



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
Facultad de Ingeniería Química

Trabajo de Diploma

**DISEÑO TECNOLÓGICO INDUSTRIAL DE UN BIOPLAGUICIDA SÓLIDO A PARTIR
DE LA BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS***

Para optar al título de Ingeniero Química

Elaborado por

Br. Axel José Alfaro Cerpas

Br. José Carlos Rodríguez Salinas

Tutor

MSc. Johana Lisseth O'Connor Mendoza

Managua, Nicaragua
Mayo 2023

RESUMEN

En los últimos años se ha visto un interés creciente en alternativas para combatir plagas que afectan los cultivos que sean más amigables con la tierra y las plantas directamente. Una de las opciones más viables en este campo es el uso de bacterias como bioplaguicidas, puesto que estas atacan directamente al patógeno objetivo sin afectar sus alrededores ni otros seres vivos. Los bioplaguicidas son agentes de control biológico que utilizan microorganismos antagonistas para inhibir el crecimiento o la actividad de los fitopatógenos.

Este documento presenta el diseño de un proceso para la producción de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis* a nivel industrial. Para tal propósito, se hizo una prueba a nivel de laboratorio y luego se aplicó el principio de similaridad para el crecimiento de biomasa para su escalamiento y diseño. De aquí, se planteó una producción de 120 kg de bioplaguicida al día a partir de 1000 L de cultivo fermentado.

A nivel de laboratorio, se alimentó con agar nutritivo una muestra de *Bacillus subtilis*, la cual se dejó crecer durante un período de 24 horas. Seguidamente, fue medida la absorbancia de la muestra para constatar el crecimiento de la misma para luego ser llevada a centrifugación y posteriormente decantación y secado para el aislamiento de la bacteria.

Se dimensionaron también los equipos para el funcionamiento del proceso y finalmente, se realizó el cálculo de los costos de instalación de la línea de producción, incluyendo equipos, y demás gastos. El costo de inversión ascendió a **U\$ 695,001.31** y el costo de inversión anual fue de **U\$ 144,185.67**.

La bacteria *Bacillus subtilis* es una especie grampositiva que produce metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, como la iturina A, que tiene un efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp., uno de los hongos fitopatógenos más comunes en los cultivos. Para obtener el bioplaguicida sólido, se debe realizar un proceso de fermentación en un biorreactor, seguido de una separación por centrifugación y un secado directo del producto. Luego se debe mezclar el bioplaguicida con otros componentes como arcilla o talco para mejorar su estabilidad y adherencia. Finalmente se debe empaquetar el producto en bolsas o envases adecuados para su distribución y uso.

Los equipos que se seleccionaron para este proceso fueron: centrífuga de discos, que permite separar el bioplaguicida del caldo fermentado por diferencia de densidad; biorreactor, que proporciona las condiciones óptimas para el crecimiento y la producción de metabolitos por parte de la bacteria; secador directo, que elimina la humedad del bioplaguicida mediante aire caliente; mezclador sólido-sólido, que homogeneiza el bioplaguicida con los aditivos; y empaquetadora, que dosifica y sella el producto final.

Opinión del tutor

El presente trabajo monográfico denominado: **DISEÑO TECNOLÓGICO INDUSTRIAL DE UN BIOPLAGUICIDA SÓLIDO A PARTIR DE LA BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS***, realizado en la Universidad Nacional de Ingeniería, ha sido desarrollado por los bachilleres Axel José Alfaro Cerpas y José Carlos Rodríguez Salinas. Quienes lograron identificar una oportunidad para desarrollar y proponer la producción masiva de un bioplaguicida en polvo, dando versatilidad, mayor vida útil y mejor manejo a este tipo de productos, adicionalmente aportará a la seguridad de las personas, las plantas y los suelos donde se aplique, viniendo a sustituir a su homólogo sintético.

Con los resultados obtenidos en este estudio, los graduados aportan a la política de investigación, innovación y tecnologías productivas de Nicaragua 2022-2023, que orienta la generación de tecnologías y prácticas agropecuarias en el mejoramiento, manejo sostenible de cultivos, nutrición vegetal, insumos biológicos, postcosecha y agro alimentos. Que aporten al incremento de la productividad, la agregación de valor y la transformación de la producción agropecuaria y la adaptación de la agricultura a la variabilidad climática.

En cada etapa de esta propuesta, los graduados, pudieron demostrar los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera de Ingeniería Química, aplicaron lo aprendido en materias como: diseño de procesos, diseño de equipos, fundamento de los procesos biológicos, balance de materiales, diseño de planta, entre otras, demostrando su capacidad de poner este conocimiento al servicio del desarrollo sostenible del país.

Por lo antes expuesto, el presente Trabajo de Diploma, reúne los requisitos para ser sometido ante el correspondiente Tribunal Examinador, a quienes se les solicita valorar de manera positiva la contribución de los autores de manera pertinente, técnico-práctico y resolutivo a problemas reales que enfrentan la industria y sociedad nicaragüense.

MSc. Johana Lisseth O'Connor Mendoza

Tutor del Trabajo de Diploma

Managua, mayo 2023

CONTENIDO

CONTENIDO.....	4
1. INTRODUCCIÓN	7
2. JUSTIFICACIÓN.....	Error! Bookmark not defined.
3. OBJETIVOS.....	9
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
4. MARCO TEÓRICO	10
4.1. BIOPLAGUICIDA	10
4.1.1. Definición de bioplaguicida.....	10
4.1.2. Clasificación de bioplaguicidas.....	10
4.1.3. <i>Bacillus subtilis</i>	11
4.1.4. Bioplaguicida a base de <i>Bacillus subtilis</i>	11
4.1.5. Bioplaguicidas sólidos	12
4.2. CRECIMIENTO MICROBIANO.....	12
4.2.1. Medición del crecimiento microbiano.....	14
4.2.2. Cinética de crecimiento microbiano.....	14
4.2.3. Fases del crecimiento microbiano	14
4.3. FORMULACIÓN	16
4.3.1. Formulación en polvo	16
4.3.2. Concentración de la Biomasa.....	17
4.3.3. Secado	18
4.4. ESCALAMIENTO	20
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	21
5.1. LOCALIZACIÓN.....	21
5.1.1. Macro localización	21
5.1.2. Micro Localización	21
5.2. PREPARACIÓN DEL PROTOTIPO DEL BIOPLAGUICIDA A ESCALA LABORATORIO.....	22
5.2.1. Preparación del preinoculo de bacteria	22
5.2.2. Tinción de Gram	24
5.2.3. Propagación de la bacteria y medición de la turbidimetría	25

5.3. BALANCE DE MATERIA	27
5.3.1. Balance de la fermentación	27
5.3.2. Balance de la centrifugación.....	27
5.3.3. Balance de secado	27
5.3.4. Balance de mezclado	28
6. EVALUACIÓN DE PROCESOS Y SELECCIÓN DE EQUIPOS.....	29
6.1. SELECCIÓN DE EQUIPOS.....	29
6.1.1. Fermentación.....	29
6.1.2. Centrifugación	29
6.1.3. Secado	29
6.1.4. Mezclado	30
6.1.5. Embalado	30
6.2. ETAPAS DEL PROCESO.....	30
6.2.1. DIAGRAMA DEL PROCESO.....	30
6.2.2. ETAPAS DEL PROCESO.....	30
6.3. DISEÑO DE EQUIPOS	31
6.3.1. Biorreactor	31
6.3.2. Separador centrífugo.....	33
6.3.3. Secador	33
6.3.4. Mezclado	34
6.3.5. Embalado	35
7. RESULTADOS.....	37
7.1. BALANCE DE MATERIA	37
7.2. COSTOS.....	37
7.2.1. Costos de inversión fija.....	37
7.2.2. Costos de producción	39
7.3. SELECCIÓN DE EQUIPOS.....	46
7.3.1. Tanques de almacenamiento de agua	46
7.3.2. Biorreactor de mezcla.....	46
7.3.3. Bombas sanitarias para proceso	47
7.3.4. Centrífuga de discos.....	49
7.3.5. Secador directo	50

7.3.6. Mezclador Sólido – Sólido	51
7.3.7. Empaquetadora	52
7.4. EVALUACIÓN DE COSTOS	53
7.4.1. Costos de Inversión	53
7.4.2. Costo de producción.....	53
8. CONCLUSIONES	54
9. RECOMENDACIONES	55
10. BIBLIOGRAFÍA	56
ANEXOS	58

1. INTRODUCCIÓN

La producción agrícola ha aumentado gracias al crecimiento poblacional y a las exigencias actuales del mercado de consumo. Se estima que la población mundial será entre de 9,4 y 10 billones para el 2050 (ONU, 2022). Como respuesta a la creciente demanda de alimentos se ha venido usando frecuentemente fertilizantes y plaguicidas para aumentar la producción y protección. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos químicos ha tenido efectos secundarios que impactan negativamente el ambiente y la salud humana. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta de 2-5 millones año de casos de envenenamiento por plaguicidas en el mundo, de los cuales 200,000 casos terminan en muerte, y de estas muertes el 99% ocurre en las zonas rurales de países en desarrollo (De Schutter, 2017).

Los bioplaguicidas son eficaces en el control de plagas agrícolas, sin causar daños graves al ambiente o empeorar la contaminación del medio ambiente. La investigación y el desarrollo de su aplicación práctica en el campo se enfocan a mitigar la contaminación ambiental causada por residuos de plaguicidas químicos, aunque por su naturaleza biológica también promueven el desarrollo sustentable de la agricultura. El desarrollo de nuevos bioplaguicidas estimula la modernización de la agricultura y sin duda, va a reemplazar gradualmente a una cantidad de los plaguicidas químicos. En la producción agrícola, en ambientes libres de contaminación, los bioplaguicidas son sustitutos ideales para sus homólogos químicos tradicionales (Leng, 2011).

Se han realizado diversas investigaciones cuyo propósito es el desarrollo de tecnologías seguras y amigables con el medio ambiente en cuanto al combate contra las plagas usando *Bacillus subtilis* como agente anti patógeno. Algunos de estos estudios son los siguientes:

En Nicaragua, (Ayestas & Talavera, 2018) desarrollaron en la UNI (Universidad Nacional de Ingeniería en Nicaragua) una propagación a nivel de laboratorio de un bioplaguicida líquido a partir de *Bacillus subtilis*. En este proyecto se realizó la formulación de un Bioplaguicida a base de *Bacillus subtilis* y la determinación del efecto antifúngico, contra *Alternaria alternata*, *Fusarium equiseti* y *Fusarium sp* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum L*) en condiciones de invernadero.

En 2020, Djaenuddin et al., estudiaron el efecto plaguicida del *Bacillus subtilis* sobre el hongo *Bipolaris maydis*, que produce la enfermedad conocida como la plaga de la hoja de maíz en las variedades de maíz conocidas como maíz del sur. En este estudio, a nivel de invernadero, se obtuvo muchos mejores resultados en cuanto al crecimiento de la planta y al control de la enfermedad. En el campo, una concentración de 3 g/l mostró los mejores resultados en cuanto a suprimir la enfermedad y el rendimiento de la planta. La aplicación de la fórmula de *Bacillus subtilis*, redujo la enfermedad un 21%.

En 2014, Hubbard y Hynes realizaron una investigación en la que se analiza la acción pesticida del *Bacillus subtilis*. En el mismo, se demuestra que el mecanismo de acción de esta bacteria es química y bioquímicamente más complejo que el de los pesticidas

sintéticos, puesto que estos utilizan solamente una sustancia y un modo de acción, mientras que los bioplaguicidas presentan mecanismos de acción más complejos y holísticos. *Bacillus subtilis* es capaz de producir metabolitos con una gran diversidad de estructuras químicas, entre ellos surfactina, iturina A y bacillibactina, los cuales son capaces de controlar el crecimiento de patógenos (Stein, 2005). También estos metabolitos presentan actividad antibiótica en los fitopatógenos (Romero, 2007).

En el presente documento, se realizó el diseño tecnológico de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis* como una posible solución ante el problema de los agentes patógenos en los cultivos. En él se presentan las etapas de este: ensayo a nivel de laboratorio, escalamiento y estimación de costos. También se muestra en este trabajo los procesos de selección de los equipos principales en la operación de una planta: biorreactor, centrífuga, secador, mezclador y embaladora. Los elementos que corresponden a los estadios posteriores a las etapas antes mencionadas están fuera de los alcances de este estudio.

Dado que Nicaragua es un país eminentemente agrícola, este estudio es de relevancia puesto que presenta una alternativa amigable y rentable para el control de plagas, tecnología en boga desde hace algunos años. Además, la bacteria *Bacillus subtilis* presenta actividad anti patógena frente a plagas que afectan cultivos como el maíz, que es central en la economía y la dieta nicaragüense (Djaenuddin, 2020).

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Diseñar el proceso tecnológico de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis*, generando nuevas alternativas verdes en el mercado nacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los parámetros de producción de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis* a escala de laboratorio.

Seleccionar la tecnología y equipos necesarios en las principales etapas de la elaboración de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis* de acuerdo con la viabilidad y disponibilidad del mercado.

Evaluar los costos involucrados en el proceso de elaboración de un bioplaguicida sólido a partir de la bacteria *Bacillus subtilis* según los requerimientos de equipos, materia prima y operatividad.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. BIOPLAGUICIDA

3.1.1. Definición de bioplaguicida

Los bioplaguicidas son plaguicidas naturales derivados de: extractos de materias naturales de plantas, microorganismos o de sustancias que liberan dichos organismos, así también, se incluyen algunos minerales que por lo general solo afectan la plaga a la cual está dirigido. (Ramirez, 2012)

3.1.2. Clasificación de bioplaguicidas

De acuerdo con (Broca Pérez, 2009), los bioplaguicidas pueden agruparse en tres grandes categorías:

- **Bioplaguicidas microbianos**

Consisten en compuestos con un microorganismo (bacteria, hongo, virus o protozoo) como ingrediente activo. Pueden controlar distintos tipos de peste, aunque cada ingrediente activo es específico para una peste en particular. Por ejemplo, hay especies de hongos que controlan el crecimiento de maleza y otros que se utilizan en el tratamiento de insectos específicos.

