÁTANO MADURO (MUSA PARADISIACA VAR. BARRAGANETE) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL MEDIANTE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: CHENCHE LOPEZ OSCAR MAURICIO, Presidente(a), MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS en calidad de Vocal; y, Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	56.33
SUSTENTACIÓN	38.00
PROMEDIO	94.33
EQUIVALENTE	MUY BUENO

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 09:30 horas.



Firmado electrónicamente por:
OSCAR MAURICIO
CHENCHE LOPEZ

Validar únicamente con Fimac@C

CHENCHE LOPEZ OSCAR MAURICIO
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
GUSTAVO ELIAS
MARTINEZ VALENZUELA

Validar únicamente con Fimac@C

MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS
VOCAL



Firmado electrónicamente por:
CHRISTIAN MIGUEL
VILLAVICENCIO YANOS

Validar únicamente con Fimac@C

Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
CHRISTIAN ORLANDO
CAMACHO LOPEZ

Validar únicamente con Fimac@C

ING. CAMACHO LÓPEZ CHRISTIAN ORLANDO
MAGISTER

Dedicatoria

Dedico esta investigación a mi novia Lesly, cuya compañía y apoyo han sido un pilar fundamental para el desarrollo de esta investigación. A mi familia, por su apoyo incondicional a lo largo de todos mis años de estudio. A Dios, por la vida y por todas las bendiciones recibidas en mi vida. Así también extendo esta dedicatoria a mis estudiantes, con la esperanza de que reconozcan que no existe meta imposible cuando se trabaja con perseverancia y propósito.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mi familia por su apoyo incondicional, y en especial a mi amada novia, cuya paciencia, comprensión y respaldo fueron esenciales para asumir este nuevo reto. Extiendo también mi gratitud a mi grupo de trabajo, cuyo compromiso y colaboración hicieron posible la cristalización de esta investigación. Agradezco igualmente a mis docentes por compartir sus conocimientos y orientar mi formación académica. Finalmente, doy gracias a Dios por permitirme aprender cada día y forjarme para ser una mejor persona y profesional.

Resumen

La valorización de residuos agroindustriales constituye una alternativa innovadora para la producción sostenible de biocombustibles en países con alta generación de subproductos agrícolas como el Ecuador. La presente investigación evaluó la factibilidad técnica de producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* utilizando cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* CCN51) y cáscaras de plátano maduro (*Musa paradisiaca* var. *Barraganete*), ambas sometidas previamente a hidrólisis ácida con H_2SO_4 al 1,5% v/v. El pretratamiento permitió incrementar significativamente los azúcares solubles, pasando de valores iniciales de 3 °Brix a 10 °Brix, confirmando la eficacia de la hidrólisis para liberar carbohidratos fermentables. Posteriormente los mostos se fermentaron durante 21 días a 25 °C, registrándose una disminución progresiva de los sólidos solubles. Se demostró estadísticamente que el tiempo explica el 51% de la variación de grados Brix, con una mayor reducción al inicio de la fermentación. Asimismo, el ANOVA tipo III evidenció diferencias significativas en la disminución del grados Brix entre ambos residuos, aunque la tendencia global fue similar. La producción de etanol se cuantificó mediante destilación fraccionada, obteniéndose rendimientos de 18,03 mL EtOH/kg para plátano maduro y 15,73 mL EtOH/kg para cacao. El ANCOVA mostró que el tipo de sustrato influye significativamente en la producción de etanol, mientras que el conteo de levaduras, aunque significativo, no presentó una relación lineal directa, sugiriendo que la eficiencia fermentativa depende más del estado fisiológico celular que de la cantidad de biomasa. En conjunto, los resultados confirman que ambos residuos agroindustriales son sustratos viables para la producción de bioetanol, demostrando la factibilidad técnica del proceso e identificando su potencial como alternativa sostenible para su valorización.

Palabras clave: residuos, bioetanol, cáscaras, fermentación alcohólica.

Abstract

The valorization of agro-industrial residues represents an innovative alternative for the sustainable production of biofuels in countries with high generation of agricultural by-products, such as Ecuador. This study evaluated the technical feasibility of producing bioethanol through alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*, using cocoa husks (*Theobroma cacao* CCN51) and ripe plantain peels (*Musa paradisiaca* var. *Barraganete*), both previously subjected to acid hydrolysis with 1.5% v/v H₂SO₄. The pretreatment significantly increased soluble sugars, rising from initial values of 3 °Brix to 10 °Brix, confirming the effectiveness of hydrolysis in releasing fermentable carbohydrates. Subsequently, the musts were fermented for 21 days at 25 °C, resulting in a progressive decrease in soluble solids. Statistical analysis demonstrated that time explained 51% of the variation in °Brix, with the greatest reduction occurring at the beginning of fermentation. Likewise, the Type III ANOVA showed significant differences in °Brix reduction between both residues, although the overall trend was similar. Ethanol production was quantified by fractional distillation, yielding 18.03 mL EtOH/kg for ripe plantain and 15.73 mL EtOH/kg for cocoa. The ANCOVA indicated that the type of substrate significantly influenced ethanol production, while yeast counts although significant did not show a direct linear relationship, suggesting that fermentative efficiency depends more on the physiological state of the cells than on biomass quantity. Overall, the results confirm that both agro-industrial residues are viable substrates for bioethanol production, demonstrating the technical feasibility of the process and highlighting their potential as sustainable alternatives for residue valorization.

Key words: waste, bioethanol, peels, alcoholic fermentation.

Lista de Figuras

Gráfica 1. Boxplot entre los ciclos de hidrólisis y la cantidad de grados Brix	50
Gráfica 2. Boxplot entre el tiempo y la variación de grados Brix	56
Gráfica 3. Relación entre rendimiento y la cantidad de grados Brix.....	61

Lista de Tablas

Tabla 1. Matriz de operacionalización para verificar coherencia entre pregunta-objetivos-variable-indicadores	12
Tabla 2. Materiales y reactivos	43
Tabla 3. Factores y variables de respuesta	47
Tabla 4. Factores y niveles del diseño experimental	48
Tabla 5. Análisis descriptivo entre los ciclos de hidrólisis y la cantidad de grados Brix.....	49
Tabla 6. Análisis de la varianza	50
Tabla 7. Análisis de la varianza tipo III	51
Tabla 8. Prueba de Tukey factor A	51
Tabla 9. Prueba de Tukey factor B	52
Tabla 10. Prueba de Tukey interacción A x B.....	52
Tabla 11. Análisis de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis	53
Tabla 12. Coeficientes de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis	53
Tabla 13. Análisis de la varianza	54
Tabla 14. Análisis de la varianza SC tipo III	54
Tabla 15. Factores y niveles del diseño experimental	55
Tabla 16. Análisis de la varianza	56
Tabla 17. Análisis de la varianza tipo III	57
Tabla 18. Prueba de Tukey factor A	58
Tabla 19. Prueba de Tukey factor B	58
Tabla 20. Prueba de Tukey factor A x B.....	59
Tabla 21. Análisis de varianza	59
Tabla 22. Análisis de la varianza tipo III	60
Tabla 23. Análisis de regresión lineal entre el volumen de etanol y conteo de levaduras	60
Tabla 24. Análisis de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis	61

Índice / Sumario

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación.....	II
Certificación de Defensa.....	¡Error! Marcador no definido.
Dedicatoria	IV
Agradecimientos.....	V
Resumen	VI
Abstract	VII
Lista de Figuras.....	VIII
Lista de Tablas.....	IX
Índice / Sumario	X
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación	4
1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.2. Delimitación del problema	6
1.3. Preguntas de investigación.....	7
1.4. Objetivos.....	7
1.5. Hipótesis de investigación	8
1.6. Justificación	10
1.7. Declaración de las variables (Operacionalización)	11
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial	14
2.1. Antecedentes Referenciales.....	14
2.2. Marco Conceptual	16
2.3. Marco Teórico.....	19
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico	42
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	42
3.2. Población y muestra	42
3.3. Métodos y técnicas de la investigación	43
3.4. Procesamiento estadístico de la información	47
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados.....	48
4.1. Liberación de azúcares simples mediante hidrólisis ácida	48
4.2. Variación de los grados Brix en función del pH	53
4.3. Reducción de los azúcares en función del tiempo	54
4.4. Relación entre la cantidad de etanol producido y el sustrato utilizado	59
4.5. Análisis del rendimiento de producción de etanol	61
CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones.....	62

5.1.	Discusión	62
5.2.	Conclusiones	67
5.3.	Recomendaciones	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		71

Introducción

Actualmente, numerosos países han optado por buscar fuentes de energía limpia que garanticen su seguridad energética a largo plazo debido al agotamiento de los combustibles fósiles y los crecientes problemas ambientales asociados a su explotación, como la emisión de gases de efecto invernadero (Sarlat, 2018).

Sin embargo, algunas alternativas como la energía solar, eólica, hidroeléctrica, geotérmica y algunas energías derivadas de la biomasa, como el biogás y el biodiésel requieren de tecnologías avanzadas y costosas, o enfrentan desafíos en su almacenamiento y continuidad en el suministro energético (Posso, 2015) (Morezuelas, 2014).

En este contexto, el bioetanol representa una de las fuentes más prometedoras de energía renovable para sustituir parcialmente los combustibles fósiles líquidos, debido a múltiples factores como la necesidad de diversificar las matrices energéticas, reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), y aprovechar residuos agrícolas y agroindustriales dentro del modelo de economía circular (Mendoza et al., 2022)(Zura et al., 2021).

El tamaño del mercado de bioetanol a nivel mundial para 2025 fue valorado en aproximadamente USD 66.99 mil millones, con previsiones de crecimiento hasta USD 178.9 mil millones para 2034. En este contexto, América Latina y el Caribe en 2023 representó el 27 % de la producción global de biocombustibles líquidos, siendo Brasil el actor principal, con una generación de 93 % de la producción regional (Shivarkar, 2025) (OLADE, 2025).

Por otro lado, los biocombustibles pueden ser de primera generación que se derivan de cultivos alimenticios como maíz, caña de azúcar o aceites vegetales, pudiendo generar posibles conflictos entre producción de alimentos y energía, o de segunda generación los cuales aprovechan residuos lignocelulósicos como residuos agrícolas, madera, bagazo o residuos sólidos urbanos, evitando así dicha competencia, aunque su complejidad técnica dificulta su despliegue a gran escala (El-Araby, 2024) (Malik et al., 2024) (Igwebuike et al., 2024).

Ecuador, un país con un gran sector agroindustrial, genera volúmenes significativos de residuos estimando más de 2,200 millones de kilogramos de residuos anuales, incluyendo la cáscara del cacao y frutos de plátano descartados por no cumplir estándares comerciales o por daños, representando fuentes de biomasa potencialmente valiosas para la producción de bioetanol a través de procesos biotecnológico (Avila et al., 2020) (Vielma-Puente et al., 2025).

Además, su producción descentralizada a partir de residuos podría contribuir a generar empleo, reducir impactos ambientales y agregar valor a subproductos agrícolas frecuentemente desechados (Morales et al., 2025).

Dado este contexto, la presente investigación tiene como objetivo evaluar residuos agroindustriales de cacao y plátano maduro con el fin de identificar su potencial uso en la generación de bioetanol de segunda generación, desarrollando una alternativa sostenible para la gestión eficiente de residuos agroindustriales e impulsando el desarrollo energético y tecnológico del país en conexión con los principios de la economía circular y la transición hacia fuentes de energía renovable.

Finalmente, el presente documento se encuentra organizado en cinco capítulos. El primer capítulo presenta el problema de investigación; el segundo reúne los conceptos teóricos y antecedentes científicos; el tercer capítulo describe la metodología experimental utilizada, el cuarto capítulo muestra los resultados obtenidos, y finalmente, el último capítulo plantea las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1. Planteamiento del problema

Ecuador, a pesar de ser productor de petróleo crudo, entre 2004 y 2024 importó alrededor de 80.870 millones de dólares en combustibles, evidenciando una marcada dependencia a la importación de combustibles refinados, lo cual afecta su balanza comercial, genera gasto público y amenaza la soberanía energética y económica del país, ya que la economía depende fuertemente de estas importaciones para sostener su actividad productiva (Rosillo et al., 2025).

Así mismo, la implementación de subsidios energéticos por parte del estado, vigentes desde varias décadas atrás, han contribuido a mantener elevados niveles de importaciones de combustibles, lo cual reduce los incentivos para producir derivados internamente o adoptar alternativas energéticas locales (Peña et al., 2025).

Además, aunque Ecuador desde 2010 implementó la política de mezcla de gasolina con bioetanol (E10), en la práctica la comercialización se limita a su mezcla con solo 5 % de etanol en algunas provincias, lo cual, evidencia una brecha entre las políticas energéticas nacionales y la capacidad real de producción de biocombustibles (Mendoza et al., 2022).

Por otro lado, en Ecuador se produce anualmente más de 2,2 millones de toneladas de residuos agroindustriales, la mayoría de naturaleza lignocelulósica o rica en almidón y gran parte de estos sigue sin aprovecharse (Carvajal, 2023) (Moreano-Santillan, 2023). Este suceso plantea problemas ambientales tales como la emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación de las masas de agua y la proliferación de plagas (Solano-Apuntes et al., 2022)(Ponce et al., 2020).

Pese a que en Ecuador, alrededor del 37,4% de los municipios valorizan sus residuos orgánicos, se desarrolla principalmente compostaje (Huisman et al., 2021). Sin embargo, en el caso de residuos de cacao, un modelo matemático basado en datos nacionales estimó la posibilidad de producir hasta 8,28 millones de litros de bioetanol, lo que equivale a 10 % de la producción nacional de gasolina Ecopaís E5C (Avila et al., 2020).

Por otra parte, los residuos derivados del plátano incluyendo pseudotallos, cáscaras y frutos no comercializables podrían representar una fuente significativa de biomasa, en un análisis con enfoque de ciclo de vida en Ecuador, la producción de bioetanol a partir de plátano descartado demostró un balance energético neto positivo de 17,1 MJ/litro en sistemas orgánicos, y evitó 0,44 kg de emisiones de CO₂/litro (Graefe et al., 2011).

Pese a la gran cantidad de biomasa residual, el uso energético y valor agregado sigue siendo marginal, por ejemplo, estudios han demostrado el potencial para producir bioetanol en Ecuador utilizando la corteza del cacao, considerando que el mucílago y cáscaras son fracciones aún sin aprovechar plenamente en términos energéticos (Morocho et al., 2025).

Así, a pesar de iniciativas como el proyecto del Instituto Geológico y Energético del Ecuador (IIGE), el cual evalúa residuos lignocelulósicos de cultivos mayoritarios mediante pretratamiento, hidrólisis enzimática y fermentación, a escala piloto, hasta ahora no existen investigaciones experimentales que valoricen directamente las cáscaras de cacao y plátano maduro (Ramírez, 2022).

1.2. Delimitación del problema

Delimitación por Variable

La presente investigación se centrará exclusivamente en evaluar las cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro, ambos provenientes de procesos de cosecha y poscosecha, como materia prima para la producción experimental de bioetanol mediante fermentación alcohólica. Su elección se justifica por su abundancia estacional, bajo costo y contenido significativo de azúcares fermentables y compuestos lignocelulósicos.

Delimitación Espacial

El estudio se desarrollará en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, escogida por ser una de las zonas con producción intensiva de cacao y plátano, lo cual facilita tanto la recolección como la representatividad de los datos en relación con las condiciones reales del sector agroindustrial local.

Delimitación Temporal

La investigación se llevará a cabo entre los meses de abril y noviembre del año 2025, periodo que coincide con los ciclos de cosecha más activos de cacao y plátano, lo cual, permitirá trabajar con residuos frescos, obtenidos bajo condiciones actuales de producción y manejo poscosecha.

Delimitación Técnica

Desde el punto de vista técnico, el estudio se enfocará únicamente en el pretratamiento ácido de los residuos seleccionados y su posterior fermentación

alcohólica, evaluando principalmente el rendimiento de producción de bioetanol (litros por kilogramo de residuo seco tratado), bajo condiciones controladas de laboratorio.

Alcance y Exclusiones

Se excluyen del estudio otros tipos de residuos como bagazo de caña, residuos de café u otros frutos tropicales, así como otras metodologías como la biometanización, gasificación o fermentaciones químicas o mixtas.

1.3. Preguntas de investigación

1.3.1. Pregunta general:

¿Es técnicamente factible producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas?

1.3.2. Preguntas específicas:

- ¿Qué niveles de azúcares solubles (°Brix) presentan las cáscaras de cacao y las cáscaras de plátano maduro antes y después del pretratamiento ácido?
- ¿Cómo varía la concentración de azúcares solubles (°Brix) en diferentes tipos de residuos después del proceso de fermentación?
- ¿Cuál es el rendimiento de bioetanol obtenido por kilogramo de residuo seco en cáscaras de cacao y en cáscaras de plátano maduro?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la factibilidad técnica de producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas mediante hidrólisis ácida.

1.4.2. Objetivos específicos

- Cuantificar los niveles de azúcares solubles (°Brix) en las cáscaras de cacao y de plátano maduro, antes y después del pretratamiento ácido.
- Analizar la variación en la concentración de azúcares solubles (°Brix) según el tipo de residuo después del proceso de fermentación.
- Cuantificar el rendimiento de bioetanol producido por kilogramo de residuo seco de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro tras la fermentación alcohólica.

1.5. Hipótesis de investigación

- Es técnicamente factible producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas mediante hidrólisis ácida.
- Las cáscaras de cacao y las cáscaras de plátano maduro presentan un incremento significativo en los niveles de azúcares solubles (°Brix) después del pretratamiento ácido en comparación con su estado inicial.
- La concentración de azúcares solubles (°Brix) disminuye significativamente después del proceso de fermentación, y la magnitud de esta variación depende del tipo de residuo utilizado.
- La fermentación alcohólica de las cáscaras luego del pretratamiento permite obtener bioetanol con un rendimiento medible por kilogramo de residuo seco.

