

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

*Diseño de una planta piloto basado en la extracción de bioestimulantes de la macroalga *Kappaphycus alvarezii* con aplicación al sector agrícola*

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del título de:

Ingeniero Químico

Presentado por:

Ronnie Alexis Murillo Carvajal

Rubén Josué Romo González

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres cuyo sacrificio hizo posible mi educación, especialmente a mi madre Pilar González por todo el amor, cariño y cuidado que me ha mostrado, a mi esposa por su apoyo y cariño constante, a mis amigos y profesores de quienes aprendí a ser un ejemplo de persona culta y educada, y a quienes me apoyaron durante la carrera al confiar en mis conocimientos y habilidades. Dedico este proyecto a mis padres Félix Murillo y Beatriz Carvajal, a mi hermana Dennisse Murillo quienes siempre estuvieron a mi lado apoyándome de forma incondicional a lo largo de mi vida, siempre impulsándome a ser la mejor persona que pudiera ser, y que sin ellos no habría llegado a donde estoy el día de hoy. A mis compañeros y amigos con los que tuve cientos de valiosas experiencias, y con quienes sé que puedo contar cuando más lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos a todos nuestros profesores quienes nos enseñaron con verdadera vocación, a nuestra tutora PhD Patricia Manzano ya que su constante ayuda y guía fue relevante para el desarrollo de nuestro proyecto integrador.

Profundo agradecimiento a las autoridades de la ESPOL por todos los programas disponibles para el estudiante politécnico.

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Ronnie Murillo y Rubén Romo* y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Ronnie Murillo



Rubén Romo

EVALUADORES

NADIA MAGALY
FLORES
MANRIQUE



Firmado digitalmente
por NADIA MAGALY
FLORES MANRIQUE
Fecha: 2021.10.25
10:30:30 -05'00'

.....
Nadia Flores, Mg

PROFESOR DE LA MATERIA

Patricia
Manzano
Santana



Firmado
digitalmente por
Patricia Manzano
Santana
Fecha: 2021.09.27
12:39:46 -05'00'

.....
Patricia Manzano Santana, PhD

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Las condiciones de los cultivos ecuatorianos presentan deterioro tras años de uso excesivo de insumos agroquímicos importados y falta de rotación de cultivos, esto provoca una pérdida del 20% de las cosechas. Para contrarrestar estos efectos se incurre en el uso de fertilizantes y agua en exceso que eleva los costos de producción en un 35%. La presente investigación propone un diseño de planta para la producción de zumo bioestimulante extraíble de la macroalga *Kappaphycus alvarezii*. El diseño debe ser un método verde y económicamente viable y para ello, se recopiló la información de múltiples fuentes bibliográficas sobre los métodos de extracción comúnmente aplicados. Se consideró una serie de equipos y reactivos los cuales representan la escala industrial de los experimentos realizados por otros investigadores.

Se realizó el análisis de costos para estimar la viabilidad económica de la planta, la cual incluye gastos diarios de producción, inversión de equipos, pagos de nómina, reactivos y comercialización de productos los cuales generan 4000 kg de líquido bioestimulante y 15 kg de k-carragenina diariamente representando una rentabilidad mensual de \$7200, esta ganancia neta mensual amortiza la inversión después de 11 meses de la puesta en marcha de la planta piloto.

Se concluye que el proyecto tiene alto potencial de aplicación nacional ya que es un mercado no explotado, numerosas investigaciones quedan aún por realizarse con respecto al cultivo de la macroalga *Kappaphycus alvarezii* como fuente de ingreso para los agricultores y la aplicación del líquido bioestimulante en el agro ecuatoriano.

Palabras Clave: *Kappaphycus alvarezii*, bioestimulantes, k-carragenina, extracción verde

ABSTRACT

The conditions of Ecuadorian crops show deterioration after years of excessive use of imported agrochemical inputs and lack of crop rotation, this cause a loss of 20% of crops. To counteract these effects, the use of fertilizers and excess water is incurred which raises production costs by 35%. The present investigation proposes a plant design for the production of bio stimulant juice from macroalgae Kappaphycus alvarezii. The design must be a green and economically viable method and for this, information was collected from multiple bibliographic sources on commonly applied extraction methods. A series of equipment and reagents was considered which represent the industrial scale of the experiments carried out by other researchers.

The cost analysis was carried out to estimate the economic viability of the plant, which includes daily production expenses, equipment investment, payroll payments, reagents and product marketing, which daily generate 4000 kg of liquid bio stimulant and 15 kg of solid k- Carrageenan representing a monthly profitability of \$ 7,200, this monthly net profit amortizes the investment after 11 months of start-up.

It is concluded that the project has high potential for national application since it is an unexploited market; numerous investigations have yet to be carried out regarding the cultivation of the macroalgae Kappaphycus alvarezzi as a source of income for farmers and the application of the bio stimulant liquid in Ecuadorian agriculture.

Keywords: *Kappaphycus alvarezzi, bio stimulants, k-carrageenan, green extraction.*

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES	5
RESUMEN	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	V
SIMBOLOGÍA	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
CAPÍTULO 1	
1. Introducción	2
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Justificación del problema	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo General	4
1.3.2 Objetivos Específicos	4
1.4 Marco Teórico	4
1.4.1 Bioestimulantes: Un aliado de la naturaleza	4
1.4.2 Algas marinas	5
1.4.3 <i>Kappaphycus alvarezii</i> : Una planta con mucho que dar	6
1.4.4 Componentes presentes en la macroalga <i>K. alvarezii</i>	8
1.4.5 Métodos de extracción conocidos	12
CAPÍTULO 2	
2. Metodología	13
2.1 Tipo de investigación	13
2.2 Diseño de investigación	13
2.3 Parámetros y condiciones de operación de extracción de fitohormonas y carragenina	13
2.4 Características de diferentes métodos de extracción para compuestos bioestimulantes	14

2.5	Concentraciones efectivas para producción de zumo bioestimulante	15
2.5.1	Germinación de semillas de judías verdes	16
2.5.2	Altura de la planta de judías verdes	16
2.5.3	Altura y rendimiento de planta de trigo	17
2.5.4	Valor nutricional de plantas de trigo	17
2.5.5	Absorción de nutrientes de planta de trigo	18
2.6	Descripción del proceso de extracción de la planta piloto	18
CAPÍTULO 3		
3.	Resultados y Análisis	23
3.1	Análisis de Costos	27
CAPÍTULO 4		
4.	Conclusiones y Recomendaciones	32
	Conclusiones	32
	Recomendaciones	33
	BIBLIOGRAFÍA	35
	APÉNDICES	38

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
PIB	Producto Interno Bruto
GA	Ácido Giberélico
ELB	Extracto Líquido Bioestimulante
SO	Sólido Orgánico
CSR	Carragenina Semirrefinada

SIMBOLOGÍA

cm	centímetro
m	metro
ppm	parte por millón
p/p	porcentaje peso/peso
m ³	metro cúbico
g	gramo
Kg	Kilogramo
tn	tonelada
ha	hectárea
°C	Celsius
pH	Potencial de hidrógeno
K	Potasio
Na	Sodio
Mg	Magnesio
P	Fósforo
Ca	Calcio
S	Azufre
N	Nitrógeno
Mn	Manganeso
Zn	Zinc
Fe	Hierro
Cu	Cobre
KCl	Cloruro de potasio
KOH	Hidróxido de potasio