Los bioplaguicidas microbianos más utilizados son subespecies del *Bacillus thuringiensis* (Bt). Cada rama de este tipo de bacteria produce una mezcla distinta de proteínas, y específicamente mata a una o algunas especies relacionadas de larvas de insectos. Mientras que algunas especies de Bt controlan a las larvas de polilla encontradas en las plantas, otras especies de Bt son específicas para el tratamiento de larvas de moscas y mosquitos.

- **Protectores incorporados**

Son sustancias plaguicidas que las plantas producen a partir de material genético que se ha añadido a la planta. Por ejemplo, pueden tomar el gen de la proteína plaguicida del Bt e introducirlo en el material genético de la planta. Entonces la planta produce la sustancia que destruye a la plaga específica.

- **Bioplaguicidas bioquímicos**

Son sustancias naturales que controlan pestes por medio de mecanismos no tóxicos. Los plaguicidas convencionales, en contraste, son generalmente materiales sintéticos que matan directamente o inactivan a la peste. Entre los plaguicidas bioquímicos se encuentran sustancias como feromonas y extractos de plantas olorosas que atraen a los insectos a las trampas.

3.1.3. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis, también llamado bacilo del heno o bacilo de la hierba es un tipo de bacteria que gran-positiva que produce la enzima catalasa. Se puede encontrar en el suelo y en los estómagos de animales como vacas, humanos y esponjas marinas. Esta bacteria pertenece al género *Bacillus* y tiene forma de bastón. También tiene la capacidad de crear una capa exterior protectora, llamada endospora, que le permite sobrevivir en condiciones adversas. Históricamente, se pensaba que esta bacteria necesitaba oxígeno para sobrevivir, pero ahora se cree que puede sobrevivir en ausencia de oxígeno (Errington & Aart, 2020).

Tabla 1. Clasificación científica de *Bacillus subtilis*.

<i>Bacillus subtilis</i>	
Clasificación científica	
Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Bacillaceae
Género	<i>Bacillus</i>
Especie	<i>subtilis</i>
Nombre binomial	
<i>Bacillus subtilis</i>	

Fuente: (Uniprot, 2023)

Bacillus subtilis se considera la bacteria gram-positiva mejor estudiada y un organismo modelo para estudiar la replicación cromosómica bacteriana y la diferenciación celular. Es uno de los campeones bacterianos en la producción de enzimas secretadas y utilizado a escala industrial por empresas de biotecnología (Errington & Aart, 2020).

3.1.4. Bioplaguicida a base de *Bacillus subtilis*

Los primeros biopesticidas disponibles comercialmente preparado a partir de cepas de *bacillus subtilis*, con la marca Quan tum®, Kodiak® y Epic®, apareció en el mercado de los EE. UU. en 1985. Su éxito en el control de microorganismos fitopatógenos que habitan en el suelo sentó las bases base para extender la aplicación de biopreparados basados en *Bacillus* a importantes cultivos (Orberá & al., 2014).

El desarrollo de inoculantes a partir de bacterias aeróbicas formadoras de esporas ha impulsado la investigación sobre la biodiversidad, distribución y fisiología de este grupo microbiano. La selección de nuevas cepas como candidatas para la formulación de

novedosos bioplaguicidas demanda un profundo conocimiento de los factores que aseguran una colonización exitosa de la rizosfera, y la implementación de metodologías eficientes para evaluar los efectos de las interacciones que estos bioplaguicidas establecen no solo con fitopatógenos. microorganismos, pero con miembros benéficos de la microflora local. Otro tema a tener en cuenta es la contribución de los bioplaguicidas candidatos a la inducción de mecanismos de resistencia a enfermedades en el cultivo objetivo (Orberá & al., 2014).

3.1.5. Bioplaguicidas sólidos

Un bioplaguicida sólido es una formulación en la que, en lugar de estar en forma líquida y necesitar ser rociado, el bioplaguicida está impregnado en material orgánico como arena, arcilla molida, mazorca de maíz, cáscaras de nuez o alguna otra sustancia sólida seca que luego puede ser embolsado y esparcido alrededor de un patio. Cada vez que los gránulos se humedecen, liberan una parte del plaguicida que contienen en su interior, lo que permite una liberación prolongada y un efecto residual más prolongado (McCoy, 2017).

- **Ventajas de los bioplaguicidas sólidos**

El uso práctico de productos químicos fitosanitarios involucra su aplicación directa, en dosis relativamente bajas (en formas líquidas o en mezclas), sobre el suelo o la planta. Las sustancias activas se mezclan con ingredientes sólidos como talco, arcillas, carbonato de calcio, etc., o en líquido como agua o solventes orgánicos, para permitir un área de propagación uniforme mejorando la adhesión a las plantas y asegurando un efecto biológico óptimo (Soldea, 2009). Sin embargo, algunas veces se formulan en estado sólido porque tienen un tiempo de estante.

Además, los bioplaguicidas sólidos no causan daño al medio ambiente, no causan daño a organismos no objetivo, son eficientes en cuanto a los costos, las plagas no desarrollan resistencia, no contaminan las fuentes de agua y no conllevan bioacumulación (Kumar, 2021).

3.2. CRECIMIENTO MICROBIANO

Entendemos por crecimiento microbiano el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo. Por tanto, no nos referimos al crecimiento de un único microorganismo (ciclo celular), sino al demográfico. El crecimiento de una población es el aumento del número de células como consecuencia de un crecimiento individual y posterior división (Salvucci, 2018).

Es importante diferenciar entre el crecimiento de una sola célula y el crecimiento de un grupo de células, ya que en los microorganismos debido a su pequeño tamaño se estudian principalmente el crecimiento de poblaciones. El crecimiento de una población se refleja en el aumento del número de células debido al crecimiento individual y la división celular. Este crecimiento de una población ocurre de manera exponencial, ya

que cada célula se divide generando dos células hijas, las cuales también se dividen dando como resultado un aumento constante de células (Pedrique & De Castro, 2008).

La velocidad de este crecimiento exponencial se mide en términos de tiempo de generación (G), que es el tiempo que tarda una población en duplicarse. Los tiempos de generación varían entre los diferentes microorganismos, algunos crecen rápidamente con tiempos de generación de solo 30 minutos, mientras que otros tardan varias horas o días (Pedrique & De Castro, 2008).

Se designa como:

$$x = N^0 \text{ de bacterias al tiempo } 0 \quad (4.1)$$

$$y = N^0 \text{ de bacterias al tiempo } t \quad (4.2)$$

$$t = \text{tiempo de crecimiento exponencial} \quad (4.3)$$

A tiempo 0 $y = x \quad (4.4)$

Después de:

1 generación $y = x * 2 \quad (4.5)$

2 generación $y = (x * 2) * 2 = 2^2 x \quad (4.6)$

3 generación $y = (2^2 x) * 2 = 2^3 x \quad (4.7)$

n generación $y = (2^n x) \quad (4.8)$

Para calcular n = (número de generaciones)

Resolviendo la ecuación (4.8) para n se tiene: $\log y = \log x + n \log 2 \quad (4.9)$

$$n = \frac{\log y - \log x}{\log 2} \quad (4.10)$$

Si se sustituye en la ecuación anterior log 2 por su valor 0.3010, se tiene que:

$$\frac{1}{0.3010} = 3.3n = 3.3 \log y/x \quad (4.11)$$

Por tanto, aplicando la ecuación anterior puede calcularse el número de generaciones que han tenido lugar, siempre que se conozca la población inicial "x", y la población "y" después del tiempo "t".

El tiempo de generación G es igual a t (tiempo transcurrido en fase exponencial para llegar de x a y) dividido por el número de generaciones n, o sea:

$$G = t/n \quad (4.12)$$

3.2.1. Medición del crecimiento microbiano

- **Medidas de masa celular y turbidez**

Las células pueden dispersar la luz. Cuantas más células haya en una suspensión, más luz se dispersa. Esta dispersión se puede medir con un espectrofotómetro o con un fotómetro. Para los organismos unicelulares, la densidad óptica – unidad de medida del espectrofotómetro-, es proporcional, dentro de unos límites, a la masa celular y al número de células, por lo que se puede usar como medida de contaje indirecta. Para evitar cometer mucho error, hay que realizar una curva estándar que relacione las medidas directas con las medidas indirectas de turbidez. Además, también se puede relacionar el peso seco con el número de células: se filtra un volumen conocido y se dejan secar las muestras. La masa seca de las células bacterianas es aproximadamente un diez o veinte por ciento de la masa húmeda (González, 2013).

- **Conteo de colonias**

Otras veces, no se parte de células sino de un número conocido de esporas. Los contadores de colonias miden el paso de las partículas por una solución salina por unidad de volumen. Se pueden fijar límites para que solo se midan las partículas de un determinado tamaño, por ejemplo, de entre 0.2 y 1 nanómetro. El problema de este método es que solo cuenta partículas, y no diferencia las células vivas de las muertas (González, 2013).

3.2.2. Cinética de crecimiento microbiano

El crecimiento microbiológico está dado por el incremento del número de células en una población de microorganismos (Madigan, 2015), en el cual se pueden identificar cuatro fases principales (Cobas, 2007): Inicialmente, se transita por una etapa de latencia en la que los microorganismos se adaptan al medio ambiente y no hay crecimiento celular aparente, a continuación, ocurre la fase de crecimiento exponencial, en la que la masa bacteriana crece hasta que se agotan los nutrientes y se acumulan sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento, luego, se alcanza la fase estacionaria que se caracteriza por un cese del crecimiento poblacional debido a la compensación de la formación y muerte de células y finalmente, se llega a la fase de muerte (Cobas, 2007).

3.2.3. Fases del crecimiento microbiano

El crecimiento bacteriano es un proceso complejo que involucra muchas reacciones anabólicas y catabólicas. Al final, estas reacciones conllevan a la división celular (Maier, 2015).

- **Fase de latencia**

La fase que se observa primero es bajo condiciones controladas es la fase de latencia, en la cual, el índice de crecimiento bacteriano es esencialmente cero. Se piensa que esta

fase ocurre debido a las adaptaciones fisiológicas de la bacteria a las condiciones de cultivo. La fase de latencia puede durar desde unos minutos hasta unas horas, pero puede ser controlada hasta cierto punto debido a que es independiente del tipo de medio, así como del tamaño del inóculo inicial (Maier, 2015).

- **Fase exponencial o logarítmica**

La segunda fase observada es la fase exponencial. Esta se caracteriza por un periodo de crecimiento exponencial. Durante la fase exponencial, el índice de incremento de células en el cultivo es proporcional al número de células presentes en cualquier momento dado (Maier, 2015).

Para calcular el crecimiento bacteriano en esta fase, se usa la ecuación:

$$X = 2^n X_0 \quad (4.13)$$

Donde:

X : Es el número de bacterias después de n generaciones.

n : Es el número de generaciones de bacterias.

X_0 : Es el número inicial de células.

- **Fase estacionaria**

La tercera fase observada es la fase estacionaria. Esta fase se define como un estado de no crecimiento neto, el cual puede ser expresado con la siguiente ecuación:

$$\frac{dX}{dt} = 0 \quad (4.14)$$

Aunque no hay crecimiento neto en la fase estacionaria, las células aún crecen y se dividen. Una de las razones más comunes de porqué esta fase se da es porque la fuente de carbono o un nutriente esencial se ha utilizado completamente. También se refleja en esta etapa que se utiliza a las células muertas como fuente de carbono y energía, puesto que estas proveen una fuente de nutrientes en un proceso llamado metabolismo endógeno (Maier, 2015).

- **Fase de muerte**

La fase final que se observa en el crecimiento bacteriano es la fase de muerte, la cual se caracteriza por la pérdida neta de células cultivables. Incluso en la fase de muerte puede haber células creciendo y dividiéndose. La fase de muerte puede describirse por la ecuación:

$$\frac{dX}{dt} = -k_d X \quad (4.15)$$

También debe tomarse en cuenta que la manera en que la célula crece se mide puede influir sobre la forma de la curva de crecimiento. El resultado es distinto si se mide por densidad óptica que si se hace por conteo de platos (Maier, 2015).

3.3. FORMULACIÓN

La forma física del bioplaguicida es el factor determinante en la selección de procesos y tecnología a utilizar en su producción, siempre verificando su compatibilidad con las prácticas agrícolas de la zona y su fácil incorporación en la rutina del agricultor.

El estado físico en el que se presenta el bioplaguicida tiende dos aspectos determinantes: la durabilidad del producto y la capacidad de este para colonizar las raíces de los cultivos. El empleo de preparaciones de células libres es una práctica común en la biotecnología agrícola y resulta muy efectiva cuando se trabaja con microorganismos capaces de formar estructuras de resistencia (esporas) (España Patente nº 2234417A1, 2005).

Para que un producto sea capaz de preservar la viabilidad celular en condiciones adversas durante largos periodos de tiempo y promover la capacidad de la colonización de las bacterias en las raíces, se pueden utilizar tipos de soportes, siendo un soporte un material líquido o sólido, sintético o natural, que protege a las bacterias tanto en su almacenamiento como en su aplicación a suelo (España Patente nº 2234417A1, 2005).