Hipótesis estadísticas

Hipótesis general:

- **H0:** No es técnicamente factible producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas por hidrólisis ácida.
- **H1:** Sí es técnicamente factible producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas por hidrólisis ácida.

Hipótesis específica 1:

- **H0:** Las cáscaras de cacao y de plátano maduro no presentan un incremento significativo en los niveles de azúcares solubles (°Brix) después del pretratamiento por hidrólisis ácida frente a su estado inicial.
- **H1:** Las cáscaras de cacao y de plátano maduro presentan un incremento significativo en los niveles de azúcares solubles (°Brix) después del pretratamiento por hidrólisis ácida en comparación con su estado inicial.

Hipótesis específica 2:

- **H0:** No existen diferencias significativas en la variación de la concentración de azúcares solubles (°Brix) después de la fermentación entre los diferentes tipos de residuos.
- **H1:** Existen diferencias significativas en la variación de la concentración de azúcares solubles (°Brix) después de la fermentación entre los diferentes tipos de residuos..

Hipótesis específica 3:

- **H0:** La fermentación alcohólica posterior al pretratamiento no permite obtener un rendimiento de bioetanol por kilogramo de residuo seco distinto de cero.
- **H1:** La fermentación alcohólica posterior al pretratamiento permite obtener un rendimiento medible de bioetanol por kilogramo de residuo seco.

1.6. Justificación

En diversos países en vías de desarrollo se registra una basta producción de residuos agroindustriales los cuales son desechados en vertederos, en donde se descomponen y liberan metano, un potente gas de efecto invernadero (Aguiar et al., 2022). Como consecuencia, la calidad del suelo se deteriora y las masas de agua se contaminan debido a los lixiviados de los residuos orgánicos que han sido mal gestionados (Priyanka et al., 2024).

En Ecuador, alrededor del 55 % de los residuos urbanos se maneja adecuadamente, sin embargo, en áreas rurales es considerablemente menor debido a las múltiples deficiencias que presenta la gestión de residuos sólidos en el país, provocando contaminación, proliferación de vectores y riesgos sanitarios (Hugo, 2025).

En algunos cantones de Ecuador, los residuos sólidos representan una gran problemática, ya que se incrementan de forma alarmante debido a la falta de infraestructura adecuada, políticas públicas insuficientes y una recolección o disposición final inapropiada, lo cual, genera una acumulación de residuos en áreas que no están diseñadas para este propósito transformando algunos sectores en botaderos clandestinos (Moreno et al., 2021)(Calle-Loyola & Solís-Muñoz, 2021).

Por otro lado, la falta de separación de residuos desde su origen y un reciclaje limitado reduce la posibilidad de recuperación de materiales y su valorización energética, desaprovechando recursos que pueden ser reutilizados o procesados. Por ejemplo, en provincias como Esmeraldas y Manabí se generan grandes cantidades de residuos derivados del cacao, cuyo manejo a menudo implica descomposición al aire libre (Alvarez et al., 2023) (Chávez et al., 2025).

Simultáneamente, aplicando un modelo de hidrólisis ácida y fermentación se estiman potenciales teóricos de producción de bioetanol en el Ecuador de 8,28 millones de litros a partir de cáscaras del cacao, actualmente subutilizadas, lo cual podría contribuir enormemente a la obtención de combustibles tipo E5C y así reducir la importación de combustibles fósiles (Ávila et al., 2020) (Chávez et al., 2025).

Por otro lado, la industria del plátano en Ecuador también genera grandes volúmenes de residuos lignocelulósicos, cuyo potencial podría cubrir hasta el 10 % de la demanda de bioetanol del país, si se aprovecharan adecuadamente (Guerrero et al., 2015). Sin embargo, aunque hay estimaciones teóricas, existe una carencia de estudios experimentales que validen esos potenciales, ya que los resultados teóricos deben complementarse con experimentación *in situ* para definir realmente la factibilidad técnica (Ávila et al., 2020).

Asimismo, en el Ecuador los altos subsidios a los combustibles fósiles refinados reducen los incentivos para desarrollar fuentes de energía alternativas locales, como los biocombustibles, y agravan la vulnerabilidad energética frente a fluctuaciones de precios internacionales, cuyo costo para el Estado, a través de subsidios, ha alcanzado niveles insostenibles económicamente (Murillo et al., 2025).

Por lo cual, la producción de bioetanol a partir de residuos representa una oportunidad para agregar valor a subproductos agroindustriales que hoy tienen poco valor comercial, favoreciendo la economía circular, el empleo rural y la mejora del ingreso para productores locales (Zambrano, 2024).

1.7. Declaración de las variables (Operacionalización)

Tabla 1. Matriz de operacionalización para verificar coherencia entre pregunta-objetivos-variable-indicadores

Pregunta de investigación: ¿Es técnicamente factible producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas?				
Objetivo general: Evaluar la factibilidad técnica de producir bioetanol mediante fermentación alcohólica con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro pretratadas mediante hidrólisis ácida.				
Objetivos específicos	Variables		Dimensiones	Indicadores
	Dependientes	Independientes		
Cuantificar los niveles de azúcares solubles (°Brix) en las cáscaras de cacao y de plátano maduro, antes y después del pretratamiento ácido.	- Tipo de residuo (cáscara de cacao, cáscara de plátano). - Etapas del proceso (antes y después del pretratamiento ácido).	Contenido de azúcares solubles (°Brix)	- Materia prima - Etapas de análisis	Diferencia de grados Brix antes y después del tratamiento
Analizar la variación en la concentración de azúcares solubles (°Brix) según el tipo de residuo antes y después del proceso de fermentación.	- Tipo de residuo (cacao, plátano) - Tiempo de fermentación alcohólica	Contenido de azúcares solubles (°Brix)	- Materia prima - Etapas de análisis	Consumo de azúcares respecto al control

Cuantificar el rendimiento de bioetanol producido por kilogramo de residuo seco de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro tras la fermentación alcohólica.	• Tipo de residuo (cacao, plátano) • Cantidad de sustrato seco	Rendimiento de bioetanol	• Producción fermentativa • Eficiencia del proceso	• g/L de etanol producido • Rendimiento (g etanol/kg residuo seco) • % conversión de azúcares a etanol
--	---	--------------------------	---	--

CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1. Antecedentes Referenciales

La producción de bioetanol ha sido estudiada de manera nacional e internacional como alternativa sostenible al uso de combustibles fósiles, centrando su investigación en los últimos años en el aprovechamiento de biomasa lignocelulósica y residuos agroindustriales como sustrato.

En 2025, los investigadores ecuatorianos Vielma-Puente y colaboradores evaluaron la producción de bioetanol a partir de cáscara de cacao del clon CCN-51, empleando pretratamiento alcalino y posteriormente hidrólisis enzimática mediante los hongos *Trichoderma reesei* y *Trichoderma ghanense*, y produciendo la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*. Los rendimientos obtenidos estuvieron entre 0,024 % v/v y 0,254 % v/v, demostrando una limitada eficiencia de las cáscaras de cacao CCN-51 para la obtención de bioetanol (Vielma-Puente et al., 2025).

Por otro lado, Salcedo-Puerto y colaboradores, en su artículo “*Solid residues from cocoa production chain: Assessment of thermochemical valorization routes*” en 2025 evaluaron los residuos sólidos generados en la cadena productiva del cacao, con énfasis en su potencial de valorización, caracterizando su composición química (celulosa, hemicelulosa, lignina) y analizando su aplicación como fuente de biomasa (Salcedo-Puerto et al., 2024).

En el estudio de Marta Sánchez y colaboradores publicado en 2024, los investigadores aplicaron un tratamiento de autohidrólisis a las cáscaras de cacao para extraer fracciones de valor agregado como polifenoles y polisacáridos con potencial probiótico. Posteriormente, el residuo fue tratado enzimáticamente para liberar

azúcares fermentables para su biotransformación para lo cual, se evaluaron diferentes temperaturas para optimizar la liberación de azúcares sin degradar compuestos valiosos (Sánchez et al., 2024).

Bitew, Tesfaye y Andualem en 2023 evaluaron la selección de cepas de levaduras con capacidad etanogénica para fermentar hidrolizados de cáscara de banana utilizando la cepa comercial *S. cerevisiae* como control de referencia. El experimento se realizó por triplicado, y las cepas seleccionadas fueron identificadas molecularmente mediante regiones ITS del ADN ribosómico y se calculó el rendimiento del etanol generado en gramos por kilogramo de biomasa seca (Bitew et al., 2023).

Por otro lado, la investigación denominada *Bioethanol production from banana peels* de 2023 analiza la viabilidad de producir bioetanol utilizando cáscaras de banana como materia prima mediante tres tipos de pretratamientos entre ellos acuoso, alcalino y ácido para su fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*. Los resultados obtenidos mostraron que el pretratamiento ácido generó las concentraciones más altas de azúcares reductores, aunque una alta generación de azúcares libres no siempre se tradujo en mayores rendimientos de etanol, reportando concentraciones bajas de etanol, indicando que factores como la inhibición y la eficiencia del fermentado limitan la conversión efectiva de azúcar a etanol (Randriamanantsoa et al., 2020).

En 2023, en el estudio “*Study on bioethanol production efficiency of banana peel (Musa sapientum L.) by Pichia stipitis*” se reporta la producción de etanol a partir de cáscara de banana pretratada con NaOH 0,05 N a 121 °C, seguida de hidrólisis

enzimática, registrando una concentración máxima de etanol de 7,47 g/L bajo condiciones optimizadas (Tantipanathip & Eiamsa-Ard, 2022).

En el estudio de Ramos y colaboradores en 2023, se analizó el uso del bagazo del fruto del cacao como sustrato para la fermentación alcohólica utilizando *Zymomonas mobilis*, posteriormente se midieron cinéticas de fermentación, volúmenes de etanol y rendimiento en función del tiempo (0, 2, 4, 6 y 8 días). Se determinaron perfiles de lípidos, proteínas, compuestos fenólicos y carbohidratos disponibles. Se reportó que el bagazo del fruto del cacao alcalinizado permitió liberar $15,52 \pm 0,78$ g de glucosa por litro antes de la fermentación. Además, los residuos mostraron potencial para otras aplicaciones, como producción de biopolímeros (PHA) y como fuente antioxidante (Ramos et al., 2023).

Finalmente en 2022, en la investigación *“Agrowastes of banana peels as an eco-friendly feedstock for the production of biofuels using immobilized yeast cells”* se evaluó la fermentación de cáscaras de banana con levadura inmovilizada en alginato luego de realizar un pretratamiento ácido, donde se optimizaron parámetros como concentración de ácido, tiempo, temperatura, carga celular y pH para maximizar la producción de etanol. Los autores reportaron buenas tasas de utilización de azúcares y eficiencia en fermentación cuando se optimizaron las condiciones (Abdulla et al., 2022).

2.2. Marco Conceptual

Bioetanol:

Alcohol líquido de fórmula química C_2H_5OH producido mediante la fermentación de azúcares presentes en biomasa vegetal. Se usa como biocombustible para motores

de combustión interna, mezclado con gasolina o como sustituto parcial (Kazmi et al., 2025).

Biomasa lignocelulósica:

Material lignocelulósico como residuos agrícolas, madera o cáscaras, compuesto mayoritariamente de polímeros de carbohidratos denominados celulosa y hemicelulosa y de un polímero fenólico denominado lignina . Los valores típicos varían entre el 35 al 50% de celulosa, del 20 al 30% de hemicelulosa y de 20 a 25% de lignina (Sánchez & Cardona, 2005).

Cáscaras de cacao:

Residuo agroindustrial generado tras la extracción de granos de cacao que contiene fibra, celulosa, hemicelulosa, azúcares simples y compuestos fenólicos. (Vielma-Puente et al., 2025).

Cáscaras de plátano maduro

Residuo rico en fibra, proteínas, aminoácidos esenciales, ácidos grasos poliinsaturados, potasio, lignina, celulosa y hemicelulosa, representa aproximadamente del 30 al 40% del peso del fruto. (Kumar et al., 2014).

Hidrólisis ácida

Método que promueve la despolimerización de las cadenas de celulosa y hemicelulosa, transformándose en sus monómeros constituyentes mediante el uso de catalizadores ácidos como el ácido sulfuroso, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico o nítrico, los cuales pueden utilizarse en soluciones concentradas o diluidas. Las soluciones concentradas permiten operar a bajas temperaturas, mientras que las soluciones

diluidas requieren temperaturas elevadas, cercanas a 240 °C, para lograr una conversión eficiente. (Niño et al., 2024).

Fermentación alcohólica

Proceso biológico en el cual microorganismos convierten azúcares simples en etanol y dióxido de carbono bajo condiciones anaeróbicas, considerando condiciones como temperatura, pH, concentración de azúcar, inoculación de levadura y tiempo (Tsegaye et al., 2024).

Grados Brix (°Brix)

Representan la concentración de sólidos solubles, principalmente azúcares y sirve como proxy del potencial alcohólico del mosto, se mide por refractometría o densidad y permite el seguimiento rápido del consumo de azúcares y ajuste de fermentaciones (Jaywant et al., 2022).

Rendimiento de bioetanol

Eficiencia con la que los azúcares fermentables se convierten en etanol, generalmente expresado como gramos de etanol por gramo de azúcar fermentable, o porcentaje sobre teórico. Los factores que lo afectan incluye tipo de biomasa, eficacia del pretratamiento y de la hidrólisis, cepa de fermentación, concentración de azúcar, pH, temperatura, presencia de inhibidores. (Wu et al., 2025).

Refractómetro

Instrumento para medir el índice de refracción de una solución, lo cual se relaciona con la concentración de sólidos solubles (°Brix), generalmente se utiliza para

determinar rápidamente cuántos azúcares disueltos tiene un extracto antes de fermentarlo (Mtashobya et al., 2025).

Residuos agroindustriales

Subproductos de procesos agrícolas e industriales, especialmente los que intervienen en la producción y transformación de alimentos, los cuales, pueden convertirse en piensos, compost, biocombustibles o materias primas para diversas aplicaciones industriales (Senthilkumar et al., 2020).

Sustrato

Sustancias químicas o materiales orgánicos que proporcionan energía y carbono a las bacterias que participan en la fermentación, proporcionando a los microorganismos los recursos que necesitan para prosperar y realizar procesos metabólicos (Mumtha et al., 2023).

2.3. Marco Teórico

2.3.1. Residuos

Un residuo es el sobrante o lo desechable tras una actividad de producción o consumo, no obstante, desde el punto de vista de la sostenibilidad se considera como un recurso latente que es capaz de transformarse, recuperarse o reinsertarse en algún proceso productivo aplicando estrategias de valorización (D'Adamo & Settembre-Blundo, 2024).

2.3.1.1. Características de los residuos

Los residuos presentan características fisicoquímicas y biológicas, entre las principales se encuentran:

- Composición química, que indica el contenido de materia orgánica, minerales, metales o compuestos tóxicos
- Humedad, que influye en los procesos de transporte, almacenamiento y tratamiento térmico
- Y la biodegradabilidad, que define la facilidad con la que los residuos pueden descomponerse mediante acción microbiana.

Otras características importantes son el pH, la densidad, el contenido energético y la presencia de contaminantes, estas propiedades varían ampliamente según el tipo de residuo, su origen y el contexto de generación, y son esenciales para seleccionar tecnologías adecuadas de gestión ambiental (Gupta & Verma, 2014).

Los residuos también se pueden caracterizar según su composición de carbohidratos, celulosa, hemicelulosa y lignina (Priyanka et al., 2024).

2.3.1.2. Tipos de residuos

Los residuos pueden dividirse en función de su origen, composición, estado físico y riesgo potencial, los residuos se clasifican en diferentes tipos:

- Según su origen, se distinguen residuos domésticos, industriales, agroindustriales, sanitarios y de construcción.
- Por su composición, pueden ser orgánicos principalmente biodegradables y de origen biológico; o inorgánicos que incluyen materiales no biodegradables como plásticos, metales o vidrios.

De igual manera, se clasifican según su estado físico en sólidos, líquidos o gaseosos, y por su grado de peligrosidad en peligrosos y no peligrosos (Basri et al., 2021).

2.3.1.2.1. Residuos agroindustriales

Son los subproductos, materiales o restos generados durante las etapas de procesamiento, transformación, conservación o empaque de productos agrícolas, pecuarios o forestales. Estos residuos poseen un alto contenido de materia orgánica biodegradable y, en muchos casos, compuestos con potencial de valorización biotecnológica o energética (A. Singh et al., 2023).

2.3.1.2.1.1. Características de los residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales presentan características distintivas que los diferencian de otros tipos de residuos, dado que poseen un alto contenido de materia orgánica, compuesto por celulosa, hemicelulosa, lignina, almidones, azúcares, proteínas y compuestos bioactivos (De Oliveira Silva et al., 2025).

También presentan una elevada humedad, lo que puede dificultar su almacenamiento o transporte, pero sirven de ayuda en procesos como el compostaje o la digestión anaeróbica. Su biodegradabilidad suele ser alta, aunque los residuos lignocelulósicos pueden requerir pretratamiento debido a la resistencia estructural que posee la lignina (De Oliveira Silva et al., 2025).

En términos fisicoquímicos, estos residuos pueden mostrar variaciones en pH, contenido de cenizas, fibra cruda, nutrientes (N, P, K) y en su capacidad energética. Además, son residuos generalmente no peligrosos, pero pueden contener trazas de pesticidas, metales pesados o microorganismos, según el origen agrícola. La heterogeneidad y estacionalidad en su generación también son características clave que afectan su manejo y valorización (De Oliveira Silva et al., 2025).