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Estructura química de carragenina tipo Kappa I y II, Iota y Lambda	9
Figura 1.2 Estructura química del ácido indol-3-acético – auxina	10
Figura 1.3 Estructura química del ácido giberélico GA3 – giberelina	10
Figura 1.4 Estructura química de la zeatina – citoquinina	10
Figura 2.1 Diagrama de bloques para el aislamiento de K-carragenina extraída de la macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i>	21
Figura 2.2 Diagrama de bloques para el aislamiento, acondicionamiento, identificación y cuantificación de fitohormonas extraídas de la macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i>	21
Figura 3.1 Diagrama de flujo de procesos de la planta piloto para la extracción de zumo bioestimulante	26
Figura 3.2 Proyección de rentabilidad de la planta piloto	31
Figura 3.3 Meses de retorno de inversión por precio de kilogramo ELB	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Compuestos presentes en las macroalgas	6
Tabla 1.2 Composición química de <i>K. alvarezii</i>	7
Tabla 1.3 Resultados analíticos de bromatología en algas marinas	8
Tabla 2.1 Parámetros para la extracción y conservación de fitohormonas y K-carragenina	14
Tabla 2.2 Características de diferentes métodos de extracción para compuestos bioestimulantes	15
Tabla 2.3 Estudio de las concentraciones de ELB en la germinación de semillas de judías verdes	16
Tabla 2.4 Estudio de las concentraciones de ELB en el crecimiento de plantas de judías verdes	16
Tabla 2.5 Estudio de las concentraciones de ELB en crecimiento y rendimiento de la planta de trigo	17
Tabla 2.6 Estudio de las concentraciones de ELB en el contenido nutricional de la planta de trigo (mg/100 g)	18
Tabla 2.7 Efecto de diferentes concentraciones de ELB en la absorción de nutrientes de la planta de trigo (mg/100 g)	18
Tabla 2.8 Equipos básicos necesarios para el proceso de planta	22
Tabla 3.1 Porcentajes de mejora de las características físicas y rendimiento a diferentes concentraciones de ELB aplicado en cultivos de trigo	25
Tabla 3.2 Porcentajes de mejora del valor nutricional a diferentes concentraciones de ELB aplicado en cultivos de trigo	25
Tabla 3.3 Costos de diferentes equipos necesarios para la planta	27
Tabla 3.4 Costos de los reactivos necesarios	27
Tabla 3.5 Consumo energético diario	28
Tabla 3.6 Gastos de producción por cada día	28
Tabla 3.7 Ingresos de producción por cada día	29
Tabla 3.8 Inversión inicial para puesta en marcha	29
Tabla 3.9 Balance de ganancia neta mensual	30
Tabla 3.10 Flujo de caja y rentabilidad	30
Tabla 3.11 Análisis de rentabilidad para diferentes precios de ELB	31

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

La especie *Kappaphycus alvarezii* es una de las macroalgas más cultivadas en el mundo, cambiando los aspectos sociales y económicos de diversos países cuyas granjas comerciales fueron establecidas en poco tiempo, países como Filipinas, Indonesia y Tanzania. (Hayashi, Hurtado, Msuya, Bleicher-Lhonneur, & Critchley, 2010)

Las algas son consideradas una fuente saludable de alimentos con bajo contenido calórico y alto contenido mineral, con cantidades significantes de proteínas, vitaminas, y una amplia gama de metabolitos secundarios no encontrados en otros organismos. Debido a las propiedades nutritivas mencionadas, estas macroalgas se vuelven particularmente atractivas. (Ferraces-Casais, Lage-Yusty, de Quirós, & López-Hernández, 2012)

Entre los diversos usos y beneficios de *Kappaphycus alvarezii* tenemos a la carragenina como fibra dietética, reductor de colesterol y fuente de antioxidantes, antivirales y componentes anticancerígenos, así como sus efectos en la actividad de hemaglutinación.

Fayaz (Fayaz et al., 2005), analizó la composición química de la macroalga *K. Alvarezii* y encontró que la especie es rica en proteína (16.2% p/p), fibra (29.4% p/p) y carbohidratos (27.4% p/p), con una alta proporción de ácidos grasos insaturados (44.5% del total; 11.0 % ácido oleico, 13.5% ácidos cis-heptadecenoico, 2,3% ácido linoleico) y ácidos grasos saturados (37.0% compuesto principalmente de ácido heptadecanoico).

En India, donde el uso de las especias es muy común, el polvo de *K. Alvarezii* ha sido indicado como un ingrediente para preparación de especias que

aumenten la calidad nutricional y el contenido de proteínas y fibras, la alta cantidad de vitamina E y las pequeñas cantidades de niacina y vitamina B2. (Senthil, Mamatha, Vishwanath, Bhat, & Ravishankar, 2011)

No hay duda de que la macroalga *Kappaphycus Alvarezii* tiene una amplia variedad de aplicaciones. Esta alga actualmente ya se está usando como aditivo de endurecimiento de gelatinas y otros alimentos. El presente estudio busca diseñar una planta piloto de extracción de bioestimulantes a partir de la macroalga *K. alvarezii* para su uso en la agricultura.

Los estudios de *K. alvarezii* también deben ir enfocados en métodos de mejoramiento de tecnologías de cultivo, estimular la acuicultura especialmente en sitios donde se presentan crecimientos invasivos de algas para mejorar los aspectos sociales y económicos de las localidades.

La macroalga *Kappaphycus alvarezii* tiene muchas cualidades que la hacen sumamente beneficiosa en numerosos aspectos cotidianos. Uno de estos beneficios es que puede ser usado como fertilizante natural para el sector agrícola, sin embargo, no se le está dando este uso en la actualidad.

1.2 Justificación del problema

El proyecto pretende disminuir las importaciones de insumos de uso agrícola empleados para mantener las condiciones óptimas del producto, al elaborar de forma local un proceso del que se obtendría un producto natural libre de químicos capaz de mantener y mejorar la productividad y calidad de los sembradíos de igual manera que lo harían los productos importados. Lo que reduciría la cantidad de inversión económica del sector agrícola para mantener sus cultivos en óptimas condiciones. Esto repercute en los productores de la macroalga *Kappaphycus alvarezii* mediante la expansión de su uso como bioestimulante generando un mayor ingreso para esta área.

El sector agrícola abarca el 8% del PIB del Ecuador (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2019). Sin duda alguna el desarrollo de bioestimulantes tiene un amplio alcance nacional, por lo tanto, es un producto viable y con un amplio mercado ya establecido.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Diseñar una planta procesadora de extracción de zumos a partir de la especie de macroalga *Kappaphycus alvarezii* mediante técnicas analíticas y de optimización para el desarrollo de productos de uso agrícola.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Identificar un método de extracción verde que mantenga las propiedades nutraceuticas de la macroalga *Kappaphycus alvarezii* empleando un análisis bibliográfico para implementarse en el diseño de la planta piloto.
2. Evaluar la viabilidad económica de la planta a escala piloto a través de un balance de costos de instalación y puesta en marcha de la planta de producción de bioestimulantes.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Bioestimulantes: Un aliado de la naturaleza

Una de las definiciones más aceptadas a nivel internacional sobre los bioestimulantes fue dado por el doctor Patrick du Jardín, quien lo expone en sus palabras como:

Un bioestimulante es cualquier sustancia o microorganismo que, al aplicarse a las plantas, es capaz de mejorar la eficacia de estas en la absorción y asimilación de nutrientes, tolerancia a estrés biótico, abiótico o mejorar alguna de sus características agronómicas independientemente del contenido en nutrientes de la sustancia (du Jardín P., 2015, p. 3-14).

De la larga lista de sustancias y microorganismos que pueden ser considerados como bioestimulantes; los científicos, productores, reguladores y agricultores han llegado a un acuerdo para definir una clasificación para este tipo de compuestos en: ácidos húmicos y fúlvicos, aminoácidos, extractos de algas y plantas, quitosanos, hongos beneficiosos y bacterias beneficiosas (du Jardín P., 2015, p. 3-14). De los cuales a nivel internacional el 35% de los bioestimulantes son obtenidos a partir de las algas marinas ya sea de las macroalgas o microalgas (Traxco, 2018).

1.4.2 Algas marinas:

Según el museo de ciencias de Puerto Rico (Ecoexploratorio, 2020), las algas marinas son organismos protistas fotosintetizadores que no producen ni flores, ni frutos; además de carecer de raíces y hojas verdaderas. Su tamaño puede variar desde la escala microscópica hasta alcanzar tamaños de hasta 20 metros de longitud, por lo que se las agrupa en macro y microalgas. Enfocándonos en las macroalgas, estas normalmente se las clasifica por su coloración en algas pardas o Phaeophytas, algas verdes o Chlorophytas y algas rojas o Rhodophytas.

Du Jardín (du Jardin P., 2015, p. 3-14), explica que el uso de las algas marinas como bioestimulante es algo que se ha visualizado en tiempos modernos. Lo que ha llevado a la producción comercial de extractos de algas, compuestos purificados y otros constituyentes que promueven el crecimiento de las plantas. Por lo general, las macroalgas pueden contener altos niveles de polisacáridos, glicerol, reguladores de crecimiento y fitohormonas que juegan un papel importante en diversas actividades biológicas de las plantas (Pérez-Domínguez G, 2020, p. 4-5). Y dependiendo del tipo de alga empleada se pueden extraer en mayor cantidad los compuestos de interés.

Comúnmente la producción de bioestimulantes a base de extractos de algas emplean Phaeophytas, particularmente a la especie *Ascophylum nodosum*

puesto que esta contiene una gran cantidad de las fitohormonas que regulan el crecimiento de la planta, mientras que de las Rhodophytas se extrae componentes como agar y carragenina empleados como agente gelificante en productos alimenticios (du Jardin P., 2015, p. 3-14). A continuación, se detallan algunos de los compuestos presentes en las macroalgas.

Tabla 1.1 Compuestos presentes en las macroalgas (Gonzales V. 2018).