3.3.1. Formulación en polvo

Muchos microorganismos pueden ser pulverizados directamente por liofilización, lo que permite lograr altos índices de supervivencia sin la necesidad de utilizar un soporte y permiten su almacenamiento por largos periodos a la temperatura ambiente. No obstante, durante el proceso es necesario agregar algún crioprotector, el cual es esencial para proteger la membrana y el citoplasma en contra de la deshidratación. Algunos crioprotectores conocidos son el manitol y la celulosa microcristalina. Los microorganismos liofilizados pueden ser a su vez mezclados con un soporte sólido o utilizados directamente en el suelo (Melusa & Sas-Paszt, 2012).

a) Fuentes de carbono y nutrientes

La adición de fuentes de carbono y de materia orgánica en la formulación de esferas de alginato, como, por ejemplo, almidón (Schoebitz, López, & et, 2013), glicerol (Tal & al, 1997), quitina (Zohar-Perez & al., 2005), leche descremada (Bashan, Yoav; al., & et, 2002) o ácidos húmicos (Young & al., 2006), permiten aumentar la eficacia de los agentes activos, al aumentar la viabilidad de las células, y darle una mayor resistencia mecánica a las perlas aumentando la materia cerca en el caso del almidón y la quitina. Específicamente para el almidón, al agregar un 47% p/v de almidón, se han reportado

rendimientos del 10.4% (a_w entre 0.3 y 0.5) en células viables obtenidas luego del secado a 35°C y una supervivencia respecto del mismo tratamiento, en células encapsuladas sin adición de almidón del 9.77% mayor. Esto, debido a que la adición de almidón permite que el contenido de humedad sea reducido hasta un 65% a una menor velocidad de secado (debido al menor contenido de humedad inicial) respecto de los tratamientos sin almidón (Schoebitz, Simonin, & al., 2012).

b) Floculación

Otra técnica que se ha utilizado para proteger bacterias frente a las etapas de secado es la auto inmovilización. Algunas bacterias tienen la capacidad de formar flóculos o quistes (células vegetativas rodeadas por una red de polisacáridos) cuando se encuentran en situaciones de estrés. Se ha demostrado que estas células acumulan material capsular adicional y polímeros intracelulares como el PBH (Okon & al., 1992). Estas células agregadas ricas en PHB sobreviven mejor, ya que este es utilizado como fuente de carbono y energía bajo condiciones adversas (Lamm, Neyra, & al, 1981). Por otra parte, la floculación dota de un microambiente que es altamente protector contra estrés físico y químico, proporcionando un nicho seguro para la supervivencia de la bacteria y su liberación.

Se han reportado rendimientos del 10% ($a_w = 0.5$) en células viables obtenidas luego del secado a 40°C y una supervivencia mayor al 8% respecto al mismo tratamiento en células no floculadas (Joe, Karthikeyan, & al., 2012). Dadas estas ventajas, se concluye que la alternativa distinta a la adición de almidón u otro compuesto espesante o proyectores es el de la encapsulación de células enquistadas (Joe, Karthikeyan, & al., 2012).

3.3.2. Concentración de la Biomasa

Los principales métodos utilizados para separar las células del caldo de cultivo son la filtración, la microfiltración y la centrifugación. Cuando el procedimiento requerido es aumentar la concentración celular sin separarla totalmente del medio de cultivo (como en este caso), es preferible utilizar un equipo de centrifugado. En cuanto al tipo de centrífuga a utilizar, se sugieren centrífugas tubulares y las centrífugas de disco.

a) Centrífuga tubular

Las centrífugas tubulares consisten básicamente de un tubo vertical que gira a altas velocidades por la acción de un motor eléctrico y otra fuente de energía. Este tipo de centrífugas son capaces de separar partículas hasta de 0.1 micrómetros. Modelos típicos de escala industrial giran hasta 15,000 rpm desarrollando campos de gravedad de hasta 12,000 G, con capacidades entre 500 y 3500 L/h. Ya que este tipo de centrífugas no tienen descarga continua o automática de sólidos, la torta debe ser descargada manualmente y la capacidad de sólidos es de 2 a 4 kg/lote (Tejada, Montesinos, & al., 1995). Las centrífugas tubulares son utilizadas mayormente en separaciones dificultosas que requieren de grandes fuerzas centrífugas (Doran, 2013).

b) Centrífuga de discos

La centrífuga de discos consta de un eje vertical sobre el cual se montan un conjunto de discos en forma de conos truncados, uno sobre el otro. El rotor de la centrífuga provoca el giro tanto de los discos como del tazón. Los discos tienen pequeñas separaciones entre ellos (0.2 a 2 mm) y el ángulo que forman los conos con la vertical varía entre 35° y 50°, dependiendo de la aplicación. Entre los discos y el tazón existe un espacio que permite la acumulación de sólidos. Las centrífugas de disco pueden ser de descarga continua o intermitente para los sólidos y pueden ser de retención o de tazón abierto, lo cual le da un mayor rango de aplicación de nivel industrial. Generalmente las fuerzas centrífugas para centrífugas de discos varían entre 5,000 y 15,000 G y los caudales que operan son entre 4 y 1,500 L/min (Tejada, Montesinos, & al., 1995)

- **Preparación de la mezcla a encapsular y otras recomendaciones**

La concentración de alginato en la mezcla antes del proceso de extrusión se debe encontrar entre 20 y 30 g/L, y la concentración de almidón entre 200 y 500 g/L (Chan et al, 2011), (Ivanova, Teunou y Poncelet, 2006).

Para obtener el volumen al cual se deben mezclar estas proporciones, es necesario fijar una de las concentraciones, siendo en este caso más conveniente fijar la concentración de biomasa en UFC/ml, ya que le da cierto grado de estandarización al proceso. La concentración de biomasa en la mezcla, se obtiene de acuerdo a los requerimientos del producto, ya que la cantidad de células atrapadas por cápsula depende de la concentración inicial de biomasa en la mezcla a extrusar y de la eficiencia de encapsulación (Rojan, Tyagi, Brar, Surampalli y Prevost, 2011).

Cabe mencionar que el equipo seleccionado para la preparación de la mezcla a encapsular es un estanque de mezclado, cuyo agitador es de paletas inclinadas debido a la alta viscosidad a la cual puede llegar la mezcla (2,200 cP). Estos agitadores han sido especificados para la disolución de alginatos y compuestos relacionados (Greaves, 2014). El mezclador seleccionado carece de sistema de calefacción, ya que la disolución tanto del alginato, como la del almidón, se realizan a temperatura ambiente.

3.3.3. Secado

Si bien el proceso de secado afecta la viabilidad de las células y disminuye los rendimientos en la producción, se ha demostrado que la disminución de la actividad de agua en las cápsulas permite mantener constante la viabilidad de las bacterias en periodos largos de almacenamiento (1 a 2 años) y evita la posible proliferación de microorganismos no deseados (Schoebitz, Simoonin y Poncelet, 2012) (Hernández y López, 2009).

En el caso de encapsulación de bacterias sensibles a la temperatura, aún no se han realizado pruebas suficientes y no se ha llegado a un consenso acerca de la mejor alternativa para secar las cápsulas. Dado que la elección de una técnica en especial sin realizar pruebas de secado previas es muy difícil, se toma como referencia el trabajo

realizado por (Haberland y Riquelme, 2015) para la selección de una alternativa viable:

a) Lecho fluido

De acuerdo con (Jacquot y Perneti, 2004):

La técnica de lecho fluido utilizada como secado posterior a la encapsulación es una buena alternativa para su uso a gran escala, ya que permite utilizar bajas temperaturas, como se mencionó anteriormente. En este caso, el secado se realizaría por fondo y las microcápsulas serían dispuestas en la cámara de secado.

En un secador de lecho fluidizado el tiempo de residencia puede ser fijado independientemente de la temperatura del aire de entrada, de manera que se puede evitar el sobrecalentamiento de partícula. El secado por lecho fluidizado ofrece importantes ventajas sobre otros métodos de secado de materiales particulados, ya que permite una distribución uniforme de la temperatura y altas tasas de transferencia de calor y de masa. Las propiedades de las partículas resultantes se determinan por las condiciones de operación mencionadas anteriormente.

b) Secadores de bandeja

Los secadores de bandeja constan de una cámara aislada donde los sólidos son distribuidos en las bandejas ubicadas a distintos niveles. La transferencia de calor en estos secadores puede ser directa mediante una corriente de aire que circula a través de la cámara o indirecta utilizando bandejas calientes, radiadores o paredes refractantes dentro de la cámara. Generalmente los que funcionan de manera indirecta requieren de una pequeña cantidad de aire que retire la humedad o bien pueden funcionar a vacío donde el agua es retirada por la misma bomba que genera el vacío (Green y Perry, 2008).

Estos secadores no son agitados y se utilizan para procesos cuyo secado se realiza por lotes y de pequeña escala. Para procesos de mayor escala, estos secadores no son frecuentemente utilizados ya que el trabajo asociado a la carga y descarga del secador puede significar altos costos (Green y Perry, 2008). Por otro lado, debido a que los sólidos no se encuentran en movimiento, la transferencia de calor no es muy eficiente por lo que los tiempos de secado y exposición del material al calor son mayores.

c) Secadores rotatorios

Los secadores rotatorios consisten en una carcasa cilíndrica que gira sobre un eje y por lo general se encuentra inclinado respecto a la horizontal entre 1 y 5°. El producto húmedo es introducido en el extremo superior de la secadora y luego es retirado en el extremo inferior. Estos secadores pueden transferir el calor de forma directa, utilizando aire o gases de secado, e indirecta a través del calentamiento de tubos internos o de las paredes del secador mediante vapor o algún fluido caliente. En el caso de los secadores directos, el aire puede ser alimentado en flujo co-corriente, contra-corriente o de forma cruzada. En el caso de los secadores indirectos, estos pueden utilizar vacío para operar

en condiciones de evaporación a temperaturas más bajas (para productos sensibles a la temperatura) o al igual que en los secadores de bandeja, se hace pasar una pequeña corriente de aire que remueva el agua evaporada. Generalmente estos secadores son utilizados para procesos en el que el secado se debe realizar de forma continua y comúnmente se utilizan en plantas de gran escala. Sin embargo, también existen algunos secadores que operan por lotes, aunque son menos comunes. Los secadores rotatorios muchas veces constan de baffles en su interior para ayudar a mover los sólidos cuando la carcasa está girando, promoviendo el contacto entre el sólido húmedo y el aire caliente (Mujumdar, 2006).

3.4. ESCALAMIENTO

Se llama escalamiento al método que define cómo asignar números con sentido a las unidades de medida para cambiar el tamaño de una operación u objeto, ya sea aumentándolo o disminuyéndolo (Anaya-Durand & Pedroza-Flores, 2008).

Ilustración 4.2. Niveles de escalamiento (DCSBA, 2023).



4. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. LOCALIZACIÓN

4.1.1. Macro localización

La ubicación del proyecto se estableció en el departamento de Matagalpa, municipio de Sébaco como aparece en la figura 2, ya que la economía de la ciudad se basa principalmente en agricultura y representa un punto medio entre Managua y el interior del país. Tomando en cuenta todos estos beneficios se evaluó los aspectos de la ciudad y se determinó que esta cuenta con cercanía del mercado, medios, costes de transportes, disponibilidad de mano de obra y disponibilidad de suministros eléctricos y de agua potable.

Ilustración 5.1 – Matagalpa, Nicaragua



Fuente: Wikipedia.org

4.1.2. Micro Localización

Ya determinada la ciudad el cual se ubicará el proyecto de producción se fijó la dirección exacta que está sobre la Carretera Chaguitillo - El Cacao y se determinó las condiciones del terreno que está a las orillas de la carretera principal y cumple con la disponibilidad de alcantarillado, servicios básicos. La ilustración 5.2, muestra una foto aérea del terreno.

Ilustración 5.2. Terreno seleccionado



4.2. PREPARACIÓN DEL PROTOTIPO DEL BIOPLAGUICIDA A ESCALA LABORATORIO

La preparación del prototipo de bioplaguicida a base de *Bacillus subtilis* se realizará en el Laboratorio de Microbiología de las aguas del Programa de Investigación Estudios Nacionales y Servicios Ambientales (PIENSA) de la Universidad Nacional de Ingeniería, ubicado en el Recinto Universitario Simón Bolívar, Managua, Nicaragua.

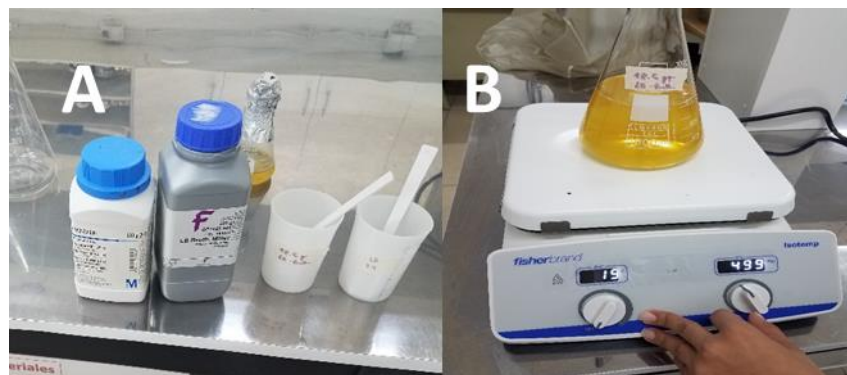
Para seleccionar la cepa de *Bacillus subtilis* en esta etapa, se utilizó la información recopilada por Ayestas y Talavera (2018). En ella, los investigadores seleccionaron la cepa *Bacillus subtilis* DCL4-31 puesto que esta había presentado los mejores resultados en investigaciones anteriores (Flores & Roque, 2017).

4.2.1. Preparación del preinoculo de bacteria

Antes de empezar a reproducir el microorganismo, es necesario activar la bacteria por medio de la preinoculación. Para ello, el primer paso a tomar es preparar cada medio de cultivo, uno para la preinoculación y otro para la inoculación.