La caracterización integral de la biomasa lignocelulósica ecuatoriana en términos de su candidatura para fines bioenergéticos donde se encontró contenido de materia volátil entre 65 % y 86 %, cenizas entre 5,67 % y 17,53 % (Méndez-Durazno et al., 2025).

2.3.1.2.1.2. Clasificación de residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales se pueden clasificar de acuerdo a su:

- Origen, en vegetal o animal.
- Procedencia en cáscaras, tallos, hojas, semillas, bagazo o pulpa residual
- Degradabilidad si son residuos fácilmente biodegradables como frutas, restos vegetales frescos o residuos más resistentes como maderas, restos lignocelulósicos
- Estado físico es decir si son sólidos, semisólidos o líquidos
- Escala o flujo, es decir, si son residuos de campo como poda, rastrojos o residuos de industria y planta de procesamiento.
- Finalidad potencial de valorización por ejemplo, residuos ricos en almidón, residuos ricos en fibra, residuos con alto contenido de compuestos fenólicos (Prado-Acebo et al., 2024).

2.3.1.2.2. Residuos lignocelulósicos

Son materiales orgánicos fibrosos derivados principalmente de la biomasa vegetal, compuestos estructuralmente por tres polímeros principales: celulosa, hemicelulosa y lignina (Yineth, 2014). Estos residuos se generan como resultado de actividades agrícolas, forestales y agroindustriales, incluyendo restos de cultivos (pajas, tallos, hojas), cáscaras, bagazo, aserrín y otros residuos de procesamiento vegetal (Chávez & Galárraga, 2020).

Su característica principal es su resistencia natural a la degradación debido a la complejidad estructural de la lignina, lo cual les confiere estabilidad, pero también representa un desafío para su transformación biológica directa (Chávez & Galárraga, 2020).

2.3.1.2.2.1. Composición de residuos lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos o biomasa lignocelulósica están compuestos principalmente por tres polímeros estructurales tales como: la celulosa la cual es un polímero de glucosa lineal que proporciona la estructura rígida; la hemicelulosa que es una mezcla de polímeros de azúcar como xilano, arabinosa, manosa, entre otros más amorfa y más fácilmente hidrolizable y finalmente la lignina que es un polímero fenólico complejo que confiere rigidez, repelencia al agua y resistencia a la degradación microbiana (Prado-Acebo et al., 2024).

Además, contienen pequeñas cantidades de extractos como ceras, resinas, compuestos fenólicos libres, cenizas minerales como sílice, calcio, hierro, agua ligada y compuestos menores. Estas fracciones estructurales determinan la resistencia a la degradación, siendo la lignina la más recalcitrante (Prado-Acebo et al., 2024).

2.3.1.2.2.2. Residuos lignocelulósicos en Ecuador

En Ecuador, los residuos lignocelulósicos son los subproductos agrícolas y agroindustriales de origen vegetal que tienen una estructura principalmente formada por celulosa, hemicelulosa y lignina, generados por cultivos mayoritarios como caña de azúcar, cacao, café, arroz, plátano y palma aceitera (Cuervo et al., 2024) (IIGE, 2023).

Se han encontrado evidencia de la disponibilidad de diferentes residuos presentes en el país tales como la paja de arroz, cáscara de arroz, bagazo de la caña de azúcar, cáscaras de almendra de palma aceitera, fronda de palma aceitera, fibra del mesocarpio de la palma aceitera, piña rechazada, hoja de maíz, mazorcas de maíz, tallo de maíz, pseudotallo del plátano, hojas del plátano, raquis de plátano, pseudotallo del banano y hojas del banano (Méndez-Durazno et al., 2025).

Además, el potencial empleo de los residuos agrícolas lignocelulósicos para la generación de energía en Ecuador como vía de valorización son ampliamente estudiados (Orejuela-Escobar et al., 2021).

2.3.1.2.3. Residuos de plátano maduro

Los residuos del plátano maduro comprenden las fracciones del fruto y de la planta que no son aprovechadas directamente para el consumo o la comercialización, siendo estos la cáscara, el pseudotallo, las hojas y los frutos descartados por madurez excesiva o deterioro físico (Bishnoi et al., 2023). La cáscara constituye la mayor proporción de residuo sólido, representando entre el 30 % y el 40 % del peso total del fruto (Redondo-Gómez et al., 2020).

2.3.1.2.3.1. Características fisicoquímicas del plátano maduro

Desde el punto de vista fisicoquímico, los residuos del plátano maduro se caracterizan por su alto contenido de humedad, que puede superar el 70 %, y una fracción orgánica dominante compuesta por carbohidratos estructurales, azúcares reductores, pectinas y fibras vegetales (Bishnoi et al., 2023).

Su contenido de proteínas varía entre el 2 % y el 8 %, mientras que los lípidos se mantienen en proporciones menores al 3 %, estos residuos también contienen

compuestos fenólicos y minerales como potasio, calcio y magnesio, que les confieren valor nutricional y potencial para su aprovechamiento en bioprocesos (Redondo-Gómez et al., 2020).

2.3.1.2.4. Residuos de cacao

Los residuos del cacao comprenden todos los subproductos sólidos y líquidos generados durante el cultivo, cosecha, beneficio y procesamiento del fruto del *Theobroma cacao* L. (Soares & Oliveira, 2022).

En el contexto agroindustrial, estos incluyen principalmente la cáscara o vaina del fruto (bagazo o cocoa pod husk), la pulpa mucilaginosa, los líquidos del proceso de fermentación, y las cáscaras de las almendras secas obtenidas durante el tostado. La cantidad de residuo generado es significativa, por cada tonelada de cacao fresco, alrededor del 70–75 % corresponde a biomasa residual (Martínez-Ángel et al., 2015).

2.3.1.2.4.1. Características fisicoquímicas del bagazo de cacao (*Theobroma cacao* L. cv. CCN51)

El bagazo o cáscara del cacao, es el principal residuo sólido generado durante el beneficio del fruto, representando entre el 70 % y el 75 % del peso total del cacao fresco. Este subproducto, especialmente abundante en cultivares como el CCN51, posee una composición lignocelulósica rica en fracciones estructurales y compuestos bioactivos (Soares & Oliveira, 2022).

En términos generales, el bagazo de cacao contiene entre 30 y 40 % de celulosa, 20 a 30 % de hemicelulosa y 15 a 25 % de lignina, junto con pectinas, proteínas entre 6 y 10 %, lípidos entre 2 y 3 %, azúcares reductores y minerales como potasio, calcio, fósforo y magnesio. Su pH es ligeramente ácido entre 5,0 y 5,8 y su humedad puede

superar el 80 % inmediatamente después de la extracción de las almendras (Martínez-Ángel et al., 2015).

El poder calorífico del bagazo de cacao seco se sitúa alrededor de 15 y 18 MJ/kg, valor que respalda su potencial energético. Además, posee compuestos fenólicos y flavonoides con capacidad antioxidante (Martínez-Ángel et al., 2015).

2.3.1.2.5. Valorización de residuos

La valorización de residuos se define como el proceso a través del cual los materiales descartados se transforman en productos útiles, materias primas secundarias o fuentes de energía, de modo que dejan de ser considerados desechos sin valor y pasan a integrarse dentro de ciclos productivos (Roy et al., 2023).

2.3.1.2.5.1. Factores que influyen en la valorización de residuos

La valorización de los residuos agroindustriales está condicionada por diferentes factores tanto técnicos, económicos, sociales y regulatorios (Prado-Acebo et al., 2024). Entre ellos, se encuentran la naturaleza de los residuos, el contenido orgánico, estructuras recalcitrantes; la humedad y contenido de materia seca, la relación carbono / nitrógeno, la disponibilidad, cantidad, continuidad del flujo de residuos; así como los costos de recolección, transporte y pretratamientos (Šelo et al., 2021).

Otros de los factores que tienen influencia en la valorización de los residuos es la disponibilidad y continuidad de los residuos ya que estos dependen de los ciclos agrícolas y producción (Pérez & Asheh, 2024). Además, los costos asociados al manejo, transporte, pre-tratamiento y comercialización de los productos derivados de los residuos deben ser competitivos para asegurar la viabilidad económica de los proyectos. También, los factores ambientales y sociales, la demanda del mercado y

la aceptación social, así como, el marco normativo y políticas públicas son factores a considerar (Singh et al., 2021).

2.3.1.2.5.2. Tipos de Valorización de residuos

2.3.1.2.5.2.1. Valorización química

La valoración química de residuos agroindustriales implica la recuperación de compuestos bioactivos, como polifenoles, flavonoides, antioxidantes, pigmentos, proteínas y enzimas, a partir de subproductos vegetales generados en la agricultura y la agroindustria. Estos compuestos tienen aplicaciones en diversas industrias, incluyendo la alimentaria, farmacéutica y cosmética (Khan et al., 2024).

La extracción de este tipo de compuestos como polifenoles, flavonoides, antioxidantes, pigmentos, proteínas y enzimas puede realizarse mediante métodos convencionales, como la maceración con solventes orgánicos, o mediante técnicas más avanzadas y sostenibles, como la extracción asistida por microondas (MAE), ultrasonido (UAE), fluidos supercríticos, líquidos iónicos o solventes eutécticos profundos (DES) (Saini et al., 2025). Estas técnicas permiten una mayor eficiencia en la extracción, reduciendo el uso de solventes tóxicos y mejorando la calidad del extracto final (Patra et al., 2022).

2.3.1.2.5.2.2. Valorización biotecnológica

La valoración biotecnológica de residuos agroindustriales implica la conversión de subproductos orgánicos, como cáscaras, bagazo, pulpas y efluentes de la industria alimentaria, en productos de alto valor agregado mediante procesos biológicos. Estos procesos aprovechan la actividad metabólica de microorganismos como bacterias, levaduras y hongos filamentosos para producir compuestos útiles, tales como

biosurfactantes, proteínas unicelulares, ácidos orgánicos, enzimas, biopesticidas, pigmentos y metabolitos secundarios .

Por otro lado, otras técnicas como la extracción enzimática permiten liberar compuestos bioactivos de la matriz vegetal, utilizando enzimas específicas que degradan selectivamente componentes de la pared celular, facilitando la liberación de los compuestos de interés, siendo útil para obtener proteínas hidrolizadas, péptidos bioactivos y antioxidantes, con aplicaciones en la formulación de productos funcionales (Şahin & Kurtulbaş, 2024).

2.3.1.2.5.2.3. Valorización agrícola

Es el conjunto de estrategias en las cuales los subproductos orgánicos son generados en el ámbito agrícola tales como las cáscaras, tallos, hojas, bagazos y pseudotallos, en específico mediante su transformación en abonos orgánicos, enmiendas del suelo, biofertilizantes, compost, biochar o productos de cobertura vegetal ya que permiten mejorar el suelo mediante los nutrientes, materia orgánica y microorganismos que estos proporcionan generando así una mejora en la productividad de los cultivos y reduciendo la dependencia de fertilizantes minerales (De Dieu Marcel Ufitikirezi et al., 2024).

Un producto de la valorización agrícola, es el compost que es un fertilizante natural que es obtenido mediante la descomposición controlada de residuos orgánicos, como los restos de alimentos, estiércol y residuos vegetales (Yin et al., 2025). Este proceso transforma los desechos en un material lleno de nutrientes que mejora la estructura, la retención del agua y la actividad biológica del suelo (Díaz et al., 2024).

Por otro lado, los biofertilizantes son productos que contienen microorganismos como bacterias, hongos o algas mismos que al ser aplicados al suelo promueven el crecimiento vegetal mediante la mejora de la disponibilidad de nutrientes (Cordis, 2025).

2.3.1.2.5.2.4. Valorización energética

La valorización energética de residuos orgánicos mediante la producción de biogás, biodiésel y bioetanol representa una estrategia integral para la transición hacia fuentes de energía más sostenibles y la gestión eficiente de desechos (Sofokleous et al., 2022).

Un ejemplo de valorización energética es el biogás que se genera a través de la digestión anaeróbica de materia orgánica, produciendo principalmente metano, que puede utilizarse para generar electricidad, calor o como combustible vehicular. Además, el residuo resultante, conocido como digestato se emplea como fertilizante o acondicionador del suelo tras un tratamiento posterior para estabilizar los nutrientes y reducir los patógenos (Zueva et al., 2024).

Por otro lado, el biodiésel es obtenido mediante la transesterificación de aceites residuales o vegetales o grasas animales con metanol o etanol, este biocombustible presenta propiedades similares al diésel convencional, lo que permite su uso en motores diésel sin modificaciones significativas. (Rhithuparna et al., 2024).

Finalmente, el bioetanol se produce principalmente mediante la fermentación de azúcares presentes en cultivos como la caña de azúcar y el maíz, es un biocombustible líquido el cual es posible emplear en motores de combustión interna, ofreciendo una alternativa renovable a la gasolina (Zueva et al., 2024).

2.3.1.2.6. Bioetanol

El bioetanol es un biocombustible líquido con composición química (C_2H_5OH) de origen renovable obtenido mediante la fermentación alcohólica de materiales orgánicos ricos en azúcares, almidones o polisacáridos estructurales como la celulosa y la hemicelulosa. La producción de bioetanol implica convertir la biomasa en azúcares fermentables y posteriormente transformarlos en etanol mediante la acción de microorganismos (Jain & Kumar, 2024).

2.3.1.2.6.1. Usos del bioetanol

El bioetanol tiene diferentes aplicaciones tales como el transporte, la generación de energía, la calefacción doméstica, la industria y la producción de hidrógeno, demostrando su versatilidad y potencial para contribuir a la reducción de emisiones contaminantes y a la diversificación de fuentes energéticas (Zura et al., 2021).

2.3.1.2.6.1.1. Bioetanol como combustible en mezclas con gasolina (E10, E85)

El uso más extendido del bioetanol es en el sector del transporte, donde se mezcla con gasolina en diferentes proporciones, como E10 (10% de bioetanol y 90% de gasolina) o E85 (85% de bioetanol y 15% de gasolina). Además, el bioetanol puede utilizarse en vehículos diseñados específicamente para su uso, conocidos como vehículos flex-fuel, que son capaces de operar con mezclas de bioetanol y gasolina sin modificaciones adicionales (Tovar et al., 2022).

2.3.1.2.6.1.2. Bioetanol como combustible doméstico e industrial

Los biocombustibles ofrecen aplicaciones tanto en entornos domésticos como industriales, de manera doméstica, pueden ser usados como fuentes de calefacción,

cocción o generación de calor descentralizada, lo cual contribuye a reducir la dependencia de combustibles fósiles e incrementar la autogestión energética residencial (Bušić et al., 2018).

A nivel industrial, los biocombustibles se utilizan para generar calor en procesos de manufactura, en calderas industriales, y como sustitutos del diésel o gasóleo en motores y turbinas para producción eléctrica o térmica, permitiendo una mejora en la eficiencia energética y una menor emisión de gases de efecto invernadero cuando se integran sistemas en plantas industriales (Bušić et al., 2018).

2.3.1.2.6.1.3. Bioetanol como materia prima en la industria

En la industria, el bioetanol se emplea como disolvente en la fabricación de productos farmacéuticos, cosméticos y productos de limpieza, esto gracias a sus propiedades antisépticas y su capacidad para disolver una amplia gama de sustancias, es un componente clave en la producción de geles hidroalcohólicos, perfumes y soluciones de limpieza. Además, se utiliza en la extracción de aromas y sabores naturales para la industria alimentaria (Dagle et al., 2020).

2.3.1.2.6.2. Tipos de bioetanol

El bioetanol es un biocombustible líquido obtenido mediante la conversión de biomasa orgánica, y su clasificación en generaciones se basa en la fuente de materia prima utilizada para su producción (Mahapatra et al., 2021).

2.3.1.2.6.2.1. Bioetanol de primera generación (1G):

El bioetanol de primera generación se produce a partir de cultivos agrícolas ricos en azúcares o almidones, como la caña de azúcar, el maíz, la remolacha y el trigo. Este

proceso de producción implica la fermentación alcohólica de estos carbohidratos, seguida de una destilación para obtener el etanol. Aunque este método es tecnológicamente maduro y ampliamente utilizado, presenta desafíos relacionados con la competencia por tierras agrícolas destinadas a la producción de alimentos, lo que puede afectar la seguridad alimentaria y aumentar los precios de los productos básicos (Mahapatra et al., 2021).

2.3.1.2.6.2.2. Bioetanol de segunda generación (2G):

El bioetanol de segunda generación se obtiene a partir de biomasa lignocelulósica no comestible, es decir de residuos agrícolas como paja, bagazo, desechos forestales y residuos urbanos. La conversión de esta biomasa en bioetanol requiere procesos más complejos, como la hidrólisis enzimática o hidrólisis ácida para descomponer la celulosa en azúcares fermentables, seguida de la fermentación alcohólica (Alonso-Gómez et al., 2018).

2.3.1.2.6.2.3. Bioetanol de tercera generación (3G):

El bioetanol de tercera generación se produce utilizando microorganismos como microalgas y bacterias, que pueden sintetizar etanol directamente a partir de dióxido de carbono y luz solar. Estos microorganismos pueden cultivarse en entornos no agrícolas, como aguas residuales o superficies no cultivables, lo que elimina la competencia con la producción de alimentos y reduce la presión sobre los recursos agrícolas. Sin embargo, la producción de bioetanol a partir de microalgas aún está en etapas experimentales (Mahapatra et al., 2021).

2.3.1.2.6.3. Vías de síntesis del bioetanol

2.3.1.2.6.3.1. Fermentación simultánea de celulosa y hemicelulosa (SSF, SHF)

La fermentación simultánea de celulosa y hemicelulosa (SSF) es un proceso integrado que combina la hidrólisis enzimática de los polisacáridos con la fermentación alcohólica en un único paso. Este enfoque permite la conversión directa de los azúcares liberados en etanol, optimizando el uso de la biomasa y reduciendo la necesidad de equipos adicionales. La eficiencia del proceso depende de factores como la carga de glucano, la temperatura de operación y la cepa de levadura utilizada, además, la adición de surfactantes puede mejorar la conversión de glucano y la concentración final de etanol (Islam & Nafees, 2025).