Polisacáridos matriciales	(alginatos, carragenatos, agar, ulvanos, mucopolisacáridos, y sus oligosacáridos)
Polisacáridos de reserva	(manitol, fucoidan, laminarano, almidón florideo), y de pared (celulosa y hemicelulosa)
Macronutrientes	Nitrógeno (aminoácidos), potasio, calcio, magnesio, fósforo
Oligoelementos y grado de quelación	
Bioantioxidantes y activadores	polifenoles, xantofilas, carotenoides, enzimas
Fitohormonas y reguladores del crecimiento	citoquininas, oligosacáridos, betaínas
Biotoxinas, inhibidores y repelentes	compuestos aromáticos y terpenoides halogenados con actividad anti-fúngico- bacteriano, -insectos, - ácaros, - nemátodos

1.4.3 *Kappaphycus alvarezii*: Una planta con mucho que dar

En el artículo publicado en las memorias del Seminario Taller “Avances en Biociencias e inocuidad alimentaria en Ecuador” (Barragán A, 2019, p. 85), expone cómo el gobierno nacional del Ecuador buscó la forma de cultivar *Kappaphycus alvarezii* que sirviera de materia prima para la obtención de K-carragenina y de esa forma mejorar la actividad económica de la zona del litoral mediante el programa “Cultivo de macroalga marina (*Kappaphycus alvarezii*) en la primera milla náutica de la zona costera de la Provincia de Santa Elena en el Ecuador” (INP, 2015) pero que no tuvo los resultados o el alcance esperado

Aunque su uso principal sea para extracción del ficocoloide K-carragenina, se han realizado estudios y experimentación para extender su uso hacia la producción de bioetanoles, biofertilizantes, compuestos antioxidantes, fitorremediación, entre otros. (Barragán, 2019).

Los efectos de extractos bioestimulantes producidos a partir de la macroalga *K. alvarezii* han sido estudiados desde inicios del siglo XXI. Siendo Eswaran quien desarrollo un procedimiento práctico para la obtención de los componentes reguladores de crecimiento presentes en la macroalga, y evaluando la eficacia del extracto en plantas de judías verdes. Al mismo tiempo que se obtenía el ficocoloide K-carragenina en estado semirrefinado y refinado (Eswaran et al, 2005).

Estudios posteriores basados en el método de extracción publicado en la patente de Eswaran, fueron realizados por Zodape en el año 2009, para comprobar la eficacia del extracto bioestimulante en cultivos de plantas de trigo. De este experimento se determinó la composición química del extracto bioestimulante obtenido, y que se presenta en la tabla 1.2

Tabla 1.2 Composición química de extracto de *K. alvarezii* (Zodape, 2009)

Constitución de extracto líquido bioestimulante	Valores
Nitrógeno (%)	0.45 – 0.70
Fosforo (%)	0.007 - 0.01
Potasio (%)	1.60 – 2.10
Materia orgánica (%)	1.05 – 1.40
Sodio (%)	0.45 – 0.70
Calcio (%)	0.04 - 0.06
Magnesio (%)	0.06 – 0.07
Manganeso (ppm)	6 - 9
Hierro (ppm)	100 - 160
Cobre (ppm)	7 – 11
Zinc (ppm)	19 - 25
Cobalto (ppm)	2 - 5
Molibdeno (ppm)	2
Sulfatos (%)	1.06 – 1.2
Cloruros (%)	2.36 – 2.70
IAA (ppm)	25.14
Kinetina (ppm)	8.50
Zeatina (ppm)	20.10
Giberelinas (ppm)	27.11

1.4.4 Componentes presentes en la macroalga *K. alvarezii*

Existen estudios llevados a cabo en distintas partes del mundo que han logrado caracterizar los compuestos presentes en la macroalga *Kappaphycus alvarezii*. Mostrando en concentraciones p/p y ppm los niveles de proteínas, minerales, grasas y reguladores de crecimiento presentes en el alga. La tabla 1.2 muestra los resultados obtenidos de la caracterización de tres tipos de macroalgas en el caribe colombiano revelando que el alga de estudio posee niveles significativos de minerales importantes como K, Mg, Ca, P.

Tabla 1.3 Resultados analíticos de bromatología en algas marinas (Sierra L., 2009) Parámetro	<i>Gracilariopsis tenuifrons</i>	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	<i>Sargassum filipendula</i>
Humedad	13.00	16.97	12.50
Materia seca	87.00	83.03	87.50
Nitrógeno total	3.26	0.62	1.44
Proteína bruta	20.9	3.87	9.00
Fibra bruta	83.21	6.66	48.95
Grasa total	0.26	0.19	0.15
Cenizas totales	4.29	54.31	38.06
Fosforo	0.12	0.03	0.05
Calcio	0.62	0.34	5.71
Magnesio	0.24	0.56	1.02
Potasio	0.19	15.58	2.90
Sodio	0.09	3.12	0.15
Hierro*	294.83	56.27	28.84
Zinc*	19.40	16.32	11.67
Manganeso*	0.00	0.00	49.35
Cobre*	0.0	0.0	3.57

Resultados en base seca. Las concentraciones están expresadas en %, Hierro, Zinc, Cobre y Manganeso están expresados en ppm

1.4.4.1 Ficocoloides

Los ficocoloides son un tipo particular de polisacáridos derivados de las algas marinas. Son ampliamente utilizados en una gran variedad de industrias debido a sus propiedades fisicoquímicas gelificantes (Tori, 2014).

En las algas rojas como la *K. alvarezii* se encuentra un tipo particular de ficocoloide conocido como carragenano. Los carragenanos son polisacáridos sulfatados aniónicos naturales que presentan una función estructural parecida a la celulosa en las plantas, estos se clasifican en Kappa I y II, Lambda e Iota (Gonzales V. 2018).

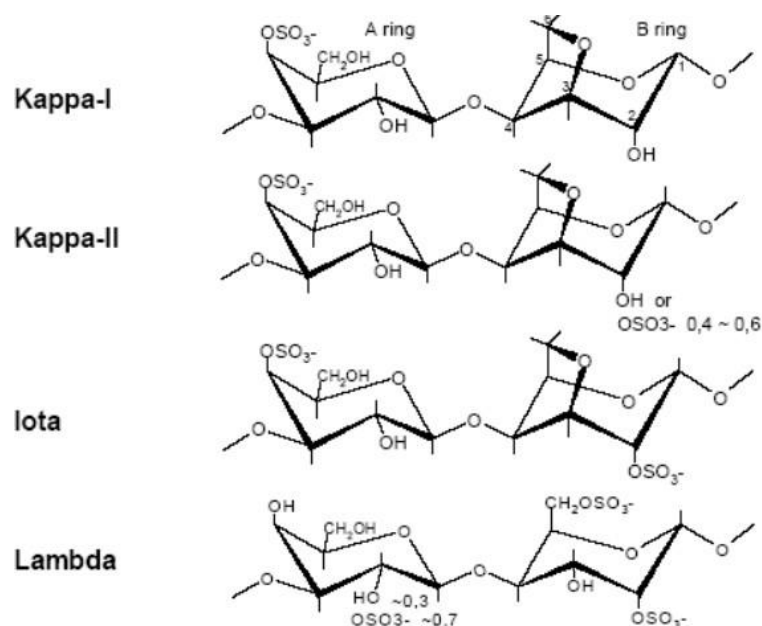


Figura 1.1 Estructura química de carragenina tipo Kappa I y II, Iota y Lambda (Altamirano L., 2011)

Presentan en parte un comportamiento hidrofóbico debido a la presencia del grupo 3,6 anhidro-D-galactosa, mientras que por otra parte presentan propiedades hidrofílicas debido al grupo sulfato en su estructura. De acuerdo con el tipo de carragenina, esta gelifica en presencia de diferentes iones. Las de tipo kappa forman estructuras rígidas ante iones potasio mientras que las de tipo Iota forman geles elásticos frente a iones calcio (Altamirano L., 2011).

1.4.4.2 Fitohormonas:

Las fitohormonas son compuestos orgánicos producidos en diferentes zonas estratégicas de las plantas, estas se trasladan a diversas partes de esta y se encargan de controlar múltiples sucesos durante la ontogénesis de las plantas, tales como el crecimiento de la planta y de sus raíces, la formación de flores y frutos, y la germinación (Sánchez, A., 2018, p. 9),

Existen cinco grupos bien definidos de fitohormonas que se producen de forma natural en las plantas, de los cuales tres se evidencian en la macroalga *Kappaphycus alvarezii* que son: Citoquininas, auxinas y giberelinas.