Primero se disolvieron 18.5 g de medio de cultivo líquido LB Broth Miller en 740 mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 1000 mL y se agitó a 380 RPM durante 10 minutos. Luego se distribuyó el medio en Erlenmeyers de 135 mL donde se agregaron 100 mL del mismo para la inoculación posterior.

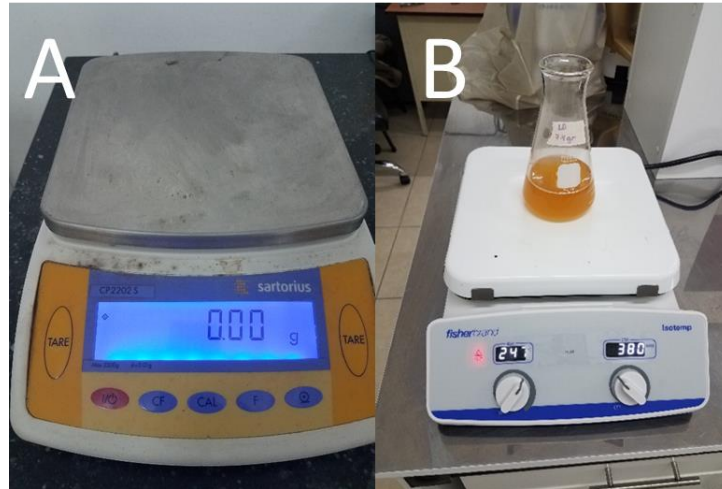
Ilustración 5.3. A: Medios LB sólido y LB Broth líquido. B: LB Broth líquido en agitación



Fuente: propia

También se disolvieron 7.40 g de medio de cultivo sólido LB Miller en 135 mL de agua destilada en un Erlenmeyer de 500 mL y se colocó en un agitador a 250 RPM a 250°C hasta alcanzar el punto de ebullición. Se distribuyó el medio LB Miller en tubos de ensayo donde se agregó 10 mL en cada uno. Para medir la masa de los medios de cultivo usados, se utilizó una balanza Sartorius modelo CP 2202 S.

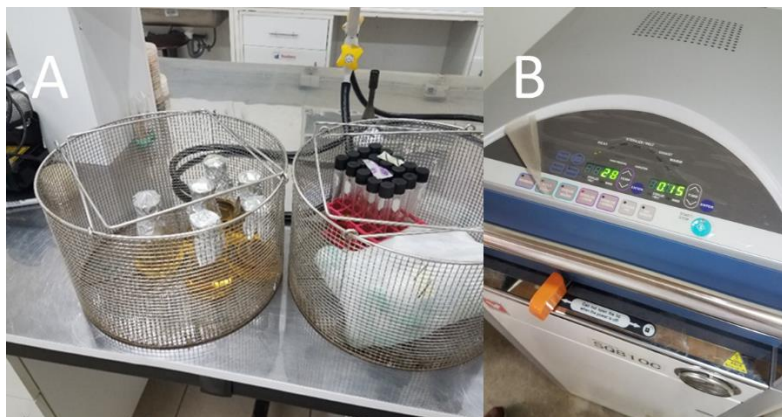
Ilustración 5.4. A. Balanza Sartorius CP 2202 S. B: Agitación de medio LB sólido



Fuente: propia

A continuación, ambos medios (distribuidos en 6 Erlenmeyer de 135 mL) fueron esterilizados en autoclave a temperatura de 121°C durante 15 minutos al mismo tiempo que los tubos cónicos de 50 mL que hubo de utilizarse en la centrifuga posteriormente con los tubos de ensayo de 10 mL utilizados más adelante en la inoculación.

Ilustración 5.5. A: Materiales y herramientas a esterilizar. B: Autoclave



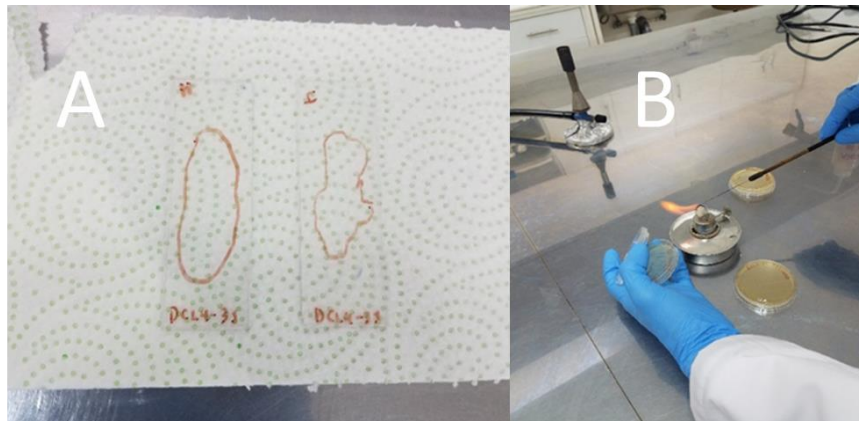
Fuente: propia

Después, se vertió el contenido de 2 tubos de ensayo en una caja Petri cada uno y se inoculó la bacteria y se dejó en agitación en un shaker marca Meyvis a 170 RPM, la cual se analizó luego de 21 h para observar si había crecimiento bacteriano. Para ello, se tomaron muestras de las cajas Petri y se realizó una tinción de Gram.

4.2.2. Tinción de Gram

La tinción de Gram es un procedimiento que se realiza para identificar microorganismos a nivel de laboratorio. Consiste en tomar una muestra de la bacteria con un asa esterilizada, colocarla en un portaobjetos por medio de frotis y dejarla secar (Ver Ilustración 5.6. A).

Ilustración 5.6. A: Muestras de *Bacillus subtilis* previas a la tinción de Gram. B: Recolección de muestras para la tinción de Gram (frotis)



Fuente: propia

La tinción consiste en verter azul de violeta, por 40 segundos y luego enjuagar con agua de forma indirecta sobre la muestra, y se sigue el mismo procedimiento con lugol, acetona (que solo toma 40 segundos antes de enjuagar), se agrega agua destilada, y finalmente se vierte safranina por un minuto y se enjuaga con agua destilada.

Ilustración 1.7. A: Reactivos utilizados en la tinción de Gram. B: *Bacillus subtilis* después de la tinción de Gram visto en el microscopio



Fuente: propia

A continuación, se vierte lleva al microscopio óptico y se utiliza aceite de inmersión sobre la muestra para observarla con mayor claridad.

Los resultados de ambas muestras fueron satisfactorios puesto que ambas reaccionaron a la tinción de manera positiva puesto que se observa un solo tipo de microorganismo, su color es azul y fue evidente su forma de pequeños bastones (característicos de las bacterias del género *bacillus*).

A continuación, los Erlenmeyer y tubos de ensayo fueron esterilizados junto con los tubos cónicos de 50 mL que fueron usados más adelante en la centrifuga.

4.2.3. Propagación de la bacteria y medición de la turbidimetría

Para el inóculo, se tomó muestra del preinóculo y se sembró en 6 Erlenmeyer, los cuales se nombraron de la siguiente manera:

1 y 2: inóculo.

A, B, C y D: muestras a multiplicarse.

Ilustración 5.8. A: Muestras a inocular. B: Muestras en el agitador (shaker)



Fuente: propia

Estos Erlenmeyer fueron colocados en un Shaker durante 285 minutos a 170 RPM. Se midió la absorbancia de cada frasco antes y después del agitado.

Ilustración 5.9. A: Toma de muestras para medir absorbancia. B: Medición de absorbancia en el espectrofotómetro

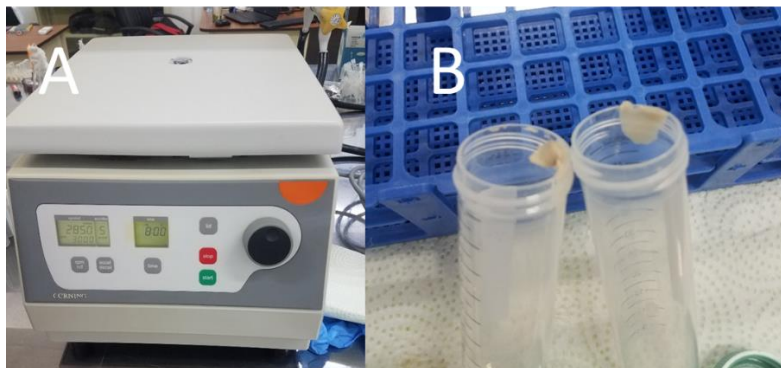


Fuente: propia

A continuación, el contenido de los frascos fue trasladado a tubos cónicos que fueron puestos en una centrífuga a 3000 RPM por 15 minutos y se separó la muestra del líquido por decantación.

Esta muestra húmeda, se dejó secar por 8 días por convección natural y luego se calculó la masa del bioplaguicida obtenido la cual dio como resultado 0.7466g por los 600 mL de muestra centrifugada.

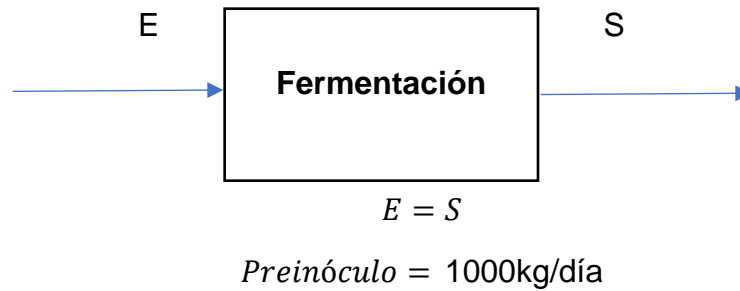
Ilustración 5.10. A: Muestras en la centrífuga. B: Bacillus subtilis luego de la centrifugación y la decantación



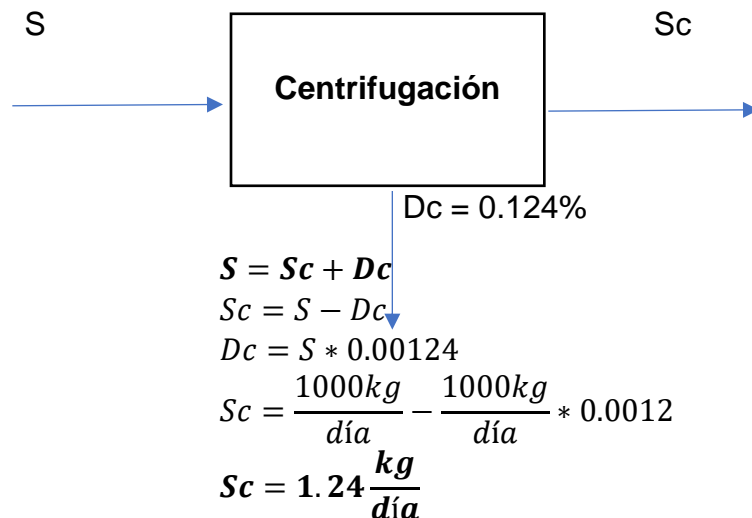
Fuente: propia

4.3. BALANCE DE MATERIA

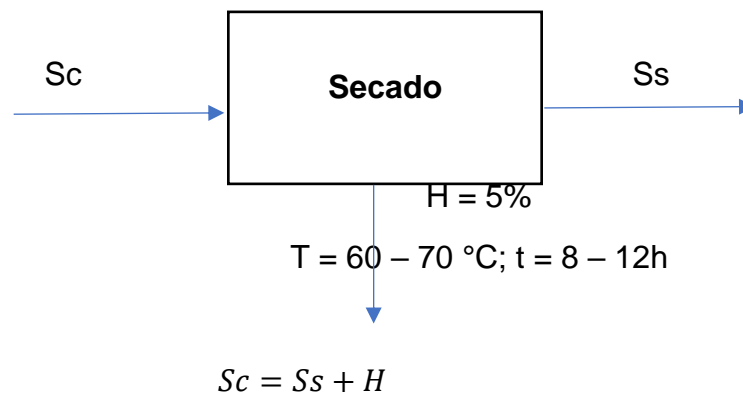
4.3.1. Balance de la fermentación



4.3.2. Balance de la centrifugación



4.3.3. Balance de secado



$$S_s = S_c - H$$

$$H = S_s * 0.05$$

$$S_s = S_c - S_c(0.05)$$

$$S_s = 1.24 \frac{kg}{día} - 1.24 \frac{kg}{día} (0.05)$$

$$S_c = 1.178 \frac{kg}{día}$$

4.3.4. Balance de mezclado



$$MF = S_c + D$$

$$D = S_c * 100$$

$$MF = S_c + S_c(100)$$

$$MF = 1.178 \frac{kg}{día} + 1.178 \frac{kg}{día} * 100$$

$$MF = 118.98 \sim \frac{120kg}{día}$$

E = Entrada

S = Salida

Sc = salida de centrifuga

Dc = desecho de centrifuga

Ss = salida de secado

H = humedad

D = Disolvente (almidón)

MF = mezcla final

5. EVALUACIÓN DE PROCESOS Y SELECCIÓN DE EQUIPOS

5.1. SELECCIÓN DE EQUIPOS

Todo proceso requiere de darle gran relevancia a la parte del diseño, así como la selección de las operaciones y los equipos a utilizar, de modo que posteriormente se puedan realizar los balances de masa y energía correspondientes. En capítulos anteriores se plantea la información utilizada para la selección de dichos procesos y los criterios para la obtención del producto deseado, así como también los requerimientos y condiciones de fermentación para llevar a cabo dicho proceso.

Considerando que se busca la obtención de un producto efectivo y de alto impacto en el mercado, se tomarán en cuenta procesos actuales y vigentes, así como la tecnología disponible cuidando siempre de la viabilidad económica del desarrollo del proyecto.