2.3.1.2.6.3.2. Procesos termoquímicos alternativos

Los procesos termoquímicos, como la gasificación y la hidrólisis enzimática, ofrecen rutas alternativas para la producción de bioetanol. Así, la gasificación convierte la biomasa en un gas de síntesis, compuesto principalmente por monóxido de carbono, dióxido de carbono e hidrógeno, que puede ser fermentado para obtener etanol. Por otro lado, la hidrólisis enzimática descompone la celulosa y la hemicelulosa en azúcares fermentables mediante la acción de enzimas específicas, facilitando la posterior fermentación alcohólica (Islam & Nafees, 2025).

2.3.1.2.6.3.3. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es el proceso biológico mediante el cual microorganismos, principalmente levaduras, convierten los azúcares en etanol y dióxido de carbono en condiciones anaeróbicas (Ledakowicz, 2025).

2.3.1.2.6.4. Fermentación alcohólica de bioetanol

2.3.1.2.6.4.1. Principios bioquímicos de la fermentación etílica

La fermentación alcohólica es una vía catabólica en la que los azúcares fermentables se convierten en etanol y dióxido de carbono bajo condiciones anaeróbicas. En microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae*, la glucosa se metaboliza por la ruta de Embden–Meyerhof–Parnas (EMP), también conocida como glucólisis, hasta piruvato, la regeneración del poder reductor ocurre cuando el piruvato se descarboxila a acetaldehído (piruvato descarboxilasa) y este se reduce a etanol (alcohol deshidrogenasa), re-oxidándose el NADH a NAD⁺ y sosteniéndose el flujo glicolítico generando la siguiente reacción $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$ (Walker & Stewart, 2016).

2.3.1.2.6.4.2. Factores críticos de la fermentación etílica

El límite termodinámico de conversión para glucosa se aproxima a 0,51 gramo de etanol por gramo de azúcar consumida, en operación industrial, los rendimientos observados se sitúan por debajo debido a formación de subproductos, mantenimiento celular y limitaciones de transferencia (Ruchala et al., 2019).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un biocatalizador predominante por su elevada tolerancia a etanol, amplio rango de pH y robustez frente a condiciones de estrés industrial. En condiciones de alta disponibilidad de glucosa, se manifiesta el efecto Crabtree, priorizando la fermentación aún con oxígeno disponible, lo que favorece altas productividades de etanol pero reduce rendimientos de biomasa. Mientras que microorganismos alternativos como *Zymomonas mobilis* muestran rutas metabólicas distintas y perfiles de tolerancia diferenciados, aunque su adopción queda supeditada a desempeño, costos y escalabilidad (Parapouli et al., 2020).

2.3.1.2.6.4.2.1. pH, temperatura, concentración de azúcares

La productividad y el rendimiento dependen de variables como temperatura comúnmente entre 30 y 35 °C para *S. cerevisiae*, pH aproximado de 4,0 a 5,0, concentración inicial de azúcares y perfil de alimentación. Las configuraciones habituales incluyen lotes, lotes alimentados y procesos continuos con o sin reciclaje celular. En “high-gravity fermentation” se elevan los sólidos fermentables para incrementar títulos de etanol y reducir costos de destilación, mitigándose los estreses osmótico y alcohólico mediante nutrición optimizada, acondicionamiento celular y selección de cepas (Pfeiffer & Morley, 2014).

2.3.1.2.7. Producción de Bioetanol utilizando cáscaras de fruta

Los sustratos típicos incluyen azúcares de caña, maíz o remolacha y, en contextos de segunda generación, mezclas de hexosas y pentosas provenientes de hidrolizados lignocelulósicos. La formulación del medio debe suministrar nitrógeno asimilable, fósforo, magnesio, zinc y factores lipídicos; en fermentaciones estrictamente anaerobias, la provisión limitada de oxígeno (microaireación) puede ser necesaria para la síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados, esenciales para mantener la integridad de membrana y la tolerancia al etanol (Parapouli et al., 2020).

2.3.1.2.7.1. Dificultades de acceso a azúcares fermentables

La desviación de carbono hacia glicerol, ácidos orgánicos y biomasa reduce el rendimiento. La acumulación de etanol causa daño de membrana y desnaturalización proteica, limitando la concentración final alcanzable. En hidrolizados lignocelulósicos, compuestos inhibitorios como furfural, 5-hidroximetilfurfural, ácidos orgánicos (acético, fórmico, levulínico) y fenoles alteran la viabilidad y el metabolismo, prolongando fases de latencia y disminuyendo tasas específicas y productividad. Se han empleado estrategias de detoxificación como sobrecalentamiento alcalino,

adsorción, tratamiento enzimático y extracción; así como adaptación evolutiva y mejoramiento genético para aumentar la tolerancia y/o reconducir cofactores hacia la conversión de inhibidores (Ruchala et al., 2019).

2.3.1.2.7.2. Pretratamientos de de la biomasa lignocelulósica

El pretratamiento de la biomasa lignocelulósica es una etapa crítica en la producción de bioetanol, ya que mejora la accesibilidad de los polisacáridos fermentables y facilita su posterior hidrólisis enzimática. Dependiendo de la naturaleza de la biomasa y los objetivos del proceso, se emplean diversas estrategias de pretratamiento, que se clasifican en físicos, químicos y biológicos (Chen et al., 2024).

2.3.1.2.7.2.1. Pretratamientos físicos

Los pretratamientos físicos buscan modificar la estructura física de la biomasa para aumentar la superficie accesible para las enzimas. Estos métodos incluyen la molienda, la sonicación, la extrusión y la irradiación. La molienda reduce el tamaño de las partículas, incrementando la superficie específica, mientras que la sonicación utiliza ondas ultrasónicas para fragmentar las paredes celulares. La extrusión implica el paso de la biomasa a través de un barril a alta temperatura y presión, lo que provoca su desestructuración (Chen et al., 2024).

2.3.1.2.7.2.2. Pretratamientos químicos

Los pretratamientos químicos emplean agentes como ácidos, bases, solventes orgánicos o peróxido de hidrógeno para modificar la estructura química de la biomasa. El uso de ácidos o bases puede hidrolizar hemicelulosas y parte de la celulosa, mientras que los solventes orgánicos pueden solubilizar lignina. Sin embargo, estos

procesos pueden generar compuestos inhibidores que afectan negativamente la fermentación posterior (Pendse et al., 2023).

2.3.1.2.7.2.3. Pretratamientos biológicos

Por otro lado, los pretratamientos biológicos utilizan microorganismos, como hongos y bacterias, para degradar componentes de la biomasa (Pendse et al., 2023). Estos organismos secretan enzimas que descomponen la lignina y las hemicelulosa, facilitando la liberación de azúcares fermentables (Chen et al., 2024).

2.3.1.2.7.2.4. Pretratamientos físico-químicos

La combinación de métodos físicos y químicos, conocidos como pretratamientos fisicoquímicos, ha demostrado ser eficaz para mejorar la eficiencia de la hidrólisis enzimática (Pendse et al., 2023). Estos procesos combinan la desestructuración física de la biomasa con la acción química para modificar su composición y estructura, facilitando la liberación de azúcares fermentables (Chen et al., 2024).

2.3.1.2.8. Métodos de detección y validación del bioetanol

La determinación del contenido de etanol producido en procesos de fermentación representa un paso crucial para evaluar el rendimiento, la eficiencia y la calidad del producto final. Para ello, se emplean métodos analíticos que permiten cuantificar el etanol, identificar subproductos o contaminantes y validar el cumplimiento de especificaciones técnicas. Estos métodos deben garantizar condiciones de selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) adecuados para la matriz correspondiente (Ghazali & Mustafa, 2025).

Para la validación de los métodos de determinación de bioetanol es necesario evaluar parámetros clave tales como:

- **Selectividad:** capacidad de discriminar etanol de otros compuestos presentes (Quan et al., 2012).
- **Linealidad:** rango de concentraciones en los que la respuesta analítica es proporcional al contenido (Quan et al., 2012).
- **Precisión:** consistencia de los resultados bajo condiciones repetidas (repetibilidad) e intermedias (precisión intermedia) (Quan et al., 2012).
- **Exactitud (recuperación):** grado en el que el resultado se aproxima al valor verdadero (Quan et al., 2012).
- **Límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ):** concentraciones mínimas detectables y cuantificables con fiabilidad (Quan et al., 2012).
- **Incertidumbre de medición:** evaluación cuantitativa de los errores implicados en la medición (Quan et al., 2012).

2.3.1.2.8.1. Destilación fraccionada

Es una técnica esencial en la purificación del bioetanol, específicamente cuando se desea concentraciones elevadas del biocombustible a partir de mezclas complejas obtenidas en la fermentación. Este proceso se basa en la diferencia de volatilidad de los componentes de una mezcla líquida, dado que al calentarse los componentes con menor punto de ebullición se vaporizan primero, ascendiendo por una columna de destilación equipada con bandejas o empaques que facilitan la condensación y vaporización repetida, este proceso permite la separación de componentes con puntos de ebullición cercanos como el etanol y el agua, alcanzando concentraciones de etanol superiores al 95% en volumen (Mukherjee et al., 2022).

2.3.1.2.8.2. Métodos de detección cualitativa de etanol

La detección cualitativa de etanol implica técnicas que confirman la presencia del etanol en una muestra sin necesariamente cuantificarlo, este tipo de métodos suele emplearse como pruebas preliminares o de cribado antes de aplicar análisis más detallados.

Entre los enfoques más comunes figuran las reacciones colorimétricas en las que un agente oxidante produce un cambio visible de color al reaccionar con etanol, métodos de sensor basados en gas o vapor que detectan la presencia mediante cambios eléctricos u ópticos, y dispositivos portátiles de muestreo de aliento o aire donde la señal indica simplemente si hay una presencia significativa de etanol (Sukma et al., 2023).

Estas técnicas ofrecen ventajas como bajo costo, simplicidad operativa y respuesta rápida, lo que las hace útiles en entornos de campo o de control inicial. Sin embargo, presentan limitaciones en cuanto a selectividad, ya que pueden existir interferencias de otros compuestos volátiles o cuerpos reductores (Sukma et al., 2023).

2.3.1.2.8.2.1. Prueba de llama

La prueba de llama es una técnica cualitativa empleada para la identificación de ciertos iones metálicos en compuestos mediante la observación de un color característico de la llama al quemar el material que los contiene. Así, cuando un compuesto se introduce en una llama, los electrones de los átomos metálicos son excitados por la energía térmica y luego regresan a su estado fundamental liberando energía en forma de luz con longitud de onda específica, generando un color distintivo. Esta técnica permite diferenciar entre iones como sodio con un color amarillo intenso,

potasio color lila, calcio color naranja-rojo o cobre color verde-azulado, entre otros. Su facilidad de implementación y rápida respuesta la hacen útil en laboratorios pedagógicos y de análisis preliminar, aunque su sensibilidad y selectividad son limitadas frente a métodos instrumentales más avanzados. Para asegurar resultados fiables, se requiere una llama limpia, utensilios libres de contaminantes metálicos, y observar bajo condiciones de baja iluminación ambiental para evitar interferencias. Asimismo, la prueba de llama puede complementarse con técnicas espectroscópicas de emisión que cuantifican las líneas de emisión específicas, mejorando la precisión de la identificación (Milne, 2022).

2.3.1.2.8.2.2. Test de yodoformo

El test de yodoformo es una técnica cualitativa en química orgánica que permite identificar compuestos que contienen el grupo funcional metil (-CO-) o alcoholes secundarios del tipo $R-CH(OH)-CH_3$. El análisis consiste en que el compuesto se trata en medio alcalino junto con yodo molecular, lo que provoca la formación de un precipitado amarillo-pálido de triyodometano (CHI_3) si la molécula presenta la estructura deseada. El mecanismo subyacente comienza con la halogenación exhaustiva del grupo metilo adyacente al carbonilo, seguida de la ruptura del enlace C-C y la formación del carboxilato correspondiente más el iodoformo. El resultado positivo se observa visualmente por el precipitado y a menudo por un olor característico. Se puede emplear como prueba preliminar de la presencia de grupos metil-CO-, pero debe complementarse con técnicas instrumentales más selectivas para una identificación fiable (Prakobdi & Saetear, 2023).

2.3.1.2.8.3. Métodos de cuantificación

2.3.1.2.8.3.1. Técnicas cromatográficas

Las técnicas cromatográficas constituyen el estándar más utilizado para cuantificación del etanol en muestras de bioetanol. Entre ellas se destaca la cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID). Este método permite separar etanol de otros compuestos volátiles y ofrecer una cuantificación precisa y reproducible (Syazwanee et al., 2021).

Por otro lado, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) también es empleada especialmente cuando la muestra contiene azúcares residuales u otros compuestos no volátiles. El uso de HPLC permite evaporación menor, pero puede presentar menor sensibilidad y requerir mayor cuidado en la preparación de la muestra (Quan et al., 2012).

2.3.1.2.8.3.2. Alcoholímetro

El alcoholímetro es un dispositivo diseñado para estimar la concentración de etanol. Su funcionamiento se basa en sensores electroquímicos, infrarrojos u otros principios físicos que detectan la presencia de alcohol. (Delgado et al., 2021).

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1. Tipo y diseño de investigación

La presente investigación se enmarca en un enfoque cuantitativo mediante la recolección y análisis de datos numéricos generados durante los experimentos de laboratorio. Por otro lado, es de tipo experimental, pues se manipularon diferentes variables para observar su efecto en la producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales.

El diseño adoptado en la investigación es un diseño experimental factorial completo, con el fin de analizar los efectos individuales y combinados de las variables independientes como contenido de azúcares (°Brix), pH del medio fermentativo y número de ciclos de hidrólisis ácida. Para ello, se consideraron factores con dos y tres niveles, lo que permitió evaluar tanto los efectos individuales como las posibles interacciones entre las variables analizadas.

3.2. Población y muestra

La población objeto de estudio son los residuos agroindustriales obtenidas de procesos de aprovechamiento de cacao y plátano maduro en Santo Domingo Ecuador que podrían ser utilizados como fuente de carbono para la producción de bioetanol, mientras que la muestra es de tipo selectiva y corresponde a la cantidad de biomasa utilizada para poner en marcha los biorreactores de estudio.

La selección de los sustratos residuos de cacao y plátano maduro responde a criterios de disponibilidad local, potencial fermentativo y variabilidad de composición. La muestra experimental fue determinada por diseño factorial, y cada tratamiento fue replicado por triplicado para aumentar la confiabilidad de los resultados.

La población objeto de estudio está conformada por los residuos agroindustriales generados a partir del procesamiento de cacao (*Theobroma cacao* L. cv. CCN51) y plátano maduro (*Musa paradisiaca* var. Barraganete), recolectados en agroindustrias ubicadas en el cantón Santo Domingo, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. Cabe destacar que se seleccionaron estos residuos al considerarlos como una fuente potencial de carbono fermentable para la producción de bioetanol.

El tipo de muestra utilizada es de tipo no probabilística intencional en función de la disponibilidad, accesibilidad y madurez de los residuos agroindustriales utilizados. El tamaño de muestra experimental fue generado en función de la cantidad de biomasa utilizada para cada tratamiento. Cada combinación experimental fue realizada por triplicado para aumentar la confiabilidad de los resultados utilizando a su vez controles negativos sin inóculo.

3.3. Métodos y técnicas de la investigación

3.3.1. Materiales / Equipos / Insumos / Reactivos

Tabla 2. Materiales y reactivos

Materiales	Equipos
• Cáscara de cacao (<i>Theobroma cacao</i> cv. CCN51) • Plátano maduro (<i>Musa paradisiaca</i> var. Barraganete) • Papel filtro Whatman N°1 • Agua destilada • Gasa estéril • Frascos de vidrio resistente al calor (1 L) • Portaobjetos de microscopía • Matraz aforado (1 L)	• Autoclave • Licuadora industrial • Estufa • Microscopio óptico con cámara digital (100X) • Sistema de destilación (matraz, refrigerante, termómetro) • Termómetro analógico o digital • Alcohómetro analógico • pH-metro digital calibrado • Refractómetro manual (°Bx) • Cámara digital (para análisis en ImageJ) • Computador con software ImageJ

	• Agitador magnético o manual • Balanza digital de precisión
Reactivos	Insumos
• Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (98%) • Hidróxido de sodio (NaOH) 1 M • Solución de yodo (I_2) 0.05 M • Solución de NaOH 5% • Levadura seca <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	• Probetas de 250 mL y 500 mL • Cinta adhesiva y rotuladores para identificación • Válvulas tipo trampa de aire • Sistema de toma de muestras tipo venoclisis • Cápsulas de porcelana

Fuente: Elaboración propia

3.3.2. Metodología de la Investigación

Preparación de las materias primas

Se pesaron 200 g de plátano maduro barraganete y 200 g de cáscara de cacao CCN51 para cada ciclo de hidrólisis ácida, los cuales fueron posteriormente triturados hasta obtener un tamaño de partícula menor a 5 mm, para facilitar la liberación de azúcares durante el pretratamiento químico.

Hidrólisis ácida

Cada ciclo de hidrólisis ácida se generó mezclando 500 mL de solución ácida de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1,5% v/v con 200 g de residuo triturado. La mezcla fue homogeneizada y posteriormente transferida a frascos de vidrio resistentes al calor, se colocaron a 121°C y 1.1 atm durante 45 minutos. Una vez finalizado el tratamiento térmico, se dejaron enfriar hasta alcanzar entre 30 y 35°C antes de ser manipulados.