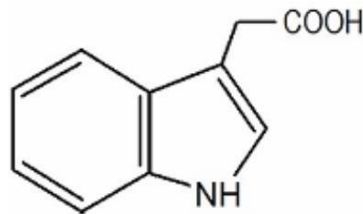


Figura 1.2 Estructura química del ácido indol-3-acético – auxina (Casaretto J., 2006)

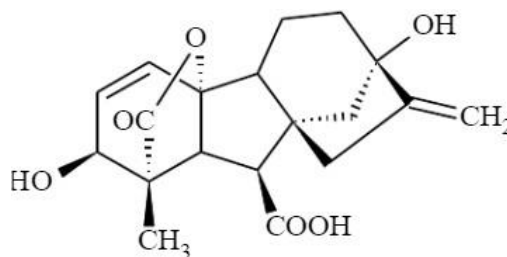


Figura 1.3 Estructura química del ácido giberélico GA3 – giberelina (Rivera J., 2017)

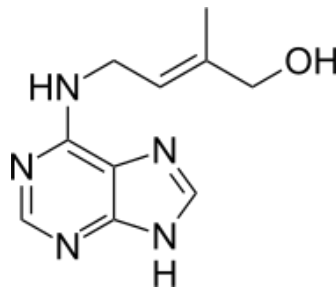


Figura 1.4 Estructura química de la zeatina – citoquinina (Casaretto J., 2006)

Las fitohormonas pueden manifestar múltiples efectos dentro de la planta tanto a corto como a largo plazo. Estos efectos también dependen la acción conjunta de fitohormonas, que según la presencia de estas a distintas relaciones pueden causar un tipo específico de efecto morfogénico. Un ejemplo conocido es la combinación auxina-citoquinina, que de acuerdo al nivel relativo de estas provocan la formación de brotes junto a raíces o la proliferación de masas celulares. (Casaretto J., 2006)

Las auxinas son un tipo especializado de fitohormona distribuida en la mayoría de las células y tejidos vegetales. Actúa a escala celular donde puede

intervenir en los procesos de elongación, diferenciación y división celular. Es considerada como un tipo de morfógeno responsable de la diferenciación celular de raíces, tallos y hojas y de provocar la formación de estos (Alcántara J., 2019, p. 117).

Las giberelinas o ácido giberélico se produce por diversos microorganismos, bacterias, hongos y plantas de manera endógena. Se la diferencia en 3 tipos: GA1, GA2 Y GA3. Están involucradas en el desarrollo de tejidos en constante crecimiento. La GA3 es relevante para los procesos de iniciación de la floración, lo que lo convierte en un compuesto importante para la fertilidad de las plantas (Alcántara J., 2019, p. 117 -118).

Las citoquininas son un derivado de la adenina, y son responsables de provocar la iniciación y elongación de las raíces, activar la senescencia de las hojas y generar la producción de brotes. Son producidas en la punta de la raíz y se distribuyen hacia las hojas a través del xilema (Alcántara J., 2019, p. 117 - 118).

1.4.4.3 Minerales

Palasi (Palasi J., 2015), describe a las algas como las fuentes más completas con respecto a su composición mineral en comparación a las fuentes de carácter animal y de plantas terrestres. Llegando a formar parte de entre 8% al 40% en peso seco. Estos valores que pueden variar según el tipo de macroalga, su ubicación geográfica, la estación del año y factores ambientales. Entre los minerales que pueden encontrarse en las macroalgas están macroelementos esenciales tales como: Na, K, Ca y Mg, además de elementos traza como lo son: P, Mn, Zn, Fe y Cu. También posee una composición de aniones de ion sulfato e ion cloruro.

1.4.5 Métodos de extracción conocidos

Existen diversos métodos de extracción de los principios activos de las algas, estos se basan en llegar a la ruptura celular para liberar el extracto de los componentes de interés (Povero, Mejia, Di Tommaso, Piaggese, & Warrior, 2016).

El método de extracción con álcalis fue desarrollado en la década de 1940, se aplica hidróxido de potasio junto a una fuente de calor. Estas algas son secadas a temperaturas superiores a los 100°C (Van Oosten, Pepe, De Pascale, Silletti, & Maggio, 2017). Sin embargo, este método induce una desnaturalización de los principios activos provocando pérdidas de sus propiedades. (Reyes Y., 2020)

Sin duda alguna, el método más empleado es con el uso de disolventes químicos con diferentes polaridades para lograr extraer los principios activos de las algas, a diferencia del método con álcalis, no se requieren altas temperaturas ni afectan el pH, conservando los principios activos de las algas (Ammar et al., 2017).

El principal objetivo es recuperar el contenido líquido de la macroalga *K. alvarezii*, esto lo conseguiremos mediante el método de homogenización y filtrado. Es posible usar el método de secado en conjunto con el de homogenización para obtener un extracto sólido y otro líquido siendo de una manera económicamente eficiente. El extracto líquido será materia prima para el fertilizante y el extracto sólido como materia prima de obtención de carragenina

La riqueza en minerales de las algas así como riqueza de vitaminas, sustancias bio activas, proteínas y lípidos con propiedades antibacteriales, antivirales y antifúngicos (Holdt & Kraan, 2011) proveen un optimista futuro para ser usado como suplemento en alimentos o como materia prima para la extracción de componentes bioactivos, en este caso como bioestimulante agrícola.

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

Con el propósito de diseñar el esquema de una planta piloto para la extracción verde de un zumo bioestimulante a partir de la macroalga *K. alvarezii* y estimar la viabilidad económica de la puesta en marcha de dicha planta; se recopiló la información de múltiples fuentes bibliográficas que sirvieron de base para la elaboración de un proceso de extracción factible, económico y ecológico. Determinándose aspectos importantes tales como: parámetros y condiciones de operación requeridos para la extracción de los productos de interés, métodos de extracción empleados para compuestos bioestimulantes, métodos de refinación del subproducto: K-carragenina, concentraciones efectivas del zumo bioestimulante.

2.1 Tipo de investigación

El proyecto realizado fue de carácter cualitativo, ya que la investigación busca desarrollar un proceso de extracción verde de zumo bioestimulante basado en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos de interés presentes en la macroalga *Kappaphycus alvarezii*.

2.2 Diseño de investigación

El diseño empleado en el desarrollo del proyecto tuvo un enfoque teórico, puesto que la investigación se basa en la recopilación de datos e información de artículos científicos, tesis, páginas web y patentes, con la finalidad de esquematizar un proceso de extracción viable.

2.3 Parámetros y condiciones de operación de extracción de fitohormonas y carragenina

De los trabajos efectuados por Eswaran, Carriedo y Hielscher Ultrasound Technology, (Eswaran Et. Al, 2005; Carriedo H. 2018; Hielscher Ultrasound

Tecnology, 2020) se recopiló la información de los parámetros y condiciones de operación a considerar para la extracción del producto de interés (zumo bioestimulante) y el subproducto de valor comercial (K-carragenina). Estos parámetros fueron: presión y temperatura de operación, solvente a emplear, polaridad del solvente, estado final del producto y método de conservación, presentados a continuación:

Tabla 2.1 Parámetros para la extracción y conservación de fitohormonas y K-carragenina (Carriedo H. 2018; hielscher Ultrasound Technology, 2020)

Parámetros	Fitohormonas	K- Carragenina
Presión	ambiente	ambiente
Temperatura	15°C - ambiente	60°C – 80°C
Solventes	Agua, etanol al 50% - 67%	Agua
Polaridad solvente	Polar	Polar
Estado final del producto	Extracto liquido	Polvo solido
Método de conservación	Etanol al 15% - 20% + temperatura ambiente Agua + conservar en lugar frio	Sellado hermético

Con esta información se formaron las bases para considerar la elaboración del proceso de extracción efectivo de entre los diferentes métodos de extracción ya existentes.

2.4 Características de diferentes métodos de extracción para compuestos bioestimulantes

De la información expuesta por la industria Hielcher Ultrasound Technology, (Hielscher Ultrasound Technology, 2020), se obtuvo las características de algunos de los métodos de extracción comúnmente empleados para obtención de compuestos bioestimulantes. Estos varían de acuerdo con el tipo de operación utilizada, condiciones de presión y temperatura empleados, tiempo de procesado, la cantidad de solventes requerido, la flexibilidad y escalabilidad de los métodos aplicados. Estos se encuentran detallados a continuación:

Tabla 2.2 Características de diferentes métodos de extracción para compuestos bioestimulantes (Hielscher Ultrasound Technology, 2020)

Parámetros	Extracción Asistida por Ultrasonido	Maceración	CO2 Supercrítico	Extracción con álcalis
Solvente	Compatible con cualquier disolvente	Agua / disolventes acuosos y no acuosos	CO2	Disolventes de carácter alcalino (KOH)
Temperatura	Extracción no térmica. Requiere control preciso de temperatura	Ambiente	Temperatura superior al ambiente	Altas temperaturas
Presión	Atmosférico / presión elevada	Atmosférico	Atmosférico	Atmosférico
Tiempo de procesamiento	Rápido	Muy lento	lento	lento
Cantidad de disolvente	baja	grande	moderado	grande
Flexibilidad y Escalabilidad	Extracción lineal y por lotes. Escalabilidad lineal.	Solo extracción por lotes. Escalabilidad limitada	Solo extracción por lotes. Escalabilidad limitada	Solo extracción por lotes. Escalabilidad limitada.