5.1.1. Fermentación

La fermentación tiene el propósito de aumentar la biomasa inicial del microorganismo. Para este propósito, se utiliza un tanque agitado mediante una operación de lote discontinua. En el mismo, se realizará la siembra de una muestra de la bacteria y luego se alimentará con medio de cultivo para su crecimiento. La muestra se inoculará al 1% de volumen de medio. Esto se llevará a cabo en dos partes:

- a. Etapa a nivel de laboratorio: aquí, se trabaja con volúmenes pequeños. Su propósito es preparar suficiente inóculo para luego poder realizar la fermentación a gran escala.
- b. Etapa industrial: del resultado de la primera parte, se selecciona una muestra (que representa el 1% del volumen total) y luego se procede a realizar la fermentación en el reactor para luego seguir con las demás etapas del proceso.

Es importante notar que no es necesario realizar la primera fase más de una vez, puesto que las muestras para todos los lotes siguientes pueden ser extraídos del resultado de la segunda fermentación (la del reactor).

5.1.2. Centrifugación

En esta etapa del proceso, el producto de la fermentación pasa a través de una centrífuga para separar la bacteria ya multiplicada del resto del medio de cultivo. Solamente, el 2% del producto es extraído en este paso aproximadamente.

5.1.3. Secado

Aquí, la pasta bacteriana y concentrada extraída de la centrifugación se concentra aún más al ponerla en un horno para así extraer el agua restante que no fue posible separar en el proceso de centrifugación. De aquí, la humedad restante que se obtiene representa el 5% de la masa inicial.

5.1.4. Mezclado

En el mezclado, las bacterias secas y concentradas se combinan con almidón para un rendimiento mayor y también para disminuir la concentración de las mismas y que las mismas puedan ser distribuidas en la tierra y sobre las plantas. Este proceso se lleva a cabo en un tanque de mezclado. La relación almidón-bioplaguicida es de 1:100.

5.1.5. Embalado

En este último paso del proceso, se procede a llevar el producto mezclado a un equipo capaz de dividirlo en cantidades exactas y luego empacarlas para su posterior distribución y venta.

5.2. ETAPAS DEL PROCESO

5.2.1. DIAGRAMA DEL PROCESO

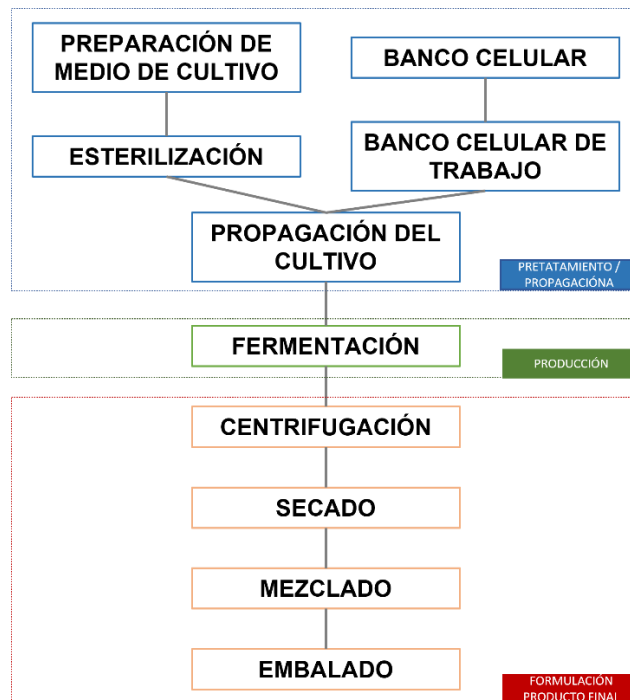


Ilustración 6.1. Diagrama de procesos

Fuente: propia. Adaptado de (Haberland & Riquelme, 2015)

5.2.2. ETAPAS DEL PROCESO

Se tomaron los siguientes criterios para la selección de volumen a procesar, anteriormente se había realizado escalado a nivel laboratorio y escala de bancos por (al, 2020), usando el criterio de semejanza o similaridad como base (10 litros=100 litros) se tomo la decisión de realizar la producción de 1000 Litros/ diarios (1 m³ /Dia), tomando

sus parámetros cinéticos y balances de materia para justificar este volumen, que es el porcentaje mínimo de escalamiento industrial.

Según el código del trabajo el máximo de horas estipulado para trabajar es de 48 horas laborales por semana, por las condiciones naturales del proceso fermentativo que dura 7.5 horas, se tomara en cuenta 3 turnos de 8 horas laborales, 6 días a la semana, para el personal de laboratorio y para el personal de producción un turno diurno de 9.5 horas, 5 días a la semana.

Tomando en cuenta que el proceso de producción es de 5 días

$$P_{semanal} = 1,000 \text{ m}^3 * 5 \text{ dia} = 1,000 \text{ m}^3 / \text{día} \quad (6.1)$$

$$P_{mensual} = \frac{1000 \text{ m}^3}{1 \text{ dia}} * \frac{24 \text{ días}}{1 \text{ mes}} = \frac{24000 \text{ m}^3}{\text{mes}} \quad (6.2)$$

$$P_{anual} = \frac{24,000 \text{ m}^3}{1 \text{ mes}} * \frac{12 \text{ meses}}{1 \text{ año}} = \frac{288,000 \text{ m}^3}{\text{año}} \quad (6.3)$$

Según el objetivo definido, se ha establecido una necesidad de producir 288,000 m³/año de bioplaguicida. Por lo tanto, el dimensionamiento de equipos se realizará con base a los cálculos de producción por día.

En el proceso se realizará la clarificación de la melaza para mejorar la calidad del sustrato pasando por una bomba de filtración.

5.3. DISEÑO DE EQUIPOS

La producción de biopesticidas generalmente requiere equipos especializados para cultivar, fermentar y extraer ingredientes activos de microorganismos o plantas. Estos son algunos ejemplos de equipos industriales que puede necesitar para producir bioplaguicidas:

Diseño de equipos de tanque de mezcla

5.3.1. Biorreactor

Se usa un biorreactor mezclador (discontinuo) para mezclar el conjunto de bacterias, que funciona de forma parecida a los biorreactores usados en la fermentación, con el fin de mantener una viabilidad similar.

- Balance de materia:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - k_d X \quad (6.4)$$

- Balance de energía:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{Q + \dot{m}_c C_{pc}(T_c - T) + \dot{m}_a C_{pa}(T_a - T) + \dot{m}_s C_{ps}(T_s - T) + \dot{m}_p C_{pp}(T_p - T) + \Delta H_r r}{V C_b \rho_b + m C_m} \quad (6.5)$$

- Ecuación de diseño:

$$V = \frac{\dot{m}_p}{Y_p X_0} \quad (6.6)$$

- Ecuación de rendimiento:

$$P = \frac{\dot{m}_p}{V t} \quad (6.7)$$

Donde:

- X : concentración de biomasa [kg/m^3]
- t : tiempo [h]
- μ : velocidad específica de crecimiento [$1/\text{h}$]
- k_d : velocidad específica de muerte [$1/\text{h}$]
- T : temperatura del biorreactor (K)
- Q : tasa de generación o remoción de calor por unidad de volumen [W/m^3]
- \dot{m}_c : flujo másico del líquido de enfriamiento [kg/s]
- C_{pc} : capacidad calorífica del líquido de enfriamiento [J/kgK]
- T_c : temperatura del líquido de enfriamiento [K]
- \dot{m}_a : flujo másico del aire [kg/s]
- C_{pa} : capacidad calorífica del aire [J/kgK]
- T_a : temperatura del aire [K]
- \dot{m}_s : flujo másico del sustrato [kg/s]
- C_{ps} : capacidad calorífica del sustrato [J/kgK]
- T_s : temperatura del sustrato [K]
- \dot{m}_p : flujo másico del producto [kg/s]
- C_{pp} : capacidad calorífica del producto [J/kgK]
- T_p : temperatura del producto [K]
- ΔH_r : calor de reacción por unidad de masa de biomasa formada [J/kg]
- r : velocidad específica de reacción [$\text{kg}/\text{m}^3\text{h}$]
- V : volumen del biorreactor [m^3]
- C_b : capacidad calorífica del medio de cultivo [J/kgK]
- ρ_b : densidad del medio de cultivo [kg/m^3]
- m : masa del biorreactor [kg]
- C_m : capacidad calorífica del biorreactor [J/kgK]
- Y_p : rendimiento en masa de producto por unidad de masa de biomasa formada [kg/kg]
- X_0 : concentración inicial de biomasa [kg/m^3]
- P : productividad volumétrica [$\text{kg}/\text{m}^3\text{h}$]

5.3.2. Separador centrífugo

Para diseñar el separador centrífugo se asume el cumplimiento de la ley de Stokes para las suspensiones diluidas. De acuerdo con esta suposición, se plantea la siguiente ecuación para la relación entre el flujo de entrada a la centrifuga, la velocidad terminal de las partículas y área equivalente necesaria para estimar los requerimientos del equipo a seleccionar:

- Balance de materia:

$$\dot{m}_f = \dot{m}_c + \dot{m}_s \quad (6.8)$$

- Balance de sólidos:

$$\dot{m}_f X_f = \dot{m}_c X_c + \dot{m}_s X_s \quad (6.9)$$

- Ecuación de diseño:

$$A = \frac{\dot{m}_f}{\sigma \omega^2 (X_c - X_s)} \quad (6.10)$$

- Ecuación de rendimiento:

$$R = \frac{\dot{m}_c X_c}{\dot{m}_f X_f} \quad (6.11)$$

Donde:

\dot{m}_f : flujo másico de la alimentación [kg/s]

\dot{m}_c : flujo másico del concentrado [kg/s]

\dot{m}_s : flujo másico del sobrenadante [kg/s]

X_f : fracción másica de sólidos en la alimentación

X_c : fracción másica de sólidos en el concentrado

X_s : fracción másica de sólidos en el sobrenadante

A : área del disco [m²]

σ : factor de sedimentación [m/s²]

ω : velocidad angular del disco [rad/s]

R : rendimiento de separación

5.3.3. Secador

La función del secado directo es obtener un producto seco con un contenido de humedad deseado y un gas húmedo con un contenido de sólidos bajo. Para ello, se requiere un control adecuado de la temperatura, el flujo y la humedad del gas, así como del tiempo de contacto con el sólido:

- Balance de materia:

$$\dot{m}_s = \dot{m}_{s0}(1 - X_0) \quad (6.12)$$

- Balance de humedad:

$$\dot{m}_g(Y_{g0} - Y_g) = \dot{m}_{s0}(X_0 - X) \quad (6.13)$$

- Ecuación de diseño:

$$A = \frac{\dot{m}_{s0}(X_0 - X)}{k_g a(Y_{g0} - Y_g)} \quad (6.15)$$

- Ecuación de rendimiento:

$$R = \frac{\dot{m}_s}{\dot{m}_{s0}} \quad (6.16)$$

Donde:

\dot{m}_s : flujo másico del sólido seco [kg/s]

\dot{m}_{s0} : flujo másico del sólido húmedo [kg/s]

X_0 : fracción másica de humedad inicial

X : fracción másica de humedad final

\dot{m}_g : flujo másico del gas [kg/s]

Y_{g0} : fracción másica de humedad del gas a la entrada

Y_g : fracción másica de humedad del gas a la salida

R : rendimiento de secado

5.3.4. Mezclado

La función del mezclado sólido-sólido es obtener un producto final con una composición y propiedades uniformes y adecuadas para su uso como bioplaguicida. Para ello, se requiere un control adecuado de la proporción, el tamaño y la forma de las partículas, así como del tiempo y la intensidad de mezcla:

- Balance de materia:

$$\dot{m}_f = \dot{m}_1 + \dot{m}_2 + \dots + \dot{m}_n \quad (6.17)$$

- Balance de composición:

$$\dot{m}_f X_f = \dot{m}_1 X_1 + \dot{m}_2 X_2 + \dots + \dot{m}_n X_n \quad (6.18)$$

- Ecuación de diseño:

$$N = \frac{\ln(1-R)}{\ln(1-S)} \quad (6.19)$$

- Ecuación de rendimiento:

$$R = 1 - (1 - S)^N \quad (6.20)$$

Donde:

\dot{m}_f : flujo másico de la mezcla final [kg/s]

\dot{m}_i : flujo másico del componente i [kg/s]

X_f : fracción másica del componente de referencia en la mezcla final

X_i : fracción másica del componente de referencia en el componente i

N : número de revoluciones del mezclador

R : grado de mezcla

S : segregación por revolución

5.3.5. Embalado

obtener un producto listo para su distribución y uso, con una presentación atractiva y una información clara y precisa. Para ello, se requiere un control adecuado de la calidad, la cantidad y el tipo de material del embalaje, así como de la velocidad y la precisión del llenado y sellado.