Se realizaron varios ciclos de hidrólisis agregando 200 g de residuo triturado en cada una, utilizando la fase líquida de cada ciclo para el ciclo hidrolítico posterior, hasta alcanzar los grados Brix objetivo de 6, 8 y 10.

Caracterización del hidrolizado

Se utilizó papel filtro de poro medio (Whatman N°1) para separar los sólidos del líquido, posteriormente la fase líquida fue recolectada y caracterizada midiendo su pH utilizando un pH-metro digital calibrado y se midieron los grados Brix (°Bx) usando un refractómetro manual.

Si los mostos al final del proceso estaban por debajo de los valores esperados (6, 8 y 10 °Bx), se concentraron por evaporación controlada a 60–70°C en baño María. Si por otro lado superaban el valor, se diluyeron con agua destilada estéril. Posteriormente, el pH fue ajustado cuidadosamente a un rango entre 4.5 y 5.5 para el normal crecimiento de la levadura mediante la adición progresiva de hidróxido de sodio NaOH 1 M, bajo agitación lenta.

Fermentación del mosto

Una vez ajustados los grados Brix y el pH, los mostos fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos, posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente para su utilización.

Por otro lado, se preparó el inóculo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, rehidratada en agua tibia (35°C) durante 15 minutos. Los frascos fermentadores se sellaron incorporando válvulas tipo trampa de aire y toma de muestras tipo venoclisis. Posteriormente, se incubaron a una temperatura aproximada de 25°C durante 21 días, durante los cuales se realizó el monitoreo de pH y grados Brix cada 24 horas para seguir la cinética fermentativa, realizando el proceso por triplicado.

Destilación y detección de etanol

Finalizado el proceso de fermentación, se sometió el líquido fermentado a destilación fraccionada, se llenaron los matraces hasta dos tercios de su volumen y se calentó lentamente hasta alcanzar entre 78 y 82°C, recolectando el destilado hasta que la temperatura superó los 85°C.

Posteriormente, mediante una probeta se cuantificó el volumen total recuperado (mL) y para determinar la concentración de etanol (% v/v) se utilizó un alcoholímetro analógico.

Además, se realizaron pruebas confirmatorias como la prueba de llama colocando 1 mL del destilado en una cápsula de porcelana y se encendió demostrando la existencia de etanol a través de la presencia de una llama azul amarillenta. Además, se aplicó el test de yodoformo, mezclando 2 mililitros del destilado con 3 mililitros de yodo al 0.05 M y 5 mililitros de hidróxido de sodio al 5%, confirmando la presencia de etanol mediante la formación de un precipitado amarillo con olor característico a través de la formación de yodoformo (CHI_3).

Conteo de levaduras mediante ImageJ

Se realizó un análisis microbiológico para estimar la población viable de levaduras luego del tratamiento, se tomaron 250 microlitros de muestra diluida en series de hasta 10^{-3} y se depositaron en portaobjetos estériles. Las muestras se fotografiaron con microscopio óptico a 100 aumentos. Las imágenes fueron analizadas utilizando el software ImageJ, empleando el plugin "Analyze Particles", lo cual permitió estimar el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) a partir del área y número de partículas detectadas.

3.4. Procesamiento estadístico de la información

En la presente investigación se usará un diseño factorial A x B considerando como factores principales el tipo de sustrato, pH, ciclos de hidrólisis y tiempo mientras que las variables respuesta serán grados Brix, cantidad de levadura y cantidad de etanol. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva, pruebas de normalidad utilizando el Test de Shapiro-Wilk, para posteriormente generar un análisis de covarianza (ANCOVA) o análisis de varianza (ANOVA) según sea el caso. Finalmente, para corroborar si existe o no diferencia significativa se empleó la prueba de Tukey para comparaciones múltiples, siendo el nivel de significancia de $p < 0.05$, durante el análisis se utilizaron los Software InfoStat y Origin.

- **Factores y variables de respuesta**

Tabla 3. Factores y variables de respuesta

Factores	Niveles
Factores principales	Tipo de Sustrato (cacao o maduro)
	pH
	Ciclos de hidrólisis
	Tiempo
	Grados Brix
Variables respuesta	Grados Brix
	Cantidad de levadura
	Cantidad de etanol

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Liberación de azúcares simples mediante hidrólisis ácida

La relación entre los grados Brix y la cantidad de ciclos de hidrólisis ácida fue analizada mediante un diseño completamente al azar (DCA) con dos factores fijos, entre ellos, los tipos de sustrato y la cantidad de ciclos de hidrólisis ácida, utilizando 9 repeticiones por cada tratamiento como se observa en la tabla 4.

Tabla 4. Factores y niveles del diseño experimental

Factores	Código	Niveles
Tipo de sustrato	A	$a_0 = \text{Cacao}$
		$a_1 = \text{Maduro}$
Cantidad de ciclos	B	$b_0 = 0$ (Brix inicial)
		$b_1 = 1$
		$b_2 = 2$
		$b_3 = 3$
		$b_4 = 4$
		$b_5 = 5$

Fuente: Elaboración propia

El análisis descriptivo visualizado en la tabla 5 muestra que los valores medios de los grados Brix aumentan progresivamente con la cantidad de ciclos en ambos tipos de sustrato, por ejemplo, en la muestra de cacao aumenta de 3,00 a 6,83 °Brix.

Mientras que en la muestra de maduro asciende de 3,00 a 7,44 °Brix, lo cual nos sugiere una relación directamente proporcional entre la cantidad de ciclos y la

cantidad de grados Brix, reflejando un incremento en la liberación y acumulación de azúcares solubles.

Tabla 5. Análisis descriptivo entre los ciclos de hidrólisis y la cantidad de grados Brix

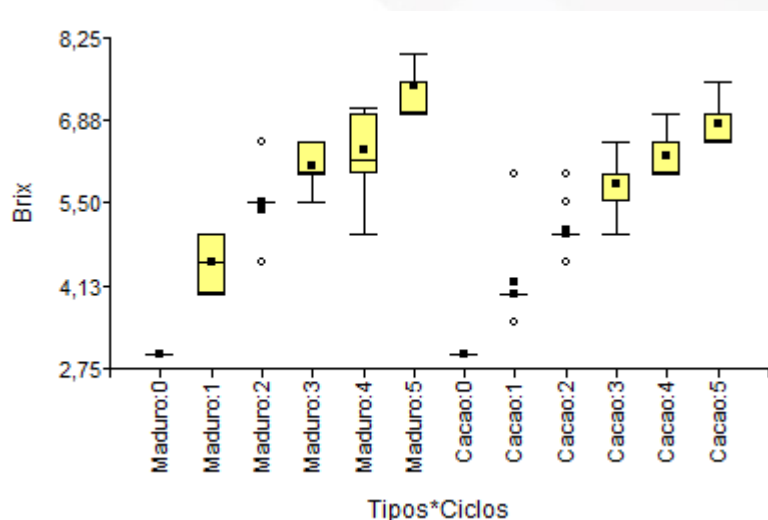
<u>Tipos</u>	<u>Ciclos</u>	<u>Variable</u>	<u>n</u>	<u>Media</u>	<u>D.E.</u>	<u>Mín</u>	<u>Máx</u>
Cacao	0	Brix	9	3,00	0,00	3,00	3,00
Cacao	1	Brix	9	4,17	0,71	3,50	6,00
Cacao	2	Brix	9	5,06	0,46	4,50	6,00
Cacao	3	Brix	9	5,83	0,43	5,00	6,50
Cacao	4	Brix	9	6,28	0,36	6,00	7,00
Cacao	5	Brix	9	6,83	0,35	6,50	7,50
Maduro	0	Brix	9	3,00	0,00	3,00	3,00
Maduro	1	Brix	9	4,50	0,43	4,00	5,00
Maduro	2	Brix	9	5,39	0,60	4,50	6,50
Maduro	3	Brix	9	6,11	0,33	5,50	6,50
Maduro	4	Brix	9	6,37	0,71	5,00	7,10
Maduro	5	Brix	9	7,44	0,39	7,00	8,00

Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, el Boxplot de la gráfica 1 refleja una variabilidad en el contenido de grados Brix de los dos tipos de sustrato a lo largo de diferentes ciclos de hidrólisis ácida, donde es posible observar que el plátano maduro presenta una mediana mayor de grados Brix que el cacao, lo que indica que los tratamientos que utilizaron como sustrato plátano maduro obtuvieron una mayor cantidad de azúcares solubles.

Esto sugiere que la hidrólisis ácida aplicada al plátano maduro podría ser más eficiente en la conversión de almidón a azúcares reductores. Además, se visualiza la presencia de valores atípicos en los ciclos de hidrólisis ácida 0, 2, 4 y 5 del cacao lo que sugiere que algunos factores, como la estructura lignocelulósica del cacao o el grado de madurez del residuo, pueden afectar la liberación de azúcares en formas inusuales.

Gráfica 1. Boxplot entre los ciclos de hidrólisis y la cantidad de grados Brix



Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza muestra resultados altamente significativos ($p < 0,0001$), con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,91, lo que indica que el 91% de la variabilidad del contenido de Brix se explica por la cantidad de ciclos de hidrólisis ácida realizados. Además, el coeficiente de variación de 8,52% refleja una buena precisión experimental, tal como se observa en la tabla 6.

Tabla 6. Análisis de la varianza

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Brix	108	0,91	0,90	8,52

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 7 se detallan los resultados del ANOVA tipo III, al analizar la variación entre los tipos de sustrato se obtuvo una variación significativa ($p = 0,0023$), demostrando que los valores de grados Brix difieren entre las muestras de cacao y plátano maduro.

Por otro lado, el efecto de los ciclos ($p < 0,0001$) es altamente significativo demostrando que los ciclos influyen de manera marcada en el contenido de sólidos

solubles. Finalmente, en la interacción Tipos*Ciclos no hubo diferencias significativas ($p = 0,4203$) ya que el patrón de cambio a través de los ciclos es similar entre ambos tipos de sustrato.

Tabla 7. Análisis de la varianza tipo III

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	202,92	11	18,45	89,36	<0,0001
Tipos	2,03	1	2,03	9,82	0,0023
Ciclos	199,85	5	39,97	193,62	<0,0001
Tipos*Ciclos	1,04	5	0,21	1,00	0,4203
Error	19,82	96	0,21		
Total	222,73	107			

Fuente: Elaboración propia

La comparación empleando la prueba de Tukey muestra que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tipos de sustrato empleados formando dos grupos A y B como se visualiza en la tabla 8, donde las muestras de plátano maduro presentan valores medios de Brix significativamente mayores que el cacao, sugiriendo una mayor concentración de azúcares solubles, posiblemente por un grado de madurez más avanzado o características fisiológicas del material vegetal.

Tabla 8. Prueba de Tukey factor A

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17357					
Error: 0,2064 gl: 96					
Tipos	Medias	n	E.E.		
Cacao	5,19	54	0,06	A	
Maduro	5,47	54	0,06	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Fuente: Elaboración propia

A su vez, la prueba de Tukey en base a la cantidad de ciclos de hidrólisis ácida muestra un aumento progresivo y significativo de Brix con el avance de los ciclos como se observa en la tabla 9. El incremento entre los primeros y últimos ciclos es notable alrededor de 4,14 unidades, indicando una liberación de azúcares fermentables evidente.

Tabla 9. Prueba de Tukey factor B

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,44043
 Error: 0,2064 gl: 96

Ciclos	Medias	n	E.E.	
0	3,00	18	0,11	A
1	4,33	18	0,11	B
2	5,22	18	0,11	C
3	5,97	18	0,11	D
4	6,32	18	0,11	D
5	7,14	18	0,11	E

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

Fuente: Elaboración propia

Finalmente, aunque el ANOVA de la interacción A×B no evidencia un efecto significativo ($p = 0,4203$), demostrando que el patrón de incremento de los grados Brix es similar entre ambos sustratos, la prueba de Tukey presentada en la tabla 10 genera diferentes grupos estadísticos entre el tipo de sustrato y la cantidad de ciclos, evidenciando que aunque la tendencia general de incremento es comparable entre ambos sustratos existen ciertas combinaciones individuales con niveles de azúcares significativamente diferentes.

Tabla 10. Prueba de Tukey interacción A x B

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71754
 Error: 0,2064 gl: 96

Tipos	Ciclos	Medias	n	E.E.	
Maduro	0	3,00	9	0,15	A
Cacao	0	3,00	9	0,15	A
Cacao	1	4,17	9	0,15	B
Maduro	1	4,50	9	0,15	B C
Cacao	2	5,06	9	0,15	C D
Maduro	2	5,39	9	0,15	D E
Cacao	3	5,83	9	0,15	E F
Maduro	3	6,11	9	0,15	F
Cacao	4	6,28	9	0,15	F G
Maduro	4	6,37	9	0,15	F G
Cacao	5	6,83	9	0,15	G H
Maduro	5	7,44	9	0,15	H

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

Fuente: Elaboración propia

La tabla 11 de análisis de regresión lineal muestra la relación entre el número de ciclos y el valor de grados Brix, donde se observa que el 87% de la variación de grados Brix

se explica por los ciclos de hidrólisis ácida con una tendencia lineal positiva con un coeficiente de determinación R^2 de 0,87.

Tabla 11. Análisis de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R^2	R^2_{Aj}	ECMP	AIC	BIC
Brix	108	0,87	0,87	0,29	172,42	180,47

Fuente: Elaboración propia

El análisis de coeficientes de regresión que se refleja en la tabla 12 evidencia que la pendiente del modelo (β_1) es positiva, indicando que los grados Brix aumentan entre 0,72 y 0,84 unidades por cada ciclo, lo cual demuestra que la hidrólisis ácida genera un incremento acumulativo en la concentración de azúcares simples debido a su liberación desde la matriz vegetal de los sustratos evaluados.

Tabla 12. Coeficientes de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis

Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows	VIF
const	3,37	0,09	3,20	3,55	37,47	<0,0001		
Ciclos	0,78	0,03	0,72	0,84	26,34	<0,0001	693,68	1,00

Fuente: Elaboración propia

4.2. Variación de los grados Brix en función del pH

El análisis de varianza con respecto a la variación de grados Brix en base a la variación de pH muestra resultados altamente significativos ($p < 0,0001$), con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,41, lo que indica que el 41% de la variabilidad del contenido de Brix se explica por la variación del pH. Además, el coeficiente de variación de 52,26% refleja una alta variabilidad experimental, tal como se observa en la tabla 13.

Tabla 13. Análisis de la varianza**Análisis de la varianza**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Valor	36	0,41	0,35	52,26

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del ANCOVA tipo III que se visualiza en la tabla 14 permite identificar que existe un efecto altamente significativo del pH con respecto a la variación de grados Brix ($p < 0,0001$) demostrando que la variación de pH influye de forma marcada en el contenido de sólidos solubles. Por otro lado, con respecto a los tipos de sustrato se muestra que no existe diferencia significativa ($p = 0,9738$) entre el cacao y plátano maduro, evidenciando que el efecto del pH sobre la variación del Brix sigue el mismo comportamiento independientemente del sustrato utilizado.

Finalmente, en la interacción Variable pH*Tipos, no existen diferencias significativas ($p = 0,9352$) evidenciando que la relación entre la variación del Brix y el pH sigue un patrón similar en ambos sustratos sin modificar la tendencia general.

Tabla 14. Análisis de la varianza SC tipo III

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	29,59	3	9,86	7,34	0,0007
Variable	29,58	1	29,58	22,02	<0,0001
Tipos	1,5E-03	1	1,5E-03	1,1E-03	0,9738
Variable*Tipos	0,01	1	0,01	0,01	0,9352
Error	42,98	32	1,34		
Total	72,56	35			

Fuente: Elaboración propia**4.3. Reducción de los azúcares en función del tiempo**

La relación entre el consumo de azúcares evidenciada mediante la disminución de grados Brix con respecto al tiempo se analizó mediante un diseño completamente al

azar (DCA) de dos factores utilizando 3 réplicas por cada tratamiento, los factores analizados se encuentran detallados en la tabla 15.

Tabla 15. Factores y niveles del diseño experimental

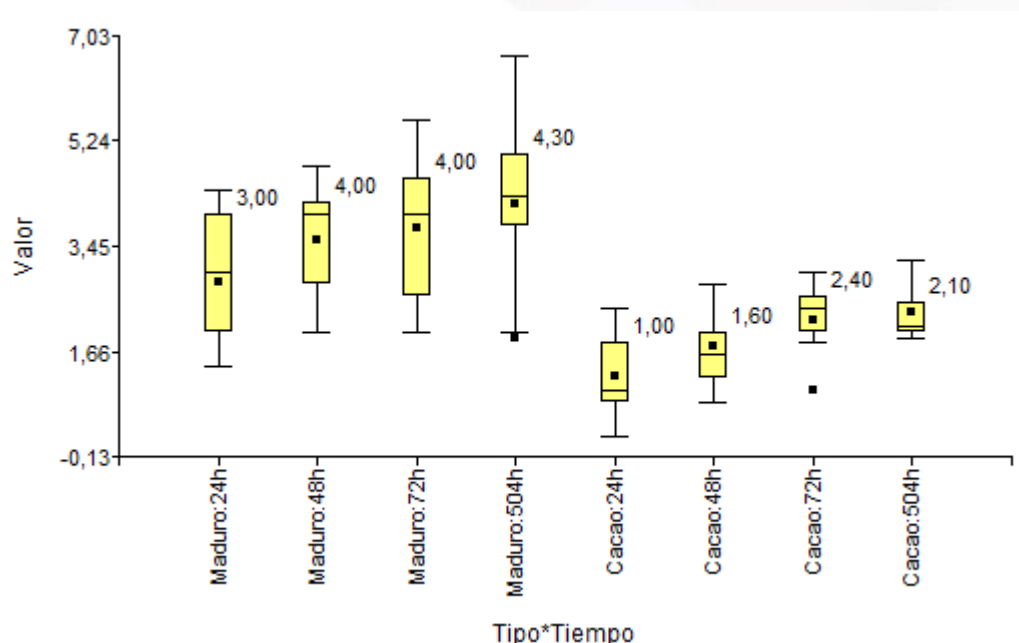
Factores	Código	Niveles
Tipo de bagazo	A	$a_0 = \text{Maduro}$
		$a_1 = \text{Cacao}$
Tiempo	B	$b_0 = 24h$
		$b_1 = 48h$
		$b_2 = 72h$
		$b_3 = 504h$

Fuente: Elaboración propia

En este contexto, el Boxplot de la gráfica 2 demuestra como los grados Brix de los dos tipos de sustrato muestran una disminución a lo largo del tiempo, donde es posible observar que la mayor variación se muestra hasta las 72 horas posterior a lo cual la velocidad de consumo disminuye.