De entre estos métodos se consideró aquellos que fueran más compatibles con los parámetros de extracción de fitohormonas recopilados anteriormente y que permitan una mayor obtención de los compuestos deseados.

2.5 Concentraciones efectivas para producción de zumo bioestimulante

De los experimentos realizados y publicados en los trabajos de Eswaran y Zodape (Eswaran et al, 2005, Zodape S. T., 2012) con respecto a los efectos producidos por un extracto bioestimulante obtenido de la macroalga *K. alvarezii* a diferentes concentraciones en plantas de cultivo. Se consideraron las concentraciones que manifestaron los mejores resultados en el crecimiento de la planta para determinar las características del zumo bioestimulante a la salida del proceso.

2.5.1 Germinación de semillas de judías verdes

El experimento realizado por Eswaran se llevó a cabo con 120 semillas de judías repartidas de forma equitativa en 3 placas Petri por cada solución a evaluar. Las semillas fueron esterilizadas en solución cloruro de mercurio al 0.1% por 1 minuto. Luego, fueron lavadas rigurosamente en agua destilada. Tras eso, cada set de prueba fue humedecido en su respectiva solución por 24h. Transcurrido el tiempo, las semillas fueron puestas sobre papel filtro en sus respectivas cajas Petri y rociadas con agua por 7 días (Eswaran et al., 2005).

Tabla 2.3 Estudio de las concentraciones de ELB en la germinación de semillas de judías verdes (Eswaran et al., 2005)

Concentraciones de ELB	Número de semillas	Tiempo de prueba (días)	Extensión de germinación (%)
Control (Agua)	30	7	90%
1%			100%
5%			90%
25%			73%
50%			0%

2.5.2 Altura de la planta de judías verdes

El experimento realizado por Eswaran consistió en plantar 25 semillas de judías verdes en 5 macetas de dimensiones uniformes. Tras 7 días de su germinación se redujo el número de brotes por maceta a 10 para mantener igual las condiciones de crecimiento. Las plantas de cada maceta fueron rociadas con su respectiva concentración a lo largo de un mes y se midieron las alturas de las plantas a la semana, quincena y mes (Eswaran et al., 2005).

Tabla 2.4 Estudio de las concentraciones de ELB en el crecimiento de plantas de judías verdes (Eswaran et al, 2005)

Concentraciones de ELB	Altura (cm)				
	0%	1%	5%	10%	25%
Control	15.2				
Semana		14.8	15.4	19.3	14.5
Quincena		10.4	10.7	22.0	12.5
Mes		5.6	14.0	20.3	18.5

2.5.3 Altura y rendimiento de planta de trigo

El experimento realizado por Zodape empleando el método de preparación de líquido bioestimulante de Eswaran, se llevó a cabo en cultivos de trigo de dimensiones 10m x 2m. Para ello se consideraron como muestra de estudio 5 plantas de trigo seleccionadas al azar. La altura se midió al momento de ser cosechado desde el nivel del suelo hasta el extremo superior usando un flexómetro. Mientras que el número de tallos, número de espigas, peso de espiga, peso de planta seca, largo de espiga y rendimiento de semillas se basó en la muestra completa de 10m x 2m (Zodape S. T., 2012)

Tabla 2.5 Estudio de las concentraciones de ELB en crecimiento y rendimiento de la planta de trigo (Zodape S. T., 2012)

Concentraciones de ELB	Altura de la planta (cm)	Numero de Tallos / plantas	Numero de espigas/planta	Peso de espiga/planta (g)	Peso de planta seca (g)	Largo de espigas (cm)	Rendimiento de semillas (tn/ha)
Control	74.60	7.47	6.70	7.99	12.79	8.74	3.80
2.5%	76.30	7.55	6.76	8.15	13.83	9.07	4.14
5%	78.10	7.76	7.19	9.31	13.87	9.53	4.29
7.5%	83.60	8.16	7.40	9.89	14.22	9.92	4.555
10%	77.30	7.63	7.14	8.13	12.96	8.96	4.16

2.5.4 Valor nutricional de plantas de trigo

Los resultados de la prueba de Zodape se estimaron de las semillas y brotes de la planta de trigo tras ser cosechados. Las muestras pasaron por un proceso de secado a 70°C y molidas hasta alcanzar un tamaño de partícula de 0.5mm. Alcanzada dichas condiciones las muestras pasaron para el análisis nutricional (Zodape S. T., 2012).

Para la determinación del porcentaje de grasa se aplicó el método de soxhlet empleando hexano como solvente. El porcentaje de proteína se estimó multiplicando el contenido de nitrógeno por un factor de 6,25. Mientras el contenido de nitrógeno se determinó mediante el método Kjeldahl. El contenido de Ca y Mg se calculó empleando el método de titulación o análisis volumétrico. El contenido de P y S se determinó mediante espectrofotometría, y el contenido

de Na y K se determinó mediante fotometría de llama (Zodape S. T., 2012). Los resultados del experimento se muestran a continuación:

Tabla 2.6 Estudio de las concentraciones de ELB en el contenido nutricional de la planta de trigo (mg/100 g) (Zodape S. T., 2012)

Conc. de ELB	Grasa (%)	Proteína (%)	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
Control	1.64	12.38	1981.10	263.70	347.50	281.61	65.98	27.06	735.40
2.5%	1.75	12.70	2032.60	271.19	357.16	285.21	70.98	28.61	755.34
5%	1.66	12.87	2059.20	279.41	368.85	282.55	72.98	29.36	920.95
7.5%	2.14	15.64	2503.10	300.95	374.98	311.87	78.98	30.20	969.42
10%	1.66	12.75	2039.20	278.02	369.50	290.03	75.44	27.81	737.16

2.5.5 Absorción de nutrientes de planta de trigo

A continuación, se presentan los resultados obtenidos por Zodape, para determinar los efectos de un extracto bioestimulante producido a partir de la macroalga *K. alvarezii* a diferentes concentraciones en la absorción de nutrientes aplicado a cultivos de trigo.

Tabla 2.7 Efecto de diferentes concentraciones de ELB en la absorción de nutrientes de la planta de trigo (mg/100 g) (Zodape S. T., 2012)

Conc. de ELB	N	p	K	Ca	Mg	Na	S
Control	407.04	17.63	329.50	571.08	98.95	96.45	947.20
2.5%	450.71	17.97	351.89	586.08	114.44	112.93	1011.83
5%	590.19	19.02	369.49	615.75	121.34	124.57	1149.17
7.5%	672.50	25.22	393.17	689.64	130.85	142.29	1357.19
10%	477.56	22.92	356.57	645.31	121.87	105.98	1191.58

2.6 Descripción del proceso de extracción de la planta piloto

Con la información que se obtuvo de las múltiples fuentes bibliográficas se planteó el proceso de extracción del zumo bioestimulante. Para ello se consideró los procedimientos ejecutados por los trabajos de Eswaran para la extracción del extracto bioestimulante y de Córdova para la refinación de la K-carragenina. El proceso de la planta es descrito a continuación:

La macroalga *Kappaphycus alvarezii* fresca es lavada con agua a temperatura ambiente en el tank 101 para eliminar de la materia orgánica cualquier tipo de impurezas presentes en su superficie (tierra, costras, arena, etc). (Eswaran K., 2005)

Una vez lavada, la macroalga *K. alvarezii* es homogenizada en el blender 101, hasta obtener un lodo orgánico. (Eswaran K., 2005)

El lodo orgánico pasa por un proceso de filtrado por gravedad empleando una tela muselina fina blanca como filtro, esto en el filter 101, recogiendo el extracto líquido bioestimulante (ELB) en un recipiente plástico separándolo del sólido orgánico rico en carragenina (Eswaran et al, 2005).

La solución ELB pasa entonces por un proceso de dilución en el tank 102 donde se considera la solución obtenida del proceso anterior como solución madre. De la cual se preparará soluciones diluidas con agua al 7.5%. Considerando que una relación de 1 parte de ELB diluida con 99 partes de agua se establece como una disolución al 1% (Eswaran et al, 2005).