- Balance de materia:

$$\dot{m}_p = \dot{m}_f + \dot{m}_e \quad (6.21)$$

- Balance de peso:

$$\dot{m}_p = n_p m_p \quad (6.22)$$

- Ecuación de diseño:

$$n_p = m_f \dot{m}_f \quad (6.23)$$

- Ecuación de rendimiento:

$$R = \frac{n_p}{n_t} \quad (6.24)$$

Donde:

\dot{m}_p : flujo másico del producto embalado (kg/s)

\dot{m}_f : flujo másico de la mezcla final (kg/s)

\dot{m}_e : flujo másico del material de embalaje (kg/s)

n_p : número de bolsas producidas por unidad de tiempo

m_p : masa de una bolsa (kg)

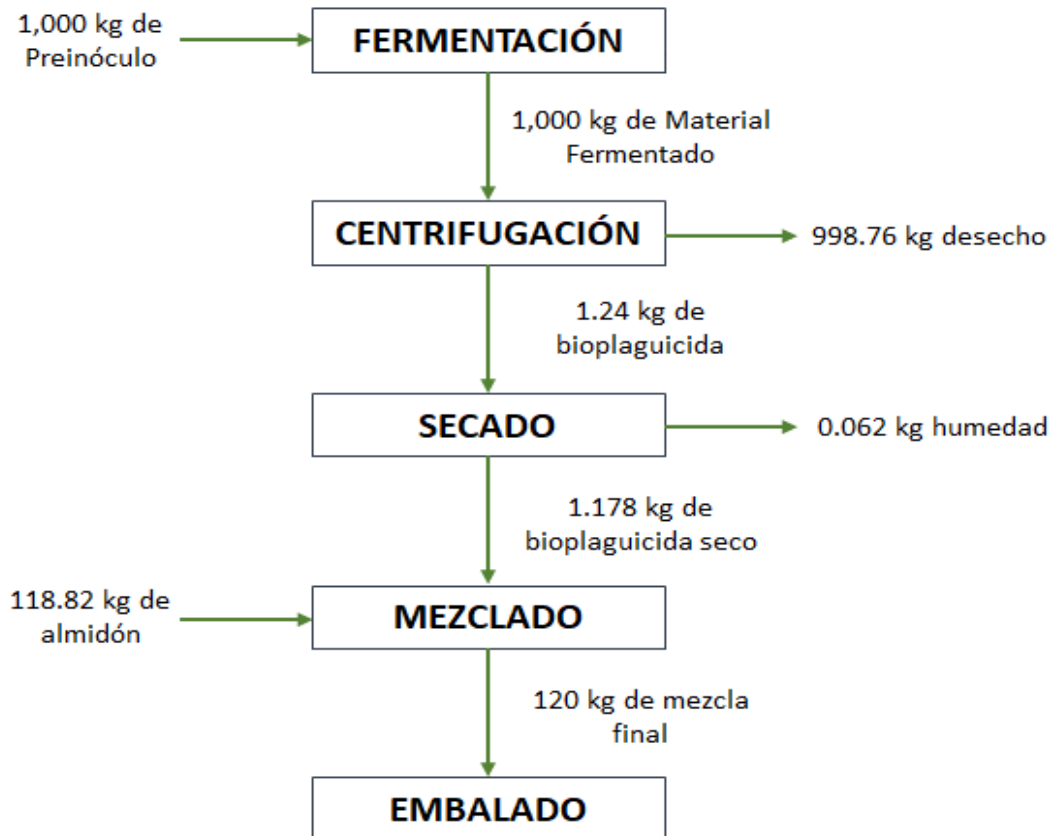
m_f : masa de la mezcla final en una bolsa (kg)

n_t : número de bolsas teóricas por unidad de tiempo

6. RESULTADOS

6.1. BALANCE DE MATERIA

Ilustración 7.1. Balance de Materia



6.2. COSTOS

La parte del análisis económico pretende determinar cuál es el monto de los recursos económicos necesarios para la realización del proyecto, cuál será el costo total de la operación de la planta (que abarque las funciones de producción, administración y ventas), así como otra serie de indicadores que servirán como base para la parte final y definitiva del proyecto, que es la evaluación económica (Baca Urbina, 2013).

6.2.1. Costos de inversión fija

Para que una planta de proceso pueda funcionar de manera normal, se requiere una gran inversión para asegurar la adquisición del equipamiento necesario, su instalación, el terreno donde se ubicará la planta, y las tuberías de proceso, servicios, edificaciones, etc. Asimismo, se necesita contar con un capital para cubrir los gastos de operación iniciales.

- **Adquisición de equipamiento**

La tabla muestra los costos de adquirir el equipamiento principal del proceso de producción de bioplaguicida, los cuales se obtuvieron mediante la Oferta de los fabricantes (Ver anexos). Costos de transporte, impuestos y seguros, están incluidos en los precios.

ITEM	EQUIPO	CANTIDAD	MARCA	PRECIO UN [U\$]	PRECIO TOTAL [U\$]
1	Tanque de agua 5000 L	2	ROTOPLAST	U\$ 5,425.83	U\$ 10,851.66
2	Biorreactor	1	INOXMEXICO	U\$ 159,827.97	U\$ 159,827.97
3	Bombas	5	ALFA LAVAL	U\$ 2,484.00	U\$ 12,420.00
4	Centrífuga de discos	1	SHENZHO	U\$ 16,800.00	U\$ 16,800.00
5	Secador directo	1	HENGCHANG	U\$ 10,000.00	U\$ 10,000.00
6	Mezclador sólido-sólido	1	BRABENDER	U\$ 4,878.02	U\$ 4,878.02
7	Empaquetadora	1	FLOW PACK	U\$ 3,800.00	U\$ 3,800.00
				TOTAL	U\$ 218,577.65

Tabla 7.1. Costos de equipos

Los siguientes costos se determinaron utilizando el método de Peters para procesos productivos de sólidos:

- **Instalación de equipos**

$$C_{\text{Instalación de equipos}} = (C_{\text{Equipos}}) \times (47\%)$$

$$C_{\text{Instalación de equipos}} = (218,577.65) \times (47\%)$$

$$C_{\text{Instalación de equipos}} = \mathbf{U\$ 102,731.46}$$

- **Instrumentación y control**

$$C_{\text{Instrumentación y control}} = (C_{\text{Equipo}}) \times (18\%)$$

$$C_{\text{Instrumentación y control}} = (218,577.65) \times (18\%)$$

$$C_{\text{Instrumentación y control}} = \mathbf{U\$ 39,343.98}$$

- **Tuberías**

$$C_{\text{Tuberías}} = (C_{\text{Equipo}}) \times (66\%)$$

$$C_{\text{Tuberías}} = (218,577.65) \times (66\%)$$

$$C_{\text{Tuberías}} = \mathbf{U\$ 144,261.25}$$

- **Instalación eléctrica**

$$C_{Tuberías} = (C_{Equipo}) \times (11\%)$$

$$C_{Tuberías} = (218,577.65) \times (11\%)$$

$$C_{Tuberías} = \mathbf{U\$ 24,043.54}$$

6.2.2. Costos de producción

Los costos de producción no son más que un reflejo de las determinaciones realizadas en el estudio técnico. El método de costeo que se utiliza en la evaluación de proyectos se llama costeo absorbente. Esto significa que, por ejemplo, en el caso del cálculo del costo de la mano de obra se agrega al menos 35% de prestaciones sociales al costo total anual, lo que significa que no es necesario desglosar el importe específico de cada una, sino que en una sola cifra de 35% se absorben todos los conceptos que esas prestaciones implican (Baca Urbina, 2013).

- **Costos variables**

Materia prima:

No se debe tomar en cuenta sólo la cantidad de producto final que se desea, sino también la merma propia de cada proceso productivo, para realizar este cálculo correctamente es necesario revisar el balance de materia prima respectivo que se ha presentado en el estudio técnico (Baca Urbina, 2013).

La cantidad de materia prima utilizada en el año está dada por la siguiente formula:

$$MP_{Anual} = (Consumo_{Batch}) \times (Batch \text{ al día}) \times (días \text{ de operación}) \quad (7.13)$$

Debido a que el bioproceso es un sistema cerrado, se considerará una merma del 3%.

$$MP_{Anual} = (0.20 \text{ m}^3) \times (1) \times (279) = 55.8 \text{ m}^3 \quad (7.14)$$

Considerando la merma (3%):

$$MP_{Anual} = (55.8 \text{ m}^3) \times 1.03 = 57.47 \text{ m}^3 \quad (7.15)$$

Considerando el costo por barril (0.208 m³) es U\$ 88.00, por tanto:

$$Costo_{Anual} = (57.47 \text{ m}^3) \times \left(\frac{U\$ 88.00}{1 \text{ kg}} \right) = \mathbf{U\$ 5,057.36} \quad (7.16)$$

Mano de obra:

Para este cálculo se consideran las determinaciones del estudio técnico. Hay que dividir la mano de obra del proceso en directa e indirecta. La mano de obra directa es aquella que interviene personalmente en el proceso de producción, se refiere en específico a los obreros. La mano de obra indirecta se refiere a quienes aun estando en producción no son obreros, tales como supervisores, jefes de turno, gerente de producción, etc. En

cualquier cálculo de mano de obra, ya sea directa o indirecta, se debe agregar al menos 35% de prestaciones sociales. Esto significa que sobre el sueldo base anual hay que agregar fondo para la vivienda, seguridad social, vacaciones, días festivos, aguinaldo, y otros, lo cual suma, en promedio, un 35% adicional (Baca Urbina, 2013).

$$Costos_{Mano\ de\ obra} = (n_{plazas}) \times (Salario) \times (1 + Prestaciones) \quad (7.17)$$

Los salarios y beneficios de los trabajadores están sujetos al Código del Trabajo, Ley de Seguridad Social y Ley del Salario mínimo, así como a decretos relacionados a dichas leyes.

Costos de operarios

Según el acta de salario mínimo de la Industria sujeta a régimen especial, el salario mínimo en Nicaragua para el año 2023 es: **C\$ 8,098.46**, cuya equivalencia en dolares a cambio oficial del 15 de marzo del 2023 es: 36.3349

$$Salario_{Operarios} = (C\$ 8,098.46) \times \left(\frac{U\$ 1}{C\$ 36.3349} \right) = U\$ 222.88 \quad (7.18)$$

Costo mensual por operario, utilizando el 35% recomendado por (Baca Urbina, Evaluación de Proyectos, 7ma Edición, 2013).

$$Costos_{Operarios\ mensual} = (n_{plazas}) \times (U\$ 222.88) \times (1 + 0.35) \quad (7.19)$$

- N° de plazas: 5
- Recepción de materia prima: 1 plaza
- Clarificación y esterilizado de la melaza: 1 plaza
- Fermentado: 1 plazas
- Mezclado: 1 plaza
- Dosificado: 2 plazas
- Etiquetado: 2 plazas

$$Costos_{Operarios\ mensual} = (5) \times (U\$ 222.88) \times (1 + 0.35) \quad (7.20)$$

$$Costos_{Operarios\ mensual} = U\$ 1,504.44 \quad (7.21)$$

$$Costos_{Operarios\ Anual} = (U\$ 1,504.44) \times 12 = U\$ 18,053.28 \quad (7.22)$$

Costos Técnicos de laboratorio

$$Costos_{Técnicos\ Laboratorio} = (n_{plazas}) \times (Salario) \times (1 + Prestaciones) \quad (7.23)$$

$$Costos_{Técnicos\ Laboratorio} = (2) \times (U\$ 350.00) \times (1 + 0.35) \quad (7.24)$$

$$Costos_{Técnicos\ Laboratorio} = U\$ 945 \quad (7.25)$$

$$Costos\ Anual_{Técnicos\ Laboratorio} = U\$ 945 \times 12 = U\$ 11,340.00 \quad (7.26)$$

Tabla 7.2. Mano de Obra Directa

MANO DE OBRA DIRECTA				
Puesto	Plazas	Salario	Costos	
			Mensual	Anual
Operarios	5	U\$ 222.88	U\$ 1,504.44	U\$ 18,053.28
Técnico de laboratorio	2	U\$ 350.00	U\$ 945.00	U\$ 11,340.00
			TOTAL	US\$ 29,393.28

Jefe de producción

$$Costos_{\text{Jefe de producción}} = (1) \times (U\$ 700) \times (1 + 0.35) = \mathbf{U\$ 945.00} \quad (7.27)$$

$$Costos \text{ Anual}_{\text{Jefe de producción}} = U\$ 945.00 \times 12 = \mathbf{U\$ 11,340.00} \quad (7.28)$$

Supervisor de producción

$$Costos_{\text{Supervisor de producción}} = (1) \times (U\$ 500) \times (1 + 0.35) = \mathbf{U\$ 675.00} \quad (7.29)$$

$$Costos \text{ Anual}_{\text{Supervisor de producción}} = U\$ 675.00 \times 12 = \mathbf{U\$ 8,100.00} \quad (7.30)$$

Auxiliar administrativo

$$Costos_{\text{Auxiliar administrativo}} = (1) \times (U\$ 400) \times (1 + 0.35) = \mathbf{U\$ 540.00} \quad (7.31)$$

$$Costos \text{ Anual}_{\text{Auxiliar administrativo}} = U\$ 540.00 \times 12 = \mathbf{U\$ 6,480.00} \quad (7.32)$$

Tabla 7.3. Mano de Obra Indirecta

MANO DE OBRA INDIRECTA				
Puesto	Canti dad	Salario	Costos	
			Mensual	Anual
Jefe de producción	1	U\$ 700.00	U\$ 945.00	U\$ 11,340.00
Supervisor de producción	1	U\$ 500.00	U\$ 675.00	U\$ 8,100.00
Auxiliar administrativo	1	U\$ 400.00	U\$ 540.00	U\$ 6,480.00
			TOTAL	U\$ 25,920.00

Mantenimiento

Se incluye el costo de los suministros necesarios y los salarios del personal de mantenimiento. Se puede estimar entre 7 – 11 % del capital fijo de inversión de la planta debido a la complejidad de los equipos utilizados.

$$Costos_{Mantenimiento} = (Costos\ fijo\ de\ inversión) \times (11\%) \quad (7.33)$$

$$Costos_{Mantenimiento} = (U\$ 528,957.88) \times (11\%) \quad (7.34)$$

$$Costos_{Mantenimiento} = U\$ 58,185.37 \quad (7.35)$$

Costos de Suministros

Electricidad

El costo de la electricidad para diciembre del 2022 en Nicaragua para el sector industrial es **6.5622** córdobas por kilovatio hora (BCN, 2023).