Sin embargo, en el caso del plátano maduro presenta una variación de grados Brix más amplio que el cacao, lo que indica que los tratamientos que utilizaron como sustrato los plátanos maduros tuvieron mayor consumo de azúcares. Además, se visualiza la presencia de valores atípicos en el caso del cacao lo que sugiere que algunos factores como la cinética fermentativa de la levadura o la naturaleza del material utilizado, podrían afectar la variación de azúcares en formas inusuales.

Gráfica 2. Boxplot entre el tiempo y la variación de grados Brix



Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza muestra resultados significativos ($p < 0,0034$), con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,51, lo que indica que el 51% de la variación del contenido de Brix se basa en el tiempo de fermentación de la levadura.

Sin embargo no es completamente marcado considerando que la mayor variación ocurrió en los primeros tiempos de muestreo, existiendo una brecha considerable de tiempo entre las 72 y 504 horas donde la variación de los grados brix es considerablemente menor. Además, el coeficiente de variación de 36,71% muestra una variabilidad alta entre las repeticiones, tal como se observa en la tabla 16.

Tabla 16. Análisis de la varianza

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Valor	72	0,51	0,46	36,71

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 17 se detallan los resultados del ANOVA tipo III, al analizar la variación entre los tipos de sustrato se obtuvo una variación significativa ($p < 0,0001$),

demostrando que la disminución de grados Brix difiere entre las muestras de cacao y plátano maduro. Por otro lado, el efecto del tiempo ($p = 0,0034$) es significativo demostrando que la cantidad de tiempo de fermentación si influye de manera marcada en el contenido de sólidos solubles.

Sin embargo, su valor es menor ya que como se analizó en el análisis de varianza posterior a las 72 h la disminución de grados Brix no es tan marcada. Finalmente, en la interacción Tiempo*Tipo no se evidencia un efecto significativo ($p = 0,9594$) ya que la disminución de los grados brix a través del tiempo es similar entre ambos tipos de sustrato, aunque los valores absolutos de Brix difieren entre plátano maduro y cacao.

Tabla 17. Análisis de la varianza tipo III

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	67,39	7	9,63	9,64	<0,0001
Tiempo	15,07	3	5,02	5,03	0,0034
Tipo	52,02	1	52,02	52,09	<0,0001
Tiempo*Tipo	0,30	3	0,10	0,10	0,9594
Error	63,92	64	1,00		
Total	131,30	71			

Fuente: Elaboración propia

La comparación empleando la prueba de Tukey de la variación de grados Brix con respecto al tiempo muestra que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) como se visualiza en la tabla 18, donde el primer registro de tiempo de 24 horas forma el grupo A debido a que al inicio la levadura tiene una alta actividad metabólica durante su fase exponencial.

Luego se genera una transición a las 48 horas y desde las 72 horas hasta las 504 horas los cambios son menos marcados generando el grupo B, esto es coherente con los periodos clásicos de fermentación, ya que la actividad fermentativa disminuye con el tiempo hasta llegar a un periodo de latencia donde existe un menor consumo de azúcares.

Tabla 18. Prueba de Tukey factor A

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,87870
Error: 0,9987 gl: 64

Tiempo	Medias	n	E.E.	
24h	2,02	18	0,24	A
48h	2,64	18	0,24	A B
72h	2,97	18	0,24	B
504h	3,25	18	0,24	B

Fuente: Elaboración propia

A su vez, la prueba de Tukey que se muestra en la tabla 19 permite identificar que existe una diferencia significativa entre los dos tipos de sustrato cacao y plátano maduro con respecto a la disminución de grados Brix generando dos grupos A y B.

Esto se hace evidente al comparar la media de 1,87 del cacao con la de plátano maduro de 3,57, estas variaciones pueden deberse a que el plátano maduro generalmente contiene mayor cantidad de azúcares simples como glucosa y fructosa, mientras que la naturaleza más fibrosa y con más lignocelulosa del cacao limita la disponibilidad inmediata de azúcares fermentables para la levadura.

Tabla 19. Prueba de Tukey factor B

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,47056
Error: 0,9987 gl: 64

Tipo	Medias	n	E.E.	
Cacao	1,87	36	0,17	A
Maduro	3,57	36	0,17	B

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

Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, en el caso de la interacción, A×B el ANOVA no muestra un efecto significativo ($p = 0,9594$), evidenciando que la tendencia global de disminución de los grados Brix es similar entre ambos sustratos. Por otro lado, la prueba de Tukey presentada en la tabla 20 evidencia diferencias estadísticas entre algunas combinaciones del tipo de sustrato y el tiempo de fermentación, proponiendo que aunque la variación de grados Brix tiene una tendencia general similar entre ambos

sustratos, existen ciertos tratamientos individuales que presentan valores de Brix significativamente distintos.

Tabla 20. Prueba de Tukey factor A x B

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,47611
 Error: 0,9987 gl: 64

Tiempo	Tipo	Medias	n	E.E.					
24h	Cacao	1,22	9	0,33	A				
48h	Cacao	1,73	9	0,33	A	B			
72h	Cacao	2,20	9	0,33	A	B	C		
504h	Cacao	2,33	9	0,33	A	B	C	D	
24h	Maduro	2,82	9	0,33		B	C	D	E
48h	Maduro	3,56	9	0,33			C	D	E
72h	Maduro	3,74	9	0,33				D	E
504h	Maduro	4,17	9	0,33					E

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

Fuente: Elaboración propia

4.4. Relación entre la cantidad de etanol producido y el sustrato utilizado

El análisis de covarianza (ANCOVA) muestra que el volumen de etanol producido está influenciado significativamente tanto por el tipo de muestra ($p = 0.0196$) como por el conteo de levaduras ($p = 0.0230$). El modelo presenta un coeficiente de determinación ($R^2 = 0,89$) que explica que el 89% de la variación en la producción de etanol se explica por estas variables. Estos resultados confirman que la producción de etanol depende simultáneamente del tipo de sustrato y de la actividad fermentativa de la levadura mostrando un comportamiento diferencial entre cacao y maduro.

Tabla 21. Análisis de varianza

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Volumen EtOH	6	0,89	0,82	13,46

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 22 se detallan los resultados del ANCOVA tipo III, al analizar la variación entre los tipos de sustrato se obtuvo una variación significativa ($p = 0,0196$), demostrando que la producción de etanol difiere entre las muestras de cacao y

plátano maduro. Por otro lado, el conteo de levaduras genera igualmente una influencia significativa ($p = 0,0230$) en la cantidad de etanol. Sin embargo, ambos factores afectan a su producción de forma independiente.

Tabla 22. Análisis de la varianza tipo III

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef
Modelo	51,69	2	25,85	12,04	0,0369	
Tipo de muestra	44,86	1	44,86	20,90	0,0196	
Conteo levadura	39,86	1	39,86	18,57	0,0230	0,01
Error	6,44	3	2,15			
Total	58,13	5				

Fuente: Elaboración propia

La tabla 23 de análisis de regresión lineal muestra la relación entre el volumen de etanol obtenido y el conteo de levaduras, donde se observa que no existe una relación directa ya que coeficiente de determinación es bajo ($R^2 = 0,12$) por lo cual el conteo de levaduras genera un efecto solo del 12% sobre la producción de etanol, lo cual podría demostrar que la cantidad de etanol producido depende mayormente de otros factores, como la disponibilidad de azúcares fermentables, el tipo de sustrato o la inhibición metabólica que por la cantidad de levaduras.

Tabla 23. Análisis de regresión lineal entre el volumen de etanol y conteo de levaduras

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
Conteo levadura	6	0,12	0,00	3757612070885,37	190,31	189,68

Fuente: Elaboración propia

El análisis de coeficientes de regresión que se refleja en la tabla 23 evidencia que aunque la pendiente del modelo (β_1) es positiva, no existe un efecto significativo ($p = 0,5060$) indicando que la cantidad de levaduras no tiene un efecto lineal claro sobre la cantidad de etanol generado. Por lo cual, se demuestra que la producción de

alcohol depende más de la actividad metabólica durante la fase exponencial y de la disponibilidad de sustratos que del conteo celular final.

Tabla 24. Análisis de regresión lineal entre los grados Brix y los ciclos de hidrólisis

Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

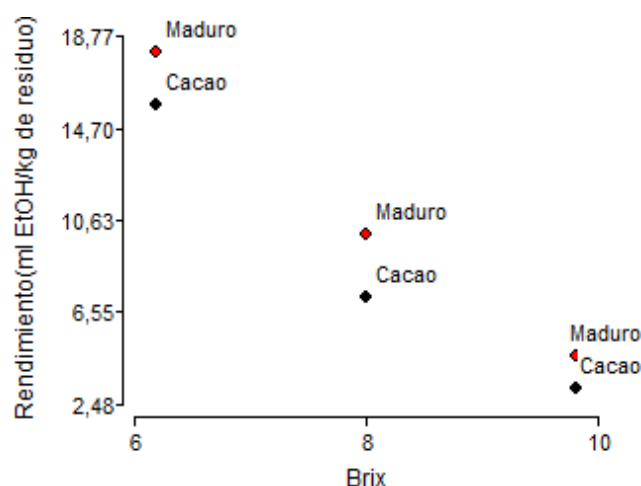
Coef	Est.	E.E.	LI (95%)	LS (95%)	T	p-valor	CpMallows	VIF
const	4645365,73	2059126,24	-1071684,10	10362415,55	2,26	0,0871		
Volumen EtOH	132750,42	181921,96	-372345,83	637846,66	0,73	0,5060	0,53	1,00

Fuente: Elaboración propia

4.5. Análisis del rendimiento de producción de etanol

Finalmente, al comparar la cantidad de mililitros de etanol por kilogramo de residuo utilizado reflejado en la gráfica 3, se puede identificar que el plátano maduro muestra un mayor rendimiento con 18,03 ml EtOH/kg, que el cacao con 15,73 ml EtOH/kg. A su vez se puede observar que en ambos sustratos el valor más bajo de grados Brix analizado produce un rendimiento más alto, disminuyendo progresivamente conforme aumenta la concentración inicial de azúcares. Esta variación podría deberse a que niveles elevados de Brix podrían generar una disminución en la eficiencia fermentativa, posiblemente causadas por estrés osmótico, inhibición metabólica por exceso de sustrato o saturación de la actividad de la levadura.

Gráfica 3. Relación entre rendimiento y la cantidad de grados Brix



Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

5.1. Discusión

5.1.1. Liberación de azúcares simples mediante hidrólisis ácida

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de grados Brix y la cantidad de ciclos de hidrólisis ácida, lo cual evidencia que existe una mayor liberación de azúcares solubles conforme aumenta la cantidad de ciclos, esta observación concuerda con la investigación de Brown y colaboradores que detallan que la hidrólisis ácida logra liberar cantidades significativas de azúcares fermentables, con rendimientos superiores al 90% (Brown et al., 2024).

Por otro lado, el comportamiento ascendente del contenido de grados Brix a lo largo de los ciclos evidenciado en la tabla 10 concuerda con la investigación de Świątek y colaboradores, donde se demuestra que la hidrólisis ácida genera una rápida solubilización de hemicelulosa y celulosa, que incrementa la concentración de azúcares simples, reflejando la ruptura progresiva de conexiones lignocelulósicas de las muestras (Świątek et al., 2020).

En cuanto al tipo de sustrato, las muestras de plátano maduro presentaron medias significativamente mayores de grados Brix (5,47) en comparación con cacao (5,19), lo cual es similar a lo analizado por Brown y colaboradores, donde se establece que los sustratos con carbohidratos menos estructurados como el plátano maduro responden más eficientemente al tratamiento ácido, mientras que el cacao, con mayor contenido de fibra y componentes fenólicos permite la liberación de azúcares de manera más limitada (Brown et al., 2024).

La ausencia de interacción significativa entre los factores Tipos × Ciclos ($p = 0,4203$) sugiere que ambos tipos de sustrato siguen un patrón paralelo de incremento en

grados Brix a lo largo del tiempo. Este resultado se contrasta con la investigación de Ranjan y colaboradores, quienes utilizando hidrólisis ácida en semillas de canola lograron un efecto similar en materiales lignocelulósicos, aunque con rendimientos diferentes según su composición inicial (Ranjan et al., 2023).

5.1.2. Variación de los grados Brix en función del pH

Los resultados obtenidos muestran que el pH ejerce un efecto significativo sobre la variación de los grados Brix, lo cual se evidencia en el análisis de covarianza (ANCOVA), donde la variable pH presentó un valor de $p < 0.0001$ (tabla 14). Lo cual indica que la variación de los sólidos solubles (Brix) puede estar influenciada por los cambios de pH, lo cual contrasta con el estudio de Tirado y colaboradores quienes presentaron variación de Brix por cambios en el pH del mucílago del café, debido a cambios en ionización y solubilidad de compuestos presentes la muestra (Tirado-Kulieva et al., 2024).

El hecho de que el factor Tipo de muestra (Maduro vs. Cacao) no muestra significancia estadística ($p = 0.9738$) sugiere que la variación en los grados Brix no depende de las características particulares del tipo de materia prima empleada. En otras palabras, tanto en muestras de maduro como en cacao, la relación entre el pH y los grados Brix sigue un patrón similar, lo cual es concordante con la investigación de Jaywant y colaboradores quienes mencionan que la lectura refractométrica puede alterarse por factores como pH, fuerza iónica, turbidez y temperatura, así como la contribución combinada de azúcares, ácidos, minerales, aminoácidos y otros solutos (Jaywant et al., 2022).

5.1.3. Reducción de los azúcares en función del tiempo

El análisis de varianza de la tabla 16 evidencia que el 51% de la variación del contenido de Brix se basa en el tiempo de fermentación de la levadura. A su vez, la prueba de Tukey evidencia que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) como se visualiza en la tabla 18, donde el primer registro de tiempo de 24 horas forma el grupo A con cambios más visibles, un tiempo de transición a las 48 horas y desde las 72 horas hasta las 504 horas los cambios son menos marcados generando el grupo B. Esta tendencia es similar a la presentada por Lima y colaboradores donde se muestra que el consumo de azúcar es rápido al inicio y se ralentiza a medida que aumenta el etanol, describiendo una disminución progresiva del sustrato en función del tiempo en la producción de etanol durante la fermentación de extracto de algarrobo (Lima-Costa et al., 2012).

Al analizar la variación de grados Brix entre los tipos de sustrato, los resultados del ANOVA tipo III de la tabla 17 muestra una variación significativa ($p < 0,0001$), demostrando que la disminución de grados Brix difiere entre las muestras de cacao y plátano maduro. Esto se soporta en la investigación de Phillips y colaboradores quienes encontraron que, conforme avanza la madurez del banano, el almidón disminuye y el contenido de azúcares simples aumenta, lo cual mejora su fermentación (Phillips et al., 2021).

Mientras que, en el caso del cacao Streule y colaboradores demostraron que el pH, temperatura, y composición de pulpa afecta la dinámica microbiana, la liberación de azúcares y acidez, ya que empleando el mismo tipo de grano, las diferencias en sustrato como condiciones de cultivo, cantidad de pulpa adherida, etc. generaron variaciones significativas en los resultados de fermentación. (Streule et al., 2023)

Por otro lado, en el caso de la interacción, A×B el ANOVA no muestra un efecto significativo ($p = 0,9594$), evidenciando que la tendencia global de disminución de los grados Brix es similar entre ambos sustratos, como se evidencia en la investigación de Bonassa y colaboradores, donde se establece que la mayor velocidad de consumo de azúcar y producción de etanol ocurre al inicio, seguido de una fase de desaceleración donde los cambios en azúcares reductores son mucho menores, concluyendo que el tiempo de fermentación es un factor clave en la variación de sólidos solubles (Bonassa et al., 2015).

5.1.4. Relación entre la cantidad de etanol producido y el sustrato utilizado

Los resultados del ANCOVA tipo III presentado en la tabla 22 demuestra que la producción de etanol difiere entre las muestras de cacao y plátano maduro ($p = 0,0196$). Los resultados encontrados son concordante con la investigación de Ayala y colaboradores que al comparar distintos escenarios de operación observaron que el mucílago de cacao es un sustrato viable, pero que el rendimiento de etanol depende de la composición del sustrato y de las condiciones de proceso (Nunes et al., 2020).

Por otro lado, el conteo de levaduras genera igualmente una influencia significativa ($p = 0,0230$) en la cantidad de etanol. Sin embargo, la tabla 23 muestra que no existe una relación directa entre el volumen de etanol obtenido y el conteo de levaduras ya que el coeficiente de determinación es bajo, lo cual se confirma en el análisis de coeficientes de regresión que refleja que la cantidad de levaduras no tiene un efecto lineal claro sobre la cantidad de etanol generado ($p = 0,5060$).