Después, se toma una muestra de la solución diluida la cual pasa por un proceso de caracterización por cromatografía TLC y HPLC para la identificación de los componentes presentes como kinetina, zetaina, ácido indol-3-acético, giberelinas, polifenoles, etc (Eswaran et al, 2005).

Por otro lado, el sólido orgánico (SO) filtrado es extendido en bandejas uniformemente y secado al sol por 24h o en el dryer 101 con el fin de alcanzar una humedad menor al 25%. Alcanzando esta condición el SO pasa por tratamiento alcalino donde es hidratado en el reactor tank 101 con una solución de KOH al 10% (p/p) a 75°C – 80°C por 3h con agitación constante para promover la obtención de carragenina semirrefinada (CSR). Luego, el SO se coloca dentro de sacos de muselina blanca y pasa a al tank 103 con agua

destilada donde es lavado repetidamente y se deja repodar por 12 horas (Córdova C., 2008).

Trascurrido el tiempo, el SO se extiende sobre bandejas de acero inoxidable y son llevadas a congelación en el cooler 101 durante 12 horas para luego ser descongeladas al ambiente. Repetir este paso 2 veces. Después de ser descongelado por última vez, el SO es llevado al furnace 101 a 42 - 45 °C hasta conseguir un peso constante consiguiendo CSR (Córdova C., 2008).

Luego, pasa por el proceso de fraccionamiento donde el CSR es rehidratado con agua destilada en el tank 104 y se deja reposar por 1h para luego ser calentado a baño maría a 80°C durante 2 horas. Después, la mezcla CSR-Agua es filtrada por gravedad en el filter 102. El sólido filtrado es tratado con una solución de KCl al 0.20% p/p en el mixing reactor 102 (Córdova C., 2008).

Seguidamente, se retira la solución de cloruro de potasio y el sólido es dispuesto en bandejas de acero inoxidable para luego pasar por un proceso de congelamiento y descongelamiento por 2 veces en el cooler 102. Finalmente, tras ser descongelado, el sólido es secado dentro del furnace 102 a 42 – 45°C C hasta conseguir un peso constante y se registra la masa de la K-carragenina refinada (Córdova C., 2008).

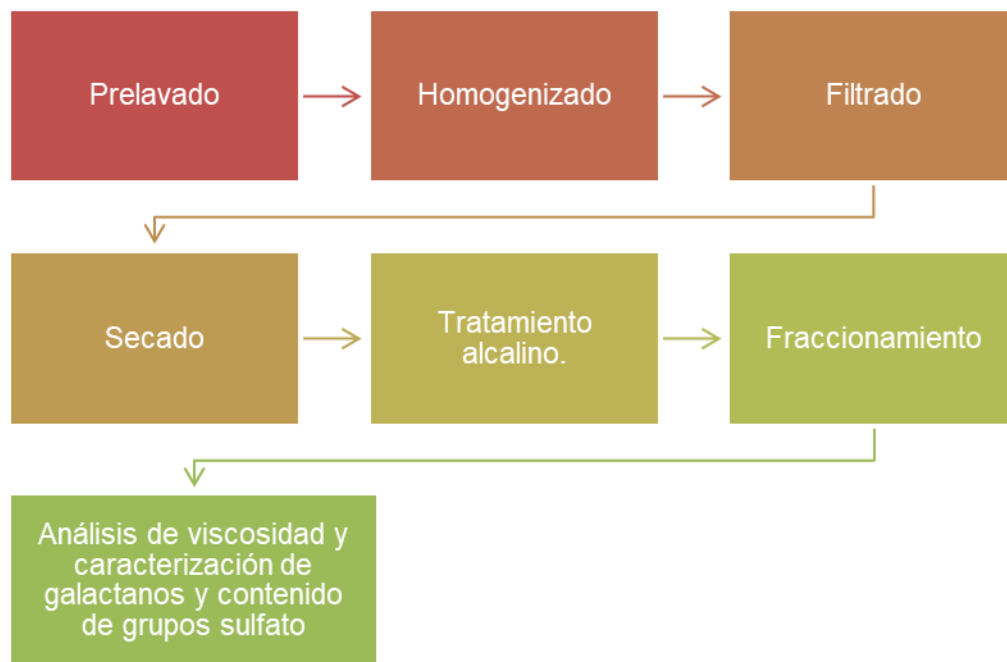


Figura 2.1 Diagrama de bloques para el aislamiento de K-carragenina extraída de la macroalga *Kappaphycus alvarezii*

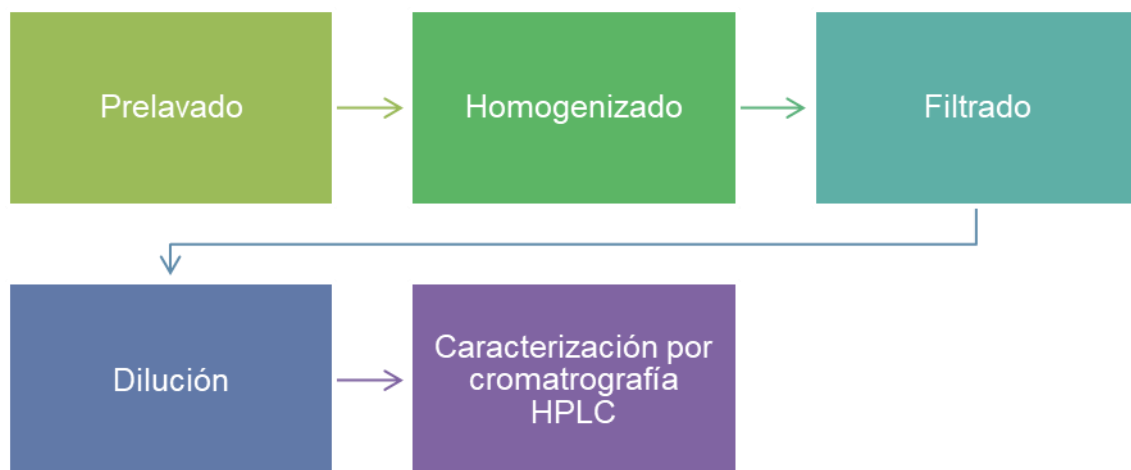


Figura 2.2 Diagrama de bloques para el aislamiento, acondicionamiento, identificación y cuantificación de fitohormonas extraídas de la macroalga *Kapapphycus alvarezii*

A continuación, se detallan los equipos a usarse en la planta y sus correspondientes especificaciones.

Tabla 2.8 Equipos básicos necesarios para el proceso de planta

Equipo	Material	Capacidad	Precio promedio	Observaciones	Potencia	Voltaje
Lavadero – Tank 101	acero inoxidable	25 L	\$400	acero inoxidable	N/A	N/A
Licuada industrial – blender 101	acero inoxidable	30 L - 10L/min	\$420	2800 rpm	2.5 kW	110V-60Hz/220V 50-60Hz
Filtro de mangas – filter 101/2	polipropileno / nylon	7 L	\$25	100 micras - 18m ³ /h	N/A	N/A
Cromatógrafo		10 mL/min	\$9000	HPLC	150 w	100 - 240 VAC
Secador de alimentos – dryer 101	acero inoxidable	16 m ² - flujo laminar	\$8500	34 bandejas	5 kW	380V/220V
Contenedor batch – reactor tank 101/mixing tank 102	acero inoxidable	100 L	\$2200	agitación y calentamiento	1 kW	380v 580Hz
Refrigerador industrial – cooler 101/2	acero inoxidable	100 L	\$1200		320 w	220V/50HZ 110V/60HZ

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Se revisaron diferentes estudios y experimentos enfocados en la producción y optimización de un zumo bioestimulante extraído a partir de la macroalga comercial *Kappaphycus alvarezii*, y la refinación del subproducto rentable K-carragenina en estado semirrefinado y refinado.

Con respecto a los parámetros y características de extracción de fitohormonas y K carragenina. Se observó que, a pesar de emplearse los mismos solventes para su extracción, las fitohormonas son compuestos que requieren condiciones de temperatura cercanas al ambiente, al contrario de la K-carragenina que debe ser sometida a condiciones de temperatura superiores a los 60°C. Es por ello que el procedimiento de extracción debe priorizar la extracción de fitohormonas presentes en la materia prima antes de cualquier proceso de refinación de K-carragenina, esto para evitar pérdidas de componentes reguladores de crecimiento.