Conversión de moneda:

$$6.5622 \frac{C\$}{kW \cdot h} \times \frac{U\$ 1}{C\$ 36.3349} = 0.1806 \frac{U\$}{kW \cdot h} \quad (7.36)$$

Para determinar el costo anual de la electricidad se utilizó la siguiente ecuación:

$$C_{Electricidad\ anual} = (Consumo_{kW \cdot h\ equipo}) \times (hr_{batch}) \times (Batch_{Año}) \times Costo_{kW \cdot h} \quad (7.37)$$

Tabla 7.4. Costo-Consumo Anual de Electricidad

ITEM	EQUIPO	CANTIDAD	CONSUMO [kW/h]	h/batch	CONSUMO/BATCH	CONSUMO ANUAL [kW]	COSTO ANUAL [U\$]
1	Tanque de agua 5000 L	2	1.1	5.0	11.0	3,096.00	1,462.14
2	Biorreactor	1	15.0	2.0	30.0	8,370.00	1,511.62
3	Bombas	5	2.2	2.0	22.0	6,138.00	1,108.52
4	Centrífuga de discos	1	15.0	2.0	30.0	8,370.00	1,511.62
5	Secador directo	1	4.0	2.0	8.0	2,232.00	403.01
6	Mezclador sólido-sólido	1	5.5	2.0	10.0	2,790.00	503.87
7	Empaquetadora	1	1.4	2.0	2.8	781.20	141.08
TOTAL							6,641.86

Costos de agua en la planta

El costo de agua en promedio para diciembre del 2022 en Nicaragua para el sector industrial es **34.2073** córdobas por metro cúbico (BCN, 2023).

Conversión de moneda:

$$34.2073 \frac{C\$}{m^3} \times \frac{U\$ 1}{C\$ 36.3349} = 0.9414 \frac{U\$}{m^3} \quad (7.38)$$

Costo anual de agua

$$Costo_{Agua} = (Consumo\ anual) \times Precio \quad (7.39)$$

Proceso productivo

$$Costo_{Agua} = \left(279 \frac{m^3}{año}\right) \times 0.9414 \frac{U\$}{m^3} = 262.65 \frac{U\$}{año} \quad (7.40)$$

Personal

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), son necesarios entre 50 y 100 litros de agua por persona al día para garantizar que se cubren las necesidades básicas y que no surjan grandes amenazas para la salud (UN, 2023).

$$Agua_{Personal} = (N^{\circ}\ personas) \times 100 \frac{L}{día} \times \frac{1m^3}{1000\ L} \quad (7.41)$$

$$Agua_{Personal} = (N^{\circ}\ personas) \times 0.1\ m^3 \quad (7.42)$$

$$Agua_{Personal} = (14) \times 0.1 \frac{m^3}{día} = 1.4 \frac{m^3}{día} \quad (7.43)$$

$$Agua_{Personal} = 1.4 \frac{m^3}{día} \times \frac{257\ día}{año} = 359.8 \frac{m^3}{año} \quad (7.44)$$

$$Costo_{Agua\ Personal} = \left(359.8 \frac{m^3}{año}\right) \times 0.9414 \frac{U\$}{m^3} = 338.71 \frac{U\$}{año} \quad (7.45)$$

Otros usos

Incluyen consumo de agua en limpieza de equipos y limpieza general de la planta.

La limpieza y el saneamiento pueden representar una gran parte -hasta un 40% o más- del agua utilizada en las instalaciones industriales.

Debido a la naturaleza del bioproceso se estimará el consumo de agua para otros usos como el 50% del consumo total.

$$Costo_{Agua\ otros\ usos} = (Consumo_{Proceso} + Consumo_{Personal}) \times Precio \quad (7.46)$$

$$Costo_{Agua\ otros\ usos} = \left(565.4 \frac{m^3}{año}\right) \times 0.9414 \frac{U\$}{m^3} = 532.27 \frac{U\$}{año} \quad (7.47)$$

Tabla 7.5. Costo-Consumo Anual de Agua

Agua	Consumo diario	Consumo Anual	Costo Anual (US\$)
Proceso productivo	1.00 m ³	279.00 m ³	262.65
Personal	1.40 m ³	359.80 m ³	338.71
Otros usos	2.2 m ³	565.4 m ³	532.27
		TOTAL	U\$ 1,133.63

Laboratorio

En toda planta se necesitan llevar a cabo controles del proceso, análisis biológicos, físicos y químicos, etc., los cuales dependen de la complejidad del proceso e implican un costo como tal. Los mismos pueden estimarse entre un 10 – 20 % del costo de los salarios vinculados a la producción (Fernández et. Al, 2002).

$$Costos_{Laboratorio} = (Costos_{Mano\ de\ obra}) \times (20\%) \quad (7.48)$$

$$Costos_{Laboratorio} = (US\$ 71,815.25) \times (20\%) = \mathbf{US\$ 14,363.05} \quad (7.49)$$

6.3. SELECCIÓN DE EQUIPOS


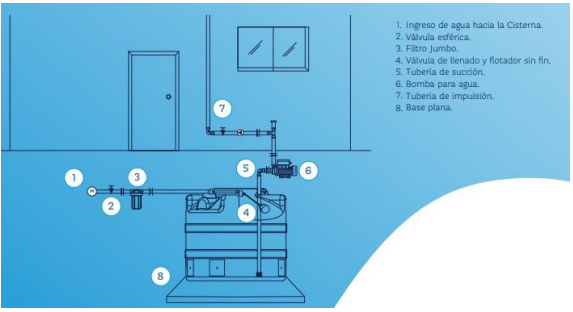
6.3.1. Tanques de almacenamiento de agua

Se eligió para el proceso dos unidades del tanque de almacenamiento detallado en la hoja técnica, debido a la disponibilidad de entrega en el país, además de también tener amplio stock de repuestos y fácil mantenimiento.

El equipo también incluye en el precio la tubería de instalación, filtros de carbón activado y su bomba dosificadora del tubo madre de agua, hacia el tanque lo que generara un mayor control en el llenado.

Se toma en cuenta dos unidades debido al proceso de desclorificación que se someterá el agua para proceso para que no afecte tanto en la mezcla con la melaza y que tampoco afecte en el proceso de bioreacción. Primero se usará el tanque que ya haya completado con los parámetros de medición de cloro libre DPD.

Ilustración 7.2. Ficha técnica de tanque de almacenamiento

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: TANQUE DE AGUA 5000 LITROS Modelo: 701085		
Precio: US\$ 17000	Proveedor: ROTOPLAST	Material: POLIPROPILENO DE ALTA DURACION HDPE
Dimensiones: Diametro 2.20 altura 1.70 INCLUYE: bomba, tubería y filtros CAPACIDAD: 5000 LITROS		
Principio de funcionamiento: Fabricada con polietileno de alta densidad 100% virgen, que cumple con la norma FDA (Food and Drug Administration de los EE.UU) – grado alimenticio.		
Modalidad de operación: SEMI Automática		
Esquema del equipo:		
		<ol style="list-style-type: none">1. Ingreso de agua hacia la Cisterna.2. Válvula esférica.3. Filtro Jumbo.4. Válvula de llenado y flotador sin fin.5. Tubería de succión.6. Bomba para agua.7. Tubería de impulsión.8. Base plana.

6.3.2. Biorreactor de mezcla

En este reactor de capacidad nominal de 1417 litros (1000 litros de útiles de volumen) se realizará la mezcla del producto resultante de los biorreactores (250 litros x 4 unidades biorreactoras= 1000 litros).

Tomando en cuenta el escalamiento y criterio de similaridad o semejanza, se brindaran las mismas condiciones en que se encontraban en sus biorreactores de procedencia, por lo tanto todas las variables deben de controlarse de igual forma.

Ilustración 7.4. Ficha técnica de biorreactor

<u>Hoja de especificación del equipo</u>		
Nombre del equipo: Biorreactor Estándar de 1417 Litros Nominales (300 a 1,000L útiles) SS316		
Modelo: BIOF1000CLCRTL		
Precio: \$159837.975	Proveedor: inoximexico	Material: acero inoxidable tipo SS316
Dimensiones: 2.16 x 2.06 x 4.65 m Fuente de alimentación: 3.73 kW (5 hp) aire: Se integra skid con entrada de aire con filtro de acero sinterizado de 0.2micras con rotámetro para regulación del aire con capacidad de 1VVM mediante dona de aireación o piedra de aireación. Consumo de aire, presión: 20 PSI	Temperatura a 40-50 grados C Velocidad de mezcla: Se integra sistema de agitación tipo rushton de 2 HP con motorreductor con velocidad variable de 0 a 350RPM	
Principio de funcionamiento: Presión de trabajo de esterilización de hasta 29PSI y presión de trabajo con agitador de hasta 21PSI. Acabado interior con acabado espejo y conexiones sanitarias incluye un modulo de calentamiento de agua para el calentamiento del bioproceso para calentamiento de hasta 40-50 grados C del bioproceso.		
Modalidad de operación: Puede operar el equipo de manera manual o manera automática. Incluye rutina de esterilización manual o automática		
Esquema del equipo:		
		

6.3.3. Bombas sanitarias para proceso

Se tomarán en cuenta 5 bombas sanitarias centrifugas de fácil lavado, de las cuales 4 pertenecen a cada reactor para garantizar la integridad de sus propiedades

fisicoquímicas al final de su tiempo de incubación en el tiempo requerido, la última pertenece al último reactor de 1000 litros para bombeo a la dosificadora para envasado.

Ilustración 7.5. Ficha técnica de bomba

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: Alfa Laval LKH Prime Modelo: IEC90		
Precio: US\$ 2484	Proveedor: LKH Prime-20	Material del tambor: Piezas de acero bañadas por producto: W. 1.4404 (316L).
Dimensiones: 0.157x0.288x0.434 metros Potencia del motor: 2.2kw=2.9HP Presión de entrada máx: 500 kPa (5 bares)		Capacidad: 1000 L/H Velocidad de rotación del motor: 900 - 3600 r.p.m
Principio de funcionamiento: La LKH Prime es una bomba autocebante de alta eficacia que cumple con los requisitos de las aplicaciones sanitarias.		
Modalidad de operación: Automática		
Esquema del equipo:		
		


6.3.4. Centrífuga de discos

Ilustración 7.6. Ficha técnica de centrífuga

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: Máquina de separación de emulsiones de aceite, separador de disco de centrífuga Modelo: DBY211		
Precio: U\$16,800.00	Proveedor: Shenzhou	Material: acero inoxidable tipo SS316
Dimensiones: 1.8 m x 1.2 m x 1.75 m Fuente de alimentación: 15 kW		Presión Entrada: 0.05 Mpa Presión Salida: 0.1 – 0.4 Mpa
Modalidad de operación: Puede operar el equipo de manera manual o manera automática. Incluye rutina de esterilización manual o automática		
Esquema del equipo: <div style="text-align: center;"> </div>		

6.3.5. Secador directo

Ilustración 7.7. Ficha técnica de secador

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: Rotary Dryer Modelo: Hengchang - Rotary Dryer		
Precio: U\$10,000.00	Proveedor: Hengchang	Material: acero inoxidable tipo SS316
Dimensiones: 2*1.2*2m x 5*2*2m x 1.2*2m Fuente de alimentación: 4 kW		Rango de Temperaturas: 700°C a 800°C Velocidad de rotación: 3-8 RPM
Modalidad de operación: Puede operar el equipo de manera manual o manera automática. Incluye rutina de esterilización manual o automática		
Esquema del equipo: 		


6.3.6. Mezclador Sólido – Sólido

Ilustración 7.8. Ficha técnica de mezclador

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: Mezcladora planetaria P 600 Modelo: P 600		
Precio: U\$4,878.02	Proveedor: Brabender	Material: acero inoxidable tipo SS316
Dimensiones: 2 m x 0.6 m x 1.5 m Fuente de alimentación: 4 kW		Temperatura de Operación: 150°C
Modalidad de operación: Puede operar el equipo de manera manual o manera automática. Incluye rutina de esterilización manual o automática		
Esquema del equipo: 		

6.3.7. Empaquetadora

Ilustración 7.9. Ficha técnica de empaquetadora

Hoja de especificación del equipo		
Nombre del equipo: Flow Pack 450 Modelo: Flow Pack 450		
Precio: U\$3,800.00	Proveedor: Brabender	Material: acero inoxidable tipo SS316
Dimensiones: 4.4 m x 0.94 m x 1.5 m Fuente de alimentación: 2.4 kW		Tamaño de la bolsa (largo): 15 a 350 mm Tamaño de la bolsa (ancho): 60 a 210 mm
Modalidad de operación: Puede operar el equipo de manera manual o manera automática. Incluye rutina de esterilización manual o automática		
Esquema del equipo: 		

6.4. EVALUACIÓN DE COSTOS

6.4.1. Costos de Inversión

Tabla 7.6. Costos de Inversión

Costos directos	Porcentaje (Equipamiento)	Costo estimado
Equipamiento	100%	U\$ 218,577.65
Instalación	47%	U\$ 102,731.46
Instrumentación y control	18%	U\$ 39,343.98
Tuberías	66%	U\$ 144,261.25
Instalación eléctrica	11%	U\$ 24,043.54
Costos total directo		U\$ 528,957.88

6.4.2. Costo de producción

Tabla 7.6. Costos de Producción

Costos directos	Costo estimado
Materia prima	U\$ 5,057.36
Mano de obra directa	U\$ 29,393.28
Mano de obra indirecta	U\$ 25,920.00
Mantenimiento	U\$ 58,185.37
Energía eléctrica	U\$ 6,641.86
Agua	U\$ 1,133.63
Laboratorio	U\$ 14,363.05
Costos totales	U\$ 140,694.55

7. CONCLUSIONES

En el presente documento, se logró diseñar el diseño tecnológico del proceso productivo de un bioplaguicida amigable con el medio ambiente a partir de la bacteria *Bacillus subtilis*.