Los resultados presentados concuerdan con la investigación de Fernandes y colaboradores donde observaron que las cepas de *S. cerevisiae* con mayor capacidad fermentativa no siempre se asociaban a mayores concentraciones celulares finales,

ya que la viabilidad, la fisiología y la tolerancia al etanol resultaron más determinantes que el simple conteo de levaduras. Además, el estudio destaca que la relación entre número de células y producción de etanol no es lineal y puede estar modulada por estrés y limitaciones nutricionales como se observa en la tabla 23 del presente estudio (Fernandes et al., 2020).

5.1.5. Análisis del rendimiento de producción de etanol

Finalmente, la gráfica 3 permite demostrar que el plátano maduro muestra un mayor rendimiento con 18,03 ml EtOH/kg, que el cacao con 15,73 ml EtOH/kg, así como, que en ambos sustratos el valor más bajo de grados Brix analizado produce un rendimiento más alto, este rendimiento disminuye al aumentar la concentración inicial de azúcares mostrando una relación inversamente proporcional.

Los resultados son concordantes con el estudio de Sica y colaboradores quienes demuestran que concentraciones altas de azúcar generan estrés osmótico, reduciendo viabilidad y eficiencia fermentativa. El estudio también señala que altos niveles de etanol agravan el daño celular, provocando fermentaciones incompletas y mayores azúcares residuales (Sica et al., 2024). A su vez, Silva y colaboradores demostraron en su investigación que concentraciones de azúcar superiores al 25 % retrasan el inicio de la fermentación y generan condiciones osmóticas adversas que reducen la velocidad específica de crecimiento y de producción de etanol (Da Silva et al., 2013).

5.2. Conclusiones

Se demuestra que la producción de bioetanol a partir de cáscaras de cacao y cáscaras de plátano maduro mediante un proceso combinado de hidrólisis ácida y fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* es técnicamente factible. Dicha afirmación se sustenta en la evidencia obtenida durante la liberación de azúcares solubles, su consumo fermentativo y el rendimiento final de bioetanol, lo que permite aceptar la hipótesis general de la investigación.

Se comprobó que el pretratamiento ácido incrementa significativamente la cantidad de azúcares solubles en ambos residuos, cumpliendo con el primer objetivo específico. En la presente investigación se demuestra que la ruptura de las estructuras lignocelulósicas a través de la hidrólisis ácida permitió aumentar los °Brix, evidenciando la eficiencia del pretratamiento en ambos residuos a pesar de sus diferencias estructurales. Además, la información es consistente con lo reportado en bibliografía donde se describe cómo la hidrólisis ácida mejora la obtención de carbohidratos fermentables en matrices vegetales.

Se identificaron diferencias significativas en la variación de la concentración de azúcares solubles entre los dos tipos de sustrato evaluados posterior a su fermentación, confirmando la hipótesis específica 2. El ANOVA tipo III mostró que el factor “Tipo de sustrato” fue altamente significativo ($p < 0,0001$), lo que indica que la disminución de °Brix difiere entre las cáscaras de cacao y de plátano maduro. Este fenómeno es normal considerando que el cacao y plátano presentan diferente composición, ya que el plátano maduro presenta mayor disponibilidad de azúcares simples tras la hidrólisis, mientras que las cáscaras de cacao contienen más compuestos pécticos, taninos y polisacáridos complejos, que ralentizan la disponibilidad directa de monosacáridos.

Se cuantificó el rendimiento de bioetanol producido por kilogramo de residuo seco respondiendo al objetivo específico 3. Las cifras obtenidas de 18,03 ml EtOH/kg para plátano maduro y 15,73 ml EtOH/kg para cacao indican una conversión efectiva del sustrato en etanol. Este rendimiento diferencial refleja las particularidades composicionales de cada biomasa, tal como lo han señalado algunos estudios sobre fermentación de residuos agroindustriales.

Asimismo, se observó que una cantidad inicial elevada de grados Brix no se correlacionaron linealmente con mayores rendimientos, ya que en base a bibliografía se identificó que altas concentraciones de azúcar pueden inducir efectos osmóticos negativos sobre la levadura (Fernandes et al., 2020).

Finalmente, se pudo evidenciar que el conteo de levaduras influye en el rendimiento durante la producción de bioetanol pero no refleja una tendencia lineal ($p = 0,5060$), ya que se evidenció que la producción de etanol depende más del estado fisiológico de las células que de su cantidad absoluta.

5.3. Recomendaciones

Se recomienda evaluar la hidrólisis enzimática para el pre-tratamiento de residuos agroindustriales como siguiente paso, luego de confirmar en la presente investigación la efectividad de la hidrólisis ácida. Además, comparar ambas opciones o combinarlas podría generar una estrategia más eficiente para convertir cáscaras de cacao y plátano maduro en sustratos óptimos para la producción de bioetanol.

Se recomienda analizar el escalado piloto de la investigación y evaluar la viabilidad económica de la producción de bioetanol a partir de cáscaras de cacao y plátano maduro, con el fin de estimar costos reales de pretratamiento, insumos, energía y recuperación del etanol, así como analizar la viabilidad industrial bajo diferentes escenarios de operación.

Se recomienda evaluar la aplicabilidad de la metodología descrita en esta investigación en cáscaras de yuca, papa, maíz o incluso residuos mixtos como estrategia de valorización de residuos agrícolas para aumentar la circularidad de los sistemas productivos. También sería útil, evaluar el uso de los residuos sólidos restantes como enmienda agrícola, insumo para compostaje o fuente de energía.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulla, R., Johnny, Q., Jawan, R., & Sani, S. A. (2022). Agrowastes of banana peels as an eco-friendly feedstock for the production of biofuels using immobilized yeast cells. *IOP Conference Series Earth And Environmental Science*, 1103(1), 012022. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1103/1/012022>

Alonso-Gómez, L. A., Bello-Pérez, L. A., Alonso-Gómez, L. A., & Bello-Pérez, L. A. (2018, 7 abril). Materias primas usadas para la producción de etanol de cuatro generaciones: retos y oportunidades. Scielo. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000700967&lng=es&tlng=es

Alvarez, D. K. T., Zambrano, J. P. U., & Mera, M. B. S. (2023). Gestión ecoeficiente de residuos sólidos domiciliarios para el desarrollo sostenible del cantón Quevedo. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(6), 286-302. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i6.878>

Avila, J. M. S., Noboa, J. W. D., Rivera, F. R. P., & Quezada, J. P. S. (2020). Estimación del potencial de producción de bioetanol para los residuos de la corteza del cacao en Ecuador. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1-20. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1429

Basri, M. S. M., Shah, N. N. A. K., Sulaiman, A., Tawakkal, I. S. M. A., Nor, M. Z. M., Ariffin, S. H., Ghani, N. H. A., & Salleh, F. S. M. (2021). Progress in the Valorization of Fruit and Vegetable Wastes: Active Packaging, Biocomposites,

By-Products, and Innovative Technologies Used for Bioactive Compound Extraction. *Polymers*, 13(20), 3503. <https://doi.org/10.3390/polym13203503>

Bishnoi, S., Sharma, S., & Agrawal, H. (2023). Exploration of the Potential Application of Banana Peel for Its Effective Valorization: A Review. *Indian Journal Of Microbiology*, 63(4), 398-409. <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01100-w>

Bitew, D., Tesfaye, A., & Andualem, B. (2023). Isolation, screening and identification of ethanol producing yeasts from Ethiopian fermented beverages. *Biotechnology Reports*, 40, e00815. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00815>

Bonassa, G., Schneider, L. T., Cremonez, P. A., De Jesus de Oliveira, C., Teleken, J. G., & Frigo, E. P. (2015). Optimization of first generation alcoholic fermentation process with *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta Scientiarum. Technology*, 37(3), 313. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v37i3.25794>

Brown, J., Lindstrom, J. K., Ghosh, A., Rollag, S. A., & Brown, R. C. (2024). Production of sugars from lignocellulosic biomass via biochemical and thermochemical routes. *Frontiers In Energy Research*, 12. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2024.1347373>

Bušić, A., Marđetko, N., Kundas, S., Morzak, G., Belskaya, H., Šantek, M. I., Komes, D., Novak, S., & Šantek, B. (2018). Bioethanol Production from Renewable Raw Materials and its Separation and Purification: a Review. *Food*

Technology And Biotechnology, 56(3).
<https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5546>

Calle-Loyola, J. E., & Solís-Muñoz, J. (2021). Estudio del manejo de desechos sólidos e impacto en la población de La Troncal, Ecuador. *Revista Interdisciplinaria de Humanidades, Educación, Ciencia y Tecnología*, VII(3), 1082-1110. <https://doi.org/10.35381/cm.v7i3.652>

Carvajal, N. (2023). Estudio de las aplicaciones de los residuos agroindustriales de origen vegetal en la industria alimentaria [Trabajo de titulación modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Química de Alimentos, Universidad Central del Ecuador]. <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/648bf645-dcbc-48bb-858c-8893a77c5e4c/content>

Chávez, A. O., & Galárraga, J. V. (2020). ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS y SUS USOS, UNA REVISIÓN. *infoANALÍTICA*, 134-148. <https://doi.org/10.26807/ia.vi.174>

Chávez, M. A. M., Zambrano, P. D. R., Molina, J. M. G., & Mendoza, C. I. Á. (2025). Renewable Energy from Cocoa Waste Biomass in Ecuador's Coastal Region: Advancing Sustainable Supply Chains. *Sustainability*, 17(13), 5827. <https://doi.org/10.3390/su17135827>

Chen, J., Ma, X., Liang, M., Guo, Z., Cai, Y., Zhu, C., Wang, Z., Wang, S., Xu, J., & Ying, H. (2024). Physical–Chemical–Biological Pretreatment for Biomass Degradation and Industrial Applications: A Review. *Waste*, 2(4), 451-473. <https://doi.org/10.3390/waste2040024>

Cordis, C. (2025, 29 mayo). Los biofertilizantes circulares favorecen la agricultura, la economía rural y el medio ambiente. CORDIS | European Commission. <https://cordis.europa.eu/article/id/458278-circular-bio-based-fertilisers-support-agriculture-rural-economies-and-the-environment/es?utm>

Cuervo, O. H. P., Rosas, C. A., & Romanelli, G. P. (2024). Valorization of residual lignocellulosic biomass in South America: a review. *Environmental Science And Pollution Research*, 31(32), 44575-44607. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33968-6>

D'Adamo, I., & Settembre-Blundo, D. (2024). Editorial: What is a waste? A potential resource to favor a sustainable transition. Evidence from the practice. *Frontiers In Sustainability*, 5. <https://doi.org/10.3389/frsus.2024.1417256>

Dagle, R. A., Winkelman, A. D., Ramasamy, K. K., Dagle, V. L., & Weber, R. S. (2020). Ethanol as a Renewable Building Block for Fuels and Chemicals. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59(11), 4843-4853. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b05729>

De Dieu Marcel Ufitikirezi, J., Filip, M., Ghorbani, M., Zoubek, T., Olšan, P., Bumbálek, R., Strob, M., Bartoš, P., Umurungi, S. N., Murindangabo, Y. T., Heřmánek, A., Tupý, O., Havelka, Z., Stehlík, R., Černý, P., & Smutný, L. (2024). Agricultural Waste Valorization: Exploring Environmentally Friendly Approaches to Bioenergy Conversion. *Sustainability*, 16(9), 3617. <https://doi.org/10.3390/su16093617>

De Oliveira Silva, S., Mafra, A. K. C., Pelissari, F. M., De Lemos, L. R., & Molina, G. (2025). Biotechnology in Agro-Industry: Valorization of Agricultural Wastes, By-Products and Sustainable Practices. *Microorganisms*, 13(8), 1789. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081789>

Delgado, M. K., Shofer, F., Wetherill, R., Curtis, B, Hemmons, J., Spencer, E., Branas, C., Wiebe, D. J., & Kranzler, H. R. (2021). Accuracy of Consumer-marketed smartphone-paired alcohol breath testing devices: A laboratory validation study. *Alcoholism Clinical And Experimental Research*, 45(5), 1091-1099. <https://doi.org/10.1111/acer.14597>

Díaz, S. P., Estrada, M. S. S., Rusinque, M. C., Tapias, D. F. R., & Bonilla, G. A. E. (2024). Guía de compostaje para agricultores. En Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria eBooks. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.nbook.7407808>

El-Araby, R. (2024). Biofuel production: exploring renewable energy solutions for a greener future. *Biotechnology For Biofuels And Bioproducts*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-024-02571-9>

Fernandes, A. M. O., Garcia, N. F. L., Fonseca, G. G., Leite, R. S. R., & Da Paz, M. F. (2020). Evaluation of the Fermentative Capacity of *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 and BB9 Strains and *Pichia kudriavzevii* BB2 at Simulated Industrial Conditions. *Indian Journal Of Microbiology*, 60(4), 494-504. <https://doi.org/10.1007/s12088-020-00891-6>

Ghazali, M. F. S. M., & Mustafa, M. (2025). Bioethanol as an alternative fuels: A review on production strategies and technique for analysis. *Energy Conversion And Management* X, 100933. <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2025.100933>

Giwa, A. S., Sheng, M., Maurice, N. J., Liu, X., Wang, Z., Fengmin, C., Huang, B., & Wang, K. (2023). Biofuel Recovery from Plantain and Banana Plant Wastes: Integration of Biochemical and Thermochemical Approach. *Journal Of Renewable Materials*, 11(6), 2593-2629. <https://doi.org/10.32604/jrm.2023.026314>

Graefe, S., Dufour, D., Giraldo, A., Muñoz, L. A., Mora, P., Solís, H., Garcés, H., & Gonzalez, A. (2011). Energy and carbon footprints of ethanol production using banana and cooking banana discard: A case study from Costa Rica and

Ecuador. Biomass And Bioenergy, 35(7), 2640-2649.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.02.051>

Guerrero, A. B., Aguado, P. L., Sánchez, J., & Curt, M. D. (2015). GIS-Based Assessment of Banana Residual Biomass Potential for Ethanol Production and Power Generation: A Case Study. Waste And Biomass Valorization, 7(2), 405-417. <https://doi.org/10.1007/s12649-015-9455-3>

Gupta, A., & Verma, J. P. (2014). Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. Renewable And Sustainable Energy Reviews, 41, 550-567. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.032>

Hugo, R. M. V. (2025). Impacto de las políticas de gestión de residuos sólidos en la salud pública en Ecuador. *ve.scielo.org*. <https://doi.org/10.61286/e-rms.v3i.165>

Igwebuike, C. M., Awad, S., & Andrès, Y. (2024). Renewable Energy Potential: Second-Generation Biomass as Feedstock for Bioethanol Production. Molecules, 29(7), 1619. <https://doi.org/10.3390/molecules29071619>

IIGE. (2023). IIGE identifica y muestrea biomasa residual de los cultivos mayoritarios del Ecuador para fines energéticos – Instituto de Investigación Geológico y Energético. <https://www.geoenergia.gob.ec/iige-identifica-y-muestrea-biomasa-residual-de-los-cultivos-mayoritarios-del-ecuador-para-fines-energeticos/?utm>

Islam, M. M., & Nafees, A. (2025). Transforming Biomass into Sustainable Biohydrogen: An In-Depth Analysis. RSC Sustainability. <https://doi.org/10.1039/d4su00705k>

Jain, S., & Kumar, S. (2024). A comprehensive review of bioethanol production from diverse feedstocks: Current advancements and economic perspectives. Energy, 296, 131130. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2024.131130>

Jaywant, S. A., Singh, H., & Arif, K. M. (2022). Sensors and Instruments for Brix Measurement: A Review. Sensors, 22(6), 2290. <https://doi.org/10.3390/s22062290>

Khan, R., Anwar, F., Ghazali, F. M., & Mahyudin, N. A. (2024). Valorization of waste: Innovative techniques for extracting bioactive compounds from fruit and vegetable peels - A comprehensive review. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 103828. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103828>

Ledakowicz, S. (2025). Biochemical Processes of Lignocellulosic Biomass Conversion. Energies, 18(13), 3353. <https://doi.org/10.3390/en18133353>

Lesmana, D., Vianney, Y. M., Goenawan, Y. A., Natalie, K., Sukweenadhi, J., Buschle-Diller, G., Mukti, Y. P., Erawati, C. M., & Purwanto, M. G. M. (2021). Valorization of Peel-Based Agro-Waste Flour for Food Products: A Systematic Review on Proximate Composition and Functional Properties. ACS Food

Science & Technology, 2(1), 3-20.
<https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00353>

Lima-Costa, M. E., Tavares, C., Raposo, S., Rodrigues, B., & Peinado, J. M. (2012). Kinetics of sugars consumption and ethanol inhibition in carob pulp fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* in batch and fed-batch cultures. *Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 39(5), 789-797.
<https://doi.org/10.1007/s10295-011-1079-4>

López-Balladares, O. H., De la Lama-Calvente, D., Flores-Flor, F. J., & Borja, R. (2025a). Batch mesophilic anaerobic digestion of mixtures of lignocellulosic biomasses from Ecuador: influence of inoculum type and thermal pretreatment on methane production and process kinetics. *Biomass Conversion And Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-025-06818-9>

López-Balladares, O. H., De la Lama-Calvente, D., Flores-Flor, F. J., & Borja, R. (2025b). Valorization of Lignocellulosic Biomass Through Anaerobic Digestion after the Cultivation of the Edible Mushroom *Lentinula Edodes* and Enzymatic Pretreatment. *Waste And Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-025-03218-y>

Mahapatra, S., Kumar, D., Singh, B., & Sachan, P. K. (2021). Biofuels and their sources of production: A review on cleaner sustainable alternative against conventional fuel, in the framework of the food and energy nexus. *Energy Nexus*, 4, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2021.100036>

Malik, K., Capareda, S. C., Kamboj, B. R., Malik, S., Singh, K., Arya, S., & Bishnoi, D. K. (2024). Biofuels Production: A Review on Sustainable Alternatives to Traditional Fuels and Energy Sources. *Fuels*, 5(2), 157-175. <https://doi.org/10.3390/fuels5020010>