De los métodos comúnmente aplicados en la extracción de componentes vegetales. Se pudo ver que los métodos de extracción con álcalis y CO₂ supercrítico mostraron condiciones de operación poco favorables en cuanto a flexibilidad de solventes aplicables, consumo elevado de solvente, tiempos de operación largos y condiciones de temperatura elevadas por lo tanto fueron descartados para el presente estudio. El método de maceración cuenta con parámetros de operación más tolerables en cuanto a condiciones de operación, mas es descartado debido a las grandes cantidades de solvente requerido, así como del tiempo de operación empleado para la extracción. El método de extracción asistida por ultrasonido, presenta condiciones de operación más favorables a escala piloto. Sin embargo, no se consideró su uso en el proceso de extracción de la planta debido a los costos excesivos de los equipos requeridos. No obstante, se considera que puede ser implementado en el proceso de

extracción una vez que la planta sea rentable, ubicándola después del equipo blender 101 para garantizar la máxima extracción posible de los compuestos reguladores de crecimiento que se encuentre en las algas permitiendo un incremento de la producción del zumo bioestimulante.

De los resultados presentados por Eswaran con respecto a la germinación de semillas de judías verdes en un periodo de 7 días, y los efectos del extracto líquido en la altura de las plantas de judías verdes. Se observó que los extractos bioestimulantes manifiestan efectos beneficiosos a concentraciones diluidas menores al 10%. Siendo que, al 1% y al 10% de concentración, presentaron los resultados óptimos para la germinación de semillas y el crecimiento de la planta respectivamente. Por lo tanto, la planta piloto fue diseñada para operar dentro de estos parámetros.

Los experimentos realizados por Zodape, mostraron que los extractos de *Kappaphycus alvarezii* manifiestan efectos óptimos en cuanto al crecimiento y rendimiento de plantas de trigo tras la aplicación foliar del zumo bioestimulante. En comparación a las muestras de control, las características físicas evaluadas en dicho experimento presentan incrementos en los porcentajes de mejora a medida que la concentración del zumo es aumentada, hasta alcanzar un máximo de mejora al emplearse un extracto con 7.5% de concentración. Tal y como se muestra en la tabla 3.1. Al seguir aumentando la concentración de la solución, se observó que las plantas presentan efectos negativos, este fenómeno se lo conoce como fitotoxicidad, y se debe a que los extractos de algas son mezclas complejas de muchos compuestos, y que a cierta composición y concentración puede manifestar efectos no deseados en los cultivos tratados (Rodríguez E., 2018).

Tabla 3.1 Porcentajes de mejora de las características físicas y rendimiento a diferentes concentraciones de ELB aplicado en cultivos de trigo

Conc. ELB / Porcentaje de mejora	Altura planta (cm)	Número de tallos / plantas	Número de espigas / plantas	Peso de espiga / planta (g)	Peso de planta seca (g)	Largo espigas (cm)	Rendimiento de semillas (t/ha)
Control	74.6	7.47	6.7	7.99	12.79	8.74	3.8
2.50%	2%	1%	1%	2%	8%	4%	9%
5%	5%	4%	7%	17%	8%	9%	13%
7.50%	12%	9%	10%	24%	11%	14%	20%
10%	4%	2%	7%	2%	1%	3%	9%

Resultados similares son observados en cuanto a la mejora del valor nutricional y a la absorción de nutrientes de los cultivos de trigo al aplicárseles una solución de extracto bioestimulante al 7.5%, revisar tabla 3.2.

Tabla 3.2 Porcentajes de mejora del valor nutricional a diferentes concentraciones de ELB aplicado en cultivos de trigo

Concentraciones ELB	Grasa (%)	Proteína (%)	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
Control	1.64	12.38	1981	264	347.5	282	65.98	27.06	735.4
2.50%	7%	3%	3%	3%	3%	1%	8%	6%	3%
5%	1%	4%	4%	6%	6%	0%	11%	8%	25%
7.50%	30%	26%	26%	14%	8%	11%	20%	12%	32%
10%	1%	3%	3%	5%	6%	3%	14%	3%	0%

Para el proceso de extracción y diseño de la planta piloto, se consideraron los procedimientos y rendimientos descritos por Eswaran y Córdova, de la producción de extractos de alga marina y refinación de carragenano respectivamente.

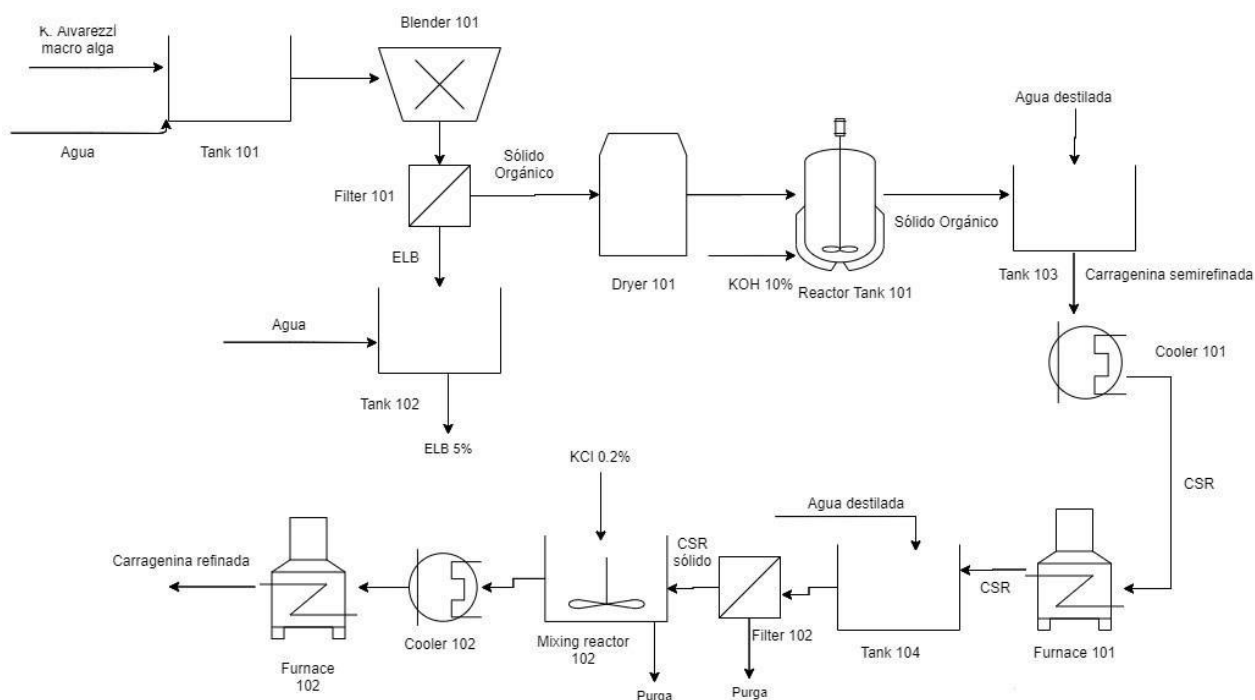


Figura 3.1 Diagrama de flujo de procesos de la planta piloto para la extracción de zumo bioestimulante

Para la escala propuesta de la producción de la planta piloto, se consideraron 500 kg de materia prima (*K. alvarezii* recién cosechada), de las cuales se obtuvo 325 kilos de líquido bioestimulante al 100%. Tras ser diluido con 4008 kilos de agua destilada, se obtuvo 4333 kilos de extracto líquido bioestimulante al 7.5%. Estos resultados se consiguieron al asumir los rendimientos de extracción de líquido bioestimulante presentado por Eswaran.

A partir de los 500kg de materia prima procesada, se obtuvo 175 kilos de sólido orgánico humedecido, que al pasar por el proceso de secado, redujo su contenido de humedad en un 75%, obteniendo 43.8 kilos de sólido orgánico seco.

Con tratamiento alcalino, se estimó que el contenido de carragenina semirrefinada fue de 20.6 kilogramos. Esta masa al ser sometida al proceso de fraccionamiento, se estimó un total de 15.3 kilogramos de carragenina refinada.

Como producto principal, se obtuvo 4333 Kilogramos de extracto líquido bioestimulante a una concentración de 7.5%. Estos resultados se consiguieron al

asumir los rendimientos de extracción de líquido bioestimulante presentado por Eswaran.