Se determinó, de acuerdo a los resultados obtenidos en el espectrofotómetro, que el rango de concentraciones de la bacteria *Bacillus subtilis* está entre los $5.32E+08$ a $6.21E+08$ UFC/mL en un período de 5 horas. Del balance de materia a nivel de laboratorio y aplicando el principio de similitud para el crecimiento bacteriano que, por cada 1000 kg de producto fermentado, se obtienen 120 kg de producto final al día. También se dimensionaron los equipos necesarios para esta operación: tanque de agua, biorreactor, caldera, bombas, centrífuga de discos, secador directo, mezclador sólido-sólido y empaquetadora. Además, se consultó la disponibilidad de estos equipos en el mercado y se seleccionaron de acuerdo a los requerimientos de nuestro diseño.

Se optó por un proceso por lotes para el diseño del equipo que forma el núcleo del proceso, ya que el proceso productivo (fermentación) tiene esta característica. El sistema asegura las condiciones físicas, químicas y biológicas necesarias para que los sustratos se conviertan en biomasa con propiedades bioplaguicida.

Para industrializar el proceso de producción del bioplaguicida con base en *Bacillus subtilis* se necesita un costo de inversión de **U\$ 528,957.88**, ya que el equipo tiene un diseño muy especializado para lograr un proceso productivo altamente eficiente. Sin embargo, los costos de producción anual solo son de **U\$ 140,694.55**, lo que puede generar más beneficios para la empresa e introducir un producto al mercado que apoye a la agricultura sostenible en Nicaragua.

8. RECOMENDACIONES

Se consideraron los siguientes elementos para la realización de este proyecto:

1. Realizar el estudio de prefactibilidad y factibilidad para la instalación de una planta procesadora de bioplaguicida sólido a nivel industrial.
2. Desarrollar el plan de negocios y mercadeo para la producción de bioplaguicida sólido a nivel industrial.
3. Realizar alianzas con las instituciones pertinentes para la incorporación y promoción del bioplaguicida sólido.
4. Construir modelos a escala piloto para la propagación y producción del bioplaguicida sólido.

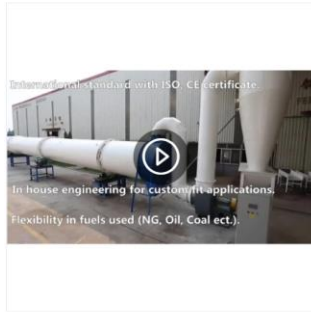
9. BIBLIOGRAFÍA

- Ayestas, M., & Talavera, B. (2018). *Desarrollo de un bioplaguicida a base de bacillus subtilis y determinación de su efecto antifúngico contra alternaria alternata, fusarium equiseti y fusarium sp en el cultivo de papa (solanum tuberosum l) en condiciones de invernadero*. Managua: UNI.
- Bastidas, O. (s.f). <http://www.celeromics.com>. Obtenido de <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>
- Bedmar, F. (2011). *Informe especial sobre plaguicidas agrícolas*. Buenos Aires, Argentina: Ciencia Hoy.
- Broca Pérez, B. (22 de Junio de 2009). *Repositorio Dspace*. Obtenido de Repositorio de Tesis del Instituto Politécnico Nacional: <http://tesis.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/3767/1/EVALUACIONEXPERIMENTAL.pdf>
- Cobas, H. e. (2007). Aplicación de la voltametría en el análisis del crecimiento microbiológico. *VII Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería, 2007*. La Habana, Cuba.
- De Schutter, O. (2017). Special Rapporteur on rights to food. *UN Human Rights Council*.
- Djaenuddin. (2020). Effectiveness of Bacillus subtilis TM4 biopesticide formulation as biocontrol agent against maydis leaf blight disease on corn. *IOPE Conference Series: Earth and Environmental Science*, 484.
- Errington, J., & Aart, L. T. (Mayo de 2020). Microbe Profile: Bacillus subtilis: model organism for cellular development, and industrial workhorse. *National Library of Medicine*, 425-427.
- Flores, M., & Roque, E. (2017). *Aislamiento y caracterización microbiana (microbiológica y molecular) en la búsqueda de Bacillus subtilis a partir de bioinsumos comerciales y pruebas de antagonismo frente a hongos fitopatógenos*. Managua.
- González, V. (12 de Febrero de 2013). *La Guía*. Obtenido de La Guía: <https://biologia.laguia2000.com/tecnicas-en-biologia/tecnicas-para-medir-el-crecimiento-bacteriano>
- Jiménez-Martínez, E. M. (2020). Insecticidas botánicos registrados y no registrados en Nicaragua. *Revista Universitaria del Caribe*, 131-141.
- Kumar, J. e. (2021). An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. *Plants*, 10-25.
- Leng, P. (2011). Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*, 19864-19873.

- Madigan, M. e. (2015). *Brock Microbiology of Microorganisms*. Boston: Pearson.
- Maier, R. M. (2015). *Environmental microbiology*. London: Academic Press.
- Markets, M. A. (2020). *Top Trends in the Agricultural Biologicals Market by Agricultural Biologicals, Biocontrols, Bio fungicides, Bioinsecticides, Bio nematocides, Biostimulants, Biofertilizers, Inoculants, Pheromones, Biological Seed Treatment - Global Forecast to 2026*. Obtenido de MarketsAndMarkets: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/top-10-trend-agricultural-biological-market-139215554.html>
- McCoy, K. (2 de Noviembre de 2017). *Solutions Stores*. Obtenido de Solutions Pest & Lawn: <https://www.solutionsstores.com/pesticide-granules>
- Mcghee, M. (2008). *A guide to laboratory investigation*. London: Raddclife Publishing Ltd.
- ONU. (2022). *World Population Prospects 2022*. ONU Department of Economic and Social Affairs.
- Orberá, T. d., & al., e. (2014). Potential applications of Bacillus subtilis strain SR/B-16. *Biotecnología Aplicada*, 14-15.
- Panikov, N. S. (1995). *Microbial Growth Kinetics*. Londres: Chapman & Hall.
- Páramo, L. (2014). *Practica de laboratorio. Temas I y II: Cinética enzimática y Cinética microbiana. Modulo IV: Pricipios de ingeniería de los bioprocesos. Maestría Interinstitucional en Biotecnología*. Managua.
- Pedrique, M., & De Castro, N. (2008). Reproducción y Crecimiento Microbiano. *Catedra de Microbiología - Facultad de Farmacia* (págs. 1 -23). UCV.
- Ramirez, J. (2012). Bioplaguicidas. *Info Agro*.
- Romero, D. e. (2007). The iturin and fengcyn families lipopeptides are key factors in antagonism of Bacillys Subtilis toward podosphaera fusca. *Mol Plant Microbe Interact*, 430-440.
- Salvucci, E. (2018). *Micro, Macro y Súper: Los Organismos en Red*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Brujas.
- Scragg, A. (1996). *Biotecnología para ingenieros: sistemas biológicos en procesos tecnológicos. 1ra.Edición*. México: Limusa .
- Soldea, C. M. (2009). *Pesticides—Property—Accessibility*. Bucarest: Matrix Rom.
- Stein, T. (2005). Antibióticos de Bacillus Subtilis: estructura, síntesis y funciones específicas. *National Library of Medicine*.
- Yadav, R. e. (2022). Biopesticides: Current status and future prospects. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*.

ANEXOS

Anexo II: Fichas técnicas



Favoritos [Compartir](#) [Facebook](#) [Twitter](#) [LinkedIn](#) [WhatsApp](#)

Venta directa de fábrica utilizado equipos de secado de biomasa astillas de madera Bagass Aserrín de virutas de madera la yuca posos de paja de arroz Aceite de orujo de la máquina secador rotativo

Precio FOB de Referencia [Conseguir Precio Último >](#)

US\$ 10.000,00 / set | 1 set (Pedido Mínimo)

After-sales Service: Video Technical Support, Engineers Available to Se

Warranty: 2year

movimiento Hacia: Agitación

Atomización: La atomización rotativa

Fluir: Custom Made

Modo de calefacción: convectivo

Contactar al Proveedor [📧](#)

Ms. Freda Pei
Manager

[✉️ Contacta Ahora](#)

[🗣️ Charlar](#)

Gongyi Hengchang Metallurgical Building...

[📌](#) Miembro Diamante Desde 2009

[📌](#) Proveedor Auditado

Fabricante/Fábrica & Empresa Comercial

[Máquina de separación de emulsiones de aceite, separador de disco de centrífuga, 400L, precio de fábrica](#)



[Ver imagen más grande](#)



Añadir para c... Compartir

Máquina de separación de emulsiones de aceite, separador de disco de centrífuga, 400L, precio de fábrica

>= 1 Unidades
16.800,00 US\$

Beneficios: US \$10 de descuento con un nuevo proveedor [Reclamar ahora >](#)

Número de Modelo:

Plazo de entrega: ⓘ

Quantity (Unidades)	1 - 1	> 1
Hora del Est.(días)	30	Para negociar

Personalización: Logotipo personalizado (Pedido mínimo 1 Unidad)

Embalaje personalizado (Pedido mínimo 1 Unidad)

More [v](#)

Detalles de la compra Protección con Trade Assurance

Envío: [Comunícate con el proveedor](#) para negociar los detalles del envío
Disfruta **Garantía de envío a tiempo** ⓘ

Pagos: [...](#)

Disfruta de pagos cifrados y seguros [Ver detalles](#)

Devoluciones y reembolsos [Elegible para devoluciones y reembolsos](#) [Ver detalles](#)

Para consultar por precios de productos, personalizaciones u otra información:

[✉️ Contactar Proveedor](#)

[🗣️ Chatear ahora](#)

Verified supplier

Liaoyang Shenzhou Machinery Equi...

Proveedor multi-especialidad

GM de XR Exposición de realidad virtual

Puntuación de la ti... Tasa de entregas a...
5,0/5 **100.0%**

Tiempo de respuesta Ingresos de export...
≤6h **\$90,000+ USD ...**

Superficie Personal
200m² **16**

Servicios

Personalización menor

Adquisición centralizada disponi...

Certificados [>](#)

[Certificados](#)

[Perfil de la empresa](#)

[Visitar tienda](#)



Ficha técnica

Cisterna para agua de 5,000 L

Rotoplas 2022

Fabricada con polietileno de alta densidad 100% virgen, que cumple con la norma FDA (Food and Drug Administration de los EE.UU.) - grado alimenticio.

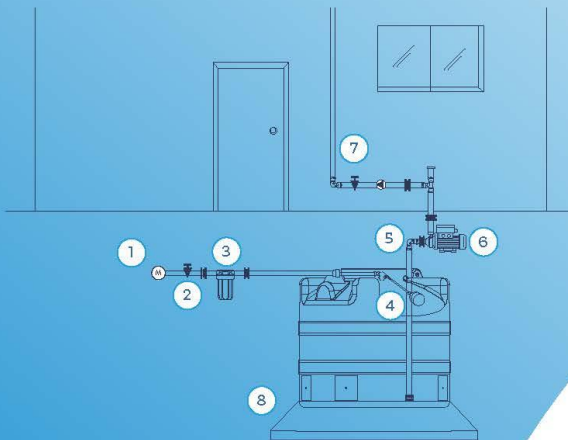
Ideal para almacenar agua, posee exclusiva capa interior antibacterial AB, la cual reduce la reproducción de microorganismos (algas y bacterias).



Beneficios

- Cuidamos tu inversión: Recibe más por tu dinero. Tu cisterna Rotoplas es fabricada en el Perú con **polietileno de alta densidad 100% virgen y personal calificado que nos permite brindar garantía de por vida** ante fallas de fabricación.
- Cuidamos tu salud: Rotoplas posee una exclusiva capa interior blanca anti bacterias, que inhibe el crecimiento y reproducción de bacterias y nos permite visualizar la pureza del agua.
- **No se agrieta ni se fisura, evitando fugas y contaminaciones.**
- Tapa click de cierre con sujeción perfecta que protege el agua almacenada.
- **Equipada con tubo de succión de 1", válvula y flotador de llenado sin fin.**
- Cuenta con anillos de refuerzo para una mayor resistencia. Con cuatro hombros en la parte superior.
- Ahorra espacio ya que esta diseñada para ser enterrada.

Esquema de instalación de la Cisterna



1. Ingreso de agua hacia la Cisterna.
2. Válvula esférica.
3. Filtro Jumbo.
4. **Válvula de llenado y flotador sin fin.**
5. Tubería de succión.
6. Bomba para agua.
7. Tubería de impulsión.
8. Base plana.

Mezcladora planetaria P 600

batch de polvo para la industria agroalimentaria

Vendedor:

Brabender GmbH & Co. KG Alemania

★★★★★ Calidad de respuesta (22 opiniones)



€ Solicitar tarifas y complementos

📅 Solicitar presupuesto personalizado

MAQUINA EMBOLSADORA HORIZONTAL

DESEMPEÑO Y CAPACIDAD DE LA MAQUINA AUTOMATICA FLOW PACK, MODELO 450



CAPACIDAD:

30 A 150 PIEZAS/MIN

TAMAÑO DE LA BOLSA (LARGO):

15 A 350 MM

TAMAÑO DE LA BOLSA (ANCHO):

60 A 210 MM

ALTO DEL PRODUCTO:

70 MM

ANCHO DE LA PELICULA:

460 MM

ENERGIA:

2.4 KW

PESO:

800 KG

VOLTAJE:

220V A 60HZ

DIMENSIONES:

4400(L) x 940(W) x 1520(H)