Martínez-Ángel, J. D., Villamizar-Gallardo, R. A., & Ortiz-Rodríguez, O. O. (2015). Characterization and evaluation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk as a renewable energy source. *Scielo*, 49(3). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952015000300008&script=sci_arttext

Méndez-Durazno, C., Ramírez, V., Carrillo, N. M. R., Enríquez, M. F. F., Rhea, C. M. V., & C, R. A. N. (2025). Comprehensive characterization of Ecuadorian lignocellulosic biomass in terms of their candidacy for bioenergy purposes. *Clean Energy*. <https://doi.org/10.1093/ce/zkaf008>

Mendoza, A. M. M., Parra, J. C. P., & Puentes, J. C. T. (2022). Pasado, presente y perspectiva del bioetanol en Ecuador. *Ciencia Unemi*, 15(40), 38-51. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol15iss40.2022pp38-51p>

Meza-Sepulveda, D. C., Hernandez-Urrea, C., & Quintero-Saavedra, J. I. (2024). Physicochemical characterization of the pod husk of *Theobroma cacao* L. of clones CCN51, FEAR5, and FSV41 and its agroindustrial application. *Heliyon*, 10(7), e28761. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28761>

Milne, A. (2022). An Alternative to the Flame Test: Using Inexpensive Tesla Coils to Produce the Emission Spectra of Metal Salts. *Journal Of Chemical Education*, 99(7), 2766-2771. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.2c00273>

Morales, S. H. S., Moreno, J. A. J., Contieri, L. S., Rostagno, M. A., & Forster-Carneiro, T. (2025). Cocoa waste valorization: a review and sustainability analysis of green technologies. *Biofuels Bioproducts And Biorefining*. <https://doi.org/10.1002/bbb.70029>

Moreno, K., Freire, G., Caisa, D., & Moreno, A. (2021). Cadena de suministros verde: Análisis estratégico de la gestión de residuos sólidos en Pelileo-Ecuador. <https://www.redalyc.org/journal/280/28068276038/html/>

Morezuelas, P. M. (2014). Gender and Renewable Energy: Wind, Solar, Geothermal and Hydroelectric Energy. <https://doi.org/10.18235/0003068>

Morocho, O. A. G., Guartatanga, Y. E. R., Fernández, M. I. P., & Torres, D. M. S. M. (2025). Efectos de los sistemas de compostaje en las propiedades fisicoquímicas de compost de desechos agrícolas. *SAPIENS SCIENTIFIC JOURNAL*, 2(2), 1-21. <https://doi.org/10.71068/wkxzwn22>

Mukherjee, M., Roy, S., Bhowmick, K., Majumdar, S., Prihatiningtyas, I, Van Der Bruggen, B., & Mondal, P. (2022). Development of high performance pervaporation desalination membranes: A brief review. *Process Safety And*

Environmental Protection, 159, 1092-1104.
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.01.076>

Murillo, S. E. P., Celi, J. A. O., Córdova, F. J. T., & Nevárez, E. M. Z. (2025). Subsidios de combustibles en Ecuador: Análisis bibliográfico de su costo y sostenibilidad. *Revista Iberoamericana de la Educación*, 9(1), 55-72.
<https://doi.org/10.31876/rie.v9i1.288>

Nunes, C. S. O., Da Silva, M. L. C., Camilloto, G. P., Machado, B. A. S., Hodel, K. V. S., Koblitz, M. G. B., Carvalho, G. B. M., & Uetanabaro, A. P. T. (2020). Potential Applicability of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L) as an Adjunct for Beer Production. *The Scientific World JOURNAL*, 2020, 1-14.
<https://doi.org/10.1155/2020/3192585>

OLADE. (2025, 28 febrero). Febrero 2025 Biocombustibles en América Latina y el Caribe: Claves para la descarbonización del Transporte - OLADE.
<https://www.olade.org/editoriales/febrero-2025biocombustibles-en-america-latina-y-el-caribe-claves-para-la-descarbonizacion-del-transporte>

Orejuela-Escobar, L. M., Landázuri, A. C., & Goodell, B. (2021). Second generation biorefining in Ecuador: Circular bioeconomy, zero waste technology, environment and sustainable development: The nexus. *Journal Of Bioresources And Bioproducts*, 6(2), 83-107.
<https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.01.004>

Parapouli, M., Vasileiadi, A., Afendra, A., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(1), 1-32. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001>

Patra, A., Abdullah, S., & Pradhan, R. C. (2022). Review on the extraction of bioactive compounds and characterization of fruit industry by-products. *Bioresources And Bioprocessing*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00498-3>

Peña, S., Ochoa, J. A. O., Torres, F. J. T., & Zambrano, E. M. Z. (2025). Subsidios de combustibles en Ecuador: Análisis bibliográfico de su costo y sostenibilidad. *Revista Iberoamericana de la Educación*, 9(1), 55-72. <https://doi.org/10.31876/rie.v9i1.288>

Pendse, D. S., Deshmukh, M., & Pande, A. (2023). Different pre-treatments and kinetic models for bioethanol production from lignocellulosic biomass: A review. *Heliyon*, 9(6), e16604. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16604>

Pérez, M., & Asheh, S. A. (2024). Valorization of Agro-Industrial waste through Solid-State Fermentation: Mini Review. *Biotechnology Reports*, 45, e00873. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00873>

Pfeiffer, T., & Morley, A. (2014). An evolutionary perspective on the Crabtree effect. *Frontiers In Molecular Biosciences*, 1. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2014.00017>

Phillips, K. M., McGinty, R. C., Couture, G., Pehrsson, P. R., McKillop, K., & Fukagawa, N. K. (2021). Dietary fiber, starch, and sugars in bananas at different stages of ripeness in the retail market. *PLoS ONE*, 16(7), e0253366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253366>

Posso, F. (2015). ENERGÍA y AMBIENTE: PASADO, PRESENTE y FUTURO. PARTE DOS: SISTEMA ENERGÉTICO BASADO EN ENERGÍAS ALTERNATIVAS. *GEOENSEÑANZA*, 7-2002(1), 54-73. <https://www.redalyc.org/pdf/360/36070206.pdf>

Prado-Acebo, I., Cubero-Cardoso, J., Lu-Chau, T. A., & Eibes, G. (2024). Integral multi-valorization of agro-industrial wastes: A review. *Waste Management*, 183, 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2024.05.001>

Prakobdi, C., & Saetear, P. (2023). Iodoform Reaction-Based Turbidimetry for Analysis of Alcohols in Hand Sanitizers. *Analytica—A Journal Of Analytical Chemistry And Chemical Analysis*, 4(2), 239-249. <https://doi.org/10.3390/analytica4020019>

Quan, C., Li, H. M., Huang, T., Zhang, W., Ding, Z. T., & Shen, Y. X. (2012). High-precision analysis of ethanol in bioethanol by gas chromatography with flame ionization detector. *Accreditation And Quality Assurance*, 17(5), 535-541. <https://doi.org/10.1007/s00769-012-0922-2>

Ramírez, V. [IIGE]. (2022). Estudio de la viabilidad técnica de producción de Bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos de los cultivos mayoritarios en Ecuador- fondos AECID – Instituto de Investigación Geológico y Energético. Instituto de Investigación Geológico y Energético. <https://www.geoenergia.gob.ec/estudio-de-la-viabilidad-tecnica-de-produccion-de-bioetanol-a-partir-de-residuos-lignocelulosicos-de-los-cultivos-mayoritarios-en-ecuador-fondos-aecid>

Ramos, L. H., Cisneros-Yupanqui, M., Soto, D. V. S., Lante, A., Favaro, L., Casella, S., & Basaglia, M. (2023). Exploitation of Cocoa Pod Residues for the Production of Antioxidants, Polyhydroxyalkanoates, and Ethanol. *Fermentation*, 9(9), 843. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090843>

Randriamanantsoa, A. L., Randriamampianina, L. J., Randrianarivo, H., Rakoto, D. A., Petit, T., & Jeannoda, V. L. (2020). *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. *World Journal Of Biology Pharmacy And Health Sciences*. <https://doi.org/10.30574/wjbphs>

Ranjan, A., Welz, P. J., & Mthethwa, T. (2023). Investigation of an effective acid pre-treatment method for the valorisation of Canola fines. *Biomass Conversion And Biorefinery*, 14(11), 12013-12026. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-03946-y>

Redondo-Gómez, C., Quesada, M. R., Astúa, S. V., Zamora, J. P. M., Lopretti, M., & Vega-Baudrit, J. R. (2020). *Biorefinery of Biomass of Agro-Industrial*

Banana Waste to Obtain High-Value Biopolymers. *Molecules*, 25(17), 3829.
<https://doi.org/10.3390/molecules25173829>

Rhithuparna, R., Ghosh, N., Rokhum, S. L., & Halder, G. (2024). Current progress and future outlooks of microwave-irradiated biodiesel production: A holistic review. *Chemical Engineering Journal*, 482, 149033.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.149033>

Ricaurte, M., Luna, S., Mosquera, S., Sarma, J., Zenteno, J., & Viloria, A. (2019). Diseño de una planta para la producción de etanol a partir de la caña de azúcar: aplicación en la zona norte de Ecuador. *Bionatura*, 2(1).
<https://doi.org/10.21931/rb>

Roy, P., Mohanty, A. K., Dick, P., & Misra, M. (2023). A Review on the Challenges and Choices for Food Waste Valorization: Environmental and Economic Impacts. *ACS Environmental Au*, 3(2), 58-75.
<https://doi.org/10.1021/acsenvironau.2c00050>

Ruchala, J., Kurylenko, O. O., Dmytruk, K. V., & Sibirny, A. A. (2019). Construction of advanced producers of first- and second-generation ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* and selected species of non-conventional yeasts (*Scheffersomyces stipitis*, *Ogataea polymorpha*). *Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 47(1), 109-132. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02242-x>

Rosillo, M. M., Rosillo, W. V., & Peña, L. A. (2025). Las importaciones de combustible diésel en el crecimiento económico del Ecuador (2004 – 2024). *ESPACIOS*, 46(02), 232-243. <https://doi.org/10.48082/espacios-a25v46n02p18>

Şahin, S., & Kurtulbaş, E. (2024). Green Extraction and Valorization of By-Products from Food Processing. *Foods*, 13(10), 1589. <https://doi.org/10.3390/foods13101589>

Saini, R. K., Khan, M. I., Kumar, V., Shang, X., Lee, J., & Ko, E. (2025). Bioactive Compounds of Agro-Industrial By-Products: Current Trends, Recovery, and Possible Utilization. *Antioxidants*, 14(6), 650. <https://doi.org/10.3390/antiox14060650>

Salcedo-Puerto, O., Mendoza-Martinez, C., & Vakkilainen, E. (2024). Solid residues from cocoa production chain: Assessment of thermochemical valorization routes. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 208, 115048. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.115048>

Sánchez, M., Ferreira-Santos, P., Gomes-Dias, J. S., Laca, A., & Rocha, C. M. R. (2024). Cascading Recovery of Added-Value Cocoa Bean Shell Fractions Through Autohydrolysis Treatments. *Food And Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03500-2>

Sarlat, R. I. (2018). El impulso de las energías renovables en la lucha contra el cambio climático a través de los certificados ambientales en el sector eléctrico mexicano. *Boletín Mexicano de Derecho Comparado*, 1(152). <https://doi.org/10.22201/ij.24484873e.2018.152.12918>

Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., Tomas, S., Komlenić, D. K., & Bucić-Kojić, A. (2021). A Comprehensive Review on Valorization of Agro-Food Industrial Residues by Solid-State Fermentation. *Foods*, 10(5), 927. <https://doi.org/10.3390/foods10050927>

Sica, P., Tonoli, F., Silverio, M. S., Douradinho, R., Mota, L. A., Prado, L., Leite, G. M. G. L., Carvalho, R. S., Pinto, A. U., & Baptista, A. S. (2024). Pre-adaptation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains to very high gravity can improve fermentation parameters and reduce osmotic stress. *Biomass Conversion And Biorefinery*, 15(6), 9123-9137. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05746-4>

Singh, A., Dikshit, R., & Singh, N. (2023). Valorization of Agro-Industrial Wastes for Biorefinery Products. En *Environmental science and engineering* (pp. 101-123). https://doi.org/10.1007/978-3-031-46858-2_6

Singh, R., Das, R., Sangwan, S., Rohatgi, B., Khanam, R., Peera, S. K. P. G., Das, S., Lyngdoh, Y. A., Langyan, S., Shukla, A., Shrivastava, M., & Misra, S. (2021). Utilisation of agro-industrial waste for sustainable green production: a

review. Environmental Sustainability, 4(4), 619-636.
<https://doi.org/10.1007/s42398-021-00200-x>

Soares, T. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2022). Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects. *Molecules*, 27(5), 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>

Sofokleous, M., Christofi, A., Malamis, D., Mai, S., & Barampouti, E. (2022). Bioethanol and biogas production: an alternative valorisation pathway for green waste. *Chemosphere*, 296, 133970.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133970>

Solano-Apunes, A., Ponce-Saltos, W., & Zambrano-Gavilanes, F. (2022). BIODIGESTION ANAEROBICA DE RESIDUOS DE MUSACEAS: CASO ECUADOR. *Biotempo*, 19(1), 51-63.
<https://doi.org/10.31381/biotempo.v19i1.4803>

Streule, S., Leischtfeld, S. F., Galler, M., Motzer, D., Poulouse-Züst, M., & Schwenninger, S. M. (2023). Variations in Ecuadorian Cocoa Fermentation and Drying at Two Locations: Implications for Quality and Sensory. *Foods*, 13(1), 137. <https://doi.org/10.3390/foods13010137>

Sukma, W., Boonyakong, C., Chaiphet, T., & Chamni, S. (2023). A simple and rapid colorimetric detection of methanol, ethanol, and isopropanol and its application toward alcohol-based hand sanitizer quality control. *Green*

<https://doi.org/10.1080/17518253.2023.2298982>

Syazwanee, M., Mustafa, M., & Izzati, N. (2021). A simple method for the determination of bioethanol from lignocellulosic materials using gas chromatography-flame ionisation detector (GC-FID). *Malaysian Journal Of Microbiology*. <https://doi.org/10.21161/mjm.211204>

Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J., & Steinbach, D. (2020). Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica: formación de azúcares y furfurales. *Catalysts*, 10(4), 437. <https://www.mdpi.com/2073-4344/10/4/437>

Tantipanathip, W., & Eiamsa-Ard, P. (2022). การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยเชื้อ *Pichia stipitis*. <https://ph03.tci-thaijo.org/index.php/pitjournal/article/view/976>

Tirado-Kulieva, V., Quijano-Jara, C., Avila-George, H., & Castro, W. (2024). Predicting the evolution of pH and total soluble solids during coffee fermentation using near-infrared spectroscopy coupled with chemometrics. *Current Research In Food Science*, 9, 100788. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100788>

Tovar, M., Lucero, J., & Baron, J. (2022). Análisis de emisiones y funcionamiento de mezclas de bioetanol en un motor de combustión interna

encendido por chispa 1.6 L. Sociedad Mexicana de Ingeniería Mecánica, 19.
https://somim.org.mx/memorias/memorias2022/articulos/A8_93.pdf

Vielma-Puente, J. E., Zamora, T. Z., Romero, L. L. G., Monsalve, M. M., Villalobos, J. V., Mendoza, V. A. C., Coyago, F. C. C., Cortez, D. B., Morán, L. V., & Lozano, R. F. E. (2025). Obtención de bioetanol a partir de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao*) usando *Trichoderma reesei* y *Trichoderma ghanense* para la hidrólisis enzimática. *La Granja*.
<https://doi.org/10.17163/lgr.n42.2025.10>

Villamizar, Y., Rodríguez, J., & León, L. (2021). Vista de caracterización fisicoquímica, microbiológica y funcional de harina de cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51. *Cuaderno Activa*, 9, 65-75.
<https://doi.org/10.53995/20278101.421>

Walker, G., & Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), 30.
<https://doi.org/10.3390/beverages2040030>

Yasin, M., Gangan, S., & Panchal, S. K. (2025). Banana Peels: A Genuine Waste or a Wonderful Opportunity? *Applied Sciences*, 15(6), 3195.
<https://doi.org/10.3390/app15063195>

Yin, J., Wang, J., Zhao, L., Cui, Z., Yao, S., Li, G., & Yuan, J. (2025). Compost tea: Preparation, utilization mechanisms, and agricultural applications potential

– A comprehensive review. *Environmental Technology & Innovation*, 104137.
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2025.104137>

Yineth, P. C. (2014). Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica, algunas experiencias de investigación en Colombia. Editorial Tadeo Lozano.
<https://doi.org/10.2307/j.ctv2rcnqc5>

Zambrano, D. E. M. (2024). Evaluación económica de la obtención de bioetanol a partir de desechos orgánicos mediante la simulación del proceso. *Arandu-UTIC.*, 11(1), 468-489. <https://doi.org/10.69639/arandu.v11i1.232>

Zou, F., Tan, C., Zhang, B., Wu, W., & Shang, N. (2022). The Valorization of Banana By-Products: Nutritional Composition, Bioactivities, Applications, and Future Development. *Foods*, 11(20), 3170.
<https://doi.org/10.3390/foods11203170>

Zueva, S., Ferella, F., Corradini, V., & Vegliò, F. (2024). Review of Organic Waste-to-Energy (OWtE) Technologies as a Part of a Sustainable Circular Economy. *Energies*, 17(15), 3797. <https://doi.org/10.3390/en17153797>

Zura, M. P. V., Crespo-Berti, L. A., & Arboleda, J. I. C. (2021). Biocombustibles, una alternativa ecológica para el desarrollo sostenible en el Ecuador provincia de Imbabura. *Dilemas Contemporáneos Educación Política y Valores*.
<https://doi.org/10.46377/dilemas.v8i.2719>