3.1 Análisis de Costos:

Se detallan los principales equipos necesarios y sus costos en dólares americanos, el precio final asciende a \$36,270. Estos detalles se muestran en la tabla 3.3

Tabla 3.3 Costos de diferentes equipos necesarios para la planta

Equipos	Costo unitario	Costo total
Blender	\$620.00	\$1,240.00
Reactor	\$2,200.00	\$2,200.00
Cooler	\$1,200.00	\$1,200.00
Furnace	\$8,500.00	\$17,000.00
Dryer	\$30.00	\$180.00
Tanks	\$2,200.00	\$4,400.00
Filter	\$25.00	\$300.00
Storage tank	\$8,000.00	\$8,000.00
Misc & PPE	\$250.00	\$1,750.00
Total		\$36,270.00

En las tablas siguientes, se listan los precios promedio de los reactivos necesarios, así como también el precio del kWh el cual es \$0.11 pero como factor de corrección y estimación lo establecemos en \$0.13. Estos detalles se aprecian en la tabla 3.4

Tabla 3.4 Costos de los reactivos necesarios

Reactivos	Unidad	Costo unitario
Agua destilada	m3	\$560.00
Agua potable	m3	\$0.50
KCl 15%	Kg	\$0.22
KOH 45%	Kg	\$0.16
<i>K. alvarezii</i>	Kg	\$0.10

En la tabla 3.5 se detallan los equipos y sus consumos energéticos diarios. Se pudo apreciar que el secador furnace presentó una alta demanda energética debido a los tiempos prolongados de uso para la refinación de la k-carragenina.

Tabla 3.5 Consumo energético diario

Consumo energético por día	kW	Horas	kWH
Licuada	2.5	1	2.5
Cromatógrafo	0.15	1	0.15
Secador / Furnace	5	24	120
Refrigerador	0.32	24	7.68
Batch Reactor	2	4	8
Total			138.33

Para nuestra producción se consideran en la tabla los consumos diarios, entre ellos 500 kg de *K. Alvarezii*, agua destilada, hidróxido de potasio, consumo energético, salario de los trabajadores, entre otros.

Se pudo notar que el agua destilada es la materia prima más costosa junto con el pago de nómina de los trabajadores. Se consideraron 5 personas en turnos rotativos de 8 horas para realizar los trabajos de la planta, diariamente este valor se eleva hasta los \$200. Adicionalmente se contempló los gastos diarios de \$75 por concepto de envasado del líquido bioestimulante y k-carragenina, mientras que \$50 entran diariamente en la categoría de otros gastos. Esta categoría incluye: equipo de protección personal, alimentación, alcantarillado y servicio eléctrico.

Tabla 3.6 Gastos de producción por cada día

Producción por día	Unidades	Costo
Kg <i>K. alvarezii</i>	500	\$50.00
m3 Agua	7	\$3.50
m3 Agua destilada	0.36	\$201.60
kg KOH 45%	21	\$3.36
kg KCL 15%	1.5	\$0.33
kW Consumo energético	138.33	\$17.98
\$5 Horas/Hombre	40	\$200.00
Envasado	1	\$75.00
Otros gastos	1	\$50.00
Total		\$601.77

Los ingresos de la planta se sostienen en la venta del líquido bioestimulante a un precio promedio de \$0.18 por cada kilogramo y \$12 por cada kilogramo de k-carragenina. Por lo que, 500 kg de materia prima se transforman en 4333 kg de líquido bioestimulante, el cual al precio de \$0.18 se convierten en \$780 de venta diaria. Junto con los \$183.75 que aportan los 15 kg de k-carragenina, el ingreso diario de producción asciende a \$963.75. Esto se asumió bajo condiciones ideales en las que se comercializa todo el producto.

Tabla 3.7 Ingresos de producción por cada día

Ingresos diarios	Precio	Venta
Kg. ELB 7.5%	\$0.18	\$780.00
Kg K-carragenina refinada	\$12.00	\$183.75
Total		\$963.75

Se considera una inversión inicial de \$36270 repartidos en la compra de los equipos como ya se describió previamente, \$30000 en instalaciones, esto cubre la adecuación del espacio físico y puesta en marcha de los equipos. Este valor se mantiene bajo ya que principalmente se usarán las instalaciones de la escuela superior politécnica del litoral. Adicionalmente se consideran \$2500 para equipar la planta piloto con herramientas necesarias para la operación (epp, herramientas de laboratorio, etc)

Tabla 3.8 Inversión inicial para puesta en marcha

Inversión inicial	Costo
Equipos	\$36,270.00
Instalaciones	\$30,000.00
Otros	\$2,500.00
Total	\$68,770.00

Todos los gastos ya calculados, fueron hechos en base a un día de producción y de consumo, al considerar un mes laboral, 20 días de lunes a viernes, estos gastos ascienden a \$12035.46 y los ingresos a \$19275. La ganancia neta obtenida es de \$7239.54 mensual

Tabla 3.9 Balance de ganancia neta mensual

Proyección	Gastos	Ingresos	Ganancia
Mensual 20 días laborables	\$12,035.46	\$ 19,275.00	\$ 7,239.54

Para el arranque de la planta piloto, necesitamos una inversión inicial de \$81000, esto cubre los gastos del primer mes y la adquisición de los equipos. Si comercializamos el kilogramo de líquido bioestimulante en \$0.18, la planta se vuelve rentable a partir del onceavo mes de operaciones tal como se detalla en la tabla 3.10. El cálculo de rentabilidad se basó en la razón entre la deuda total y la ganancia neta mensual.

Tabla 3.10 Flujo de caja y rentabilidad

Mensual	Ingresos	Acumulado
Inv. Inicial 1er mes	\$80,805.46	-\$80,805.46
Ingreso mensual	\$7,239.54	-\$73,565.92
2do mes	\$7,239.54	-\$66,326.37
3er mes	\$7,239.54	-\$59,086.83
4to mes	\$7,239.54	-\$51,847.29
5to mes	\$7,239.54	-\$44,607.75
6to mes	\$7,239.54	-\$37,368.21
7mo mes	\$7,239.54	-\$30,128.66
8vo mes	\$7,239.54	-\$22,889.12
9no mes	\$7,239.54	-\$15,649.58
10mo mes	\$7,239.54	-\$8,410.04
11vo mes	\$7,239.54	-\$1,170.50
12vo mes	\$7,239.54	\$6,069.05

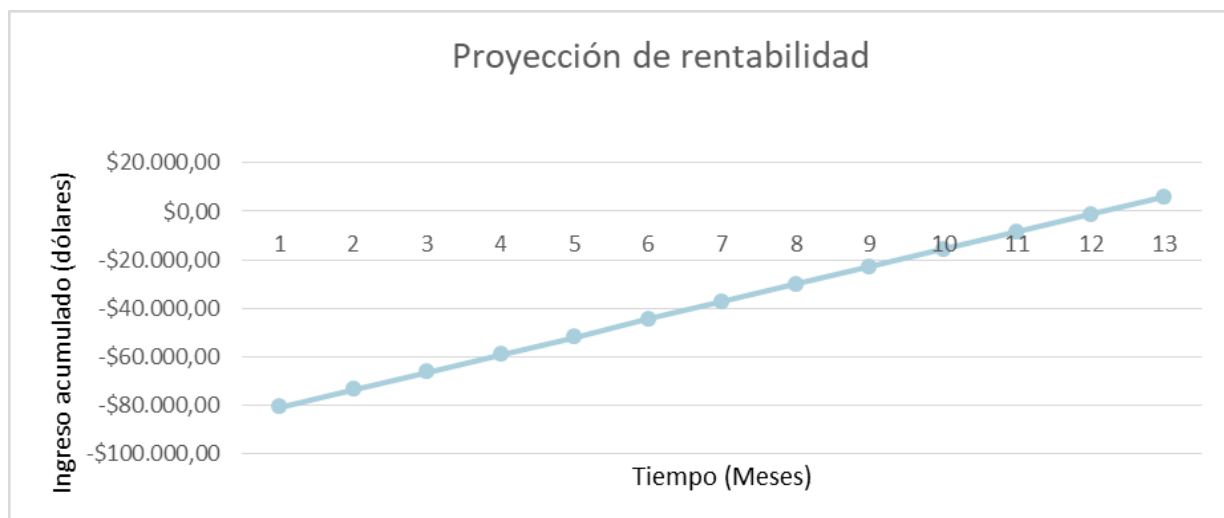


Figura 3.2 Proyección de rentabilidad de la planta piloto

A continuación, se detalla los meses del retorno de inversión de acuerdo con el precio del kilogramo de líquido bioestimulante al 7.5%

Tabla 3.11 Análisis de rentabilidad para diferentes precios de ELB

Precio Kg ELB 7.5%	Venta diaria	Ingreso mensual	Ganancia mensual	Meses para retorno de inversión
\$0.11	\$660.42	\$13,208.33	\$1,172.88	69
\$0.12	\$703.75	\$14,075.00	\$2,039.54	40
\$0.13	\$747.08	\$14,941.67	\$2,906.21	28
\$0.14	\$790.42	\$15,808.33	\$3,772.88	21
\$0.15	\$833.75	\$16,675.00	\$4,639.54	17
\$0.16	\$877.08	\$17,541.67	\$5,506.21	15
\$0.17	\$920.42	\$18,408.33	\$6,372.88	13
\$0.18	\$963.75	\$19,275.00	\$7,239.54	11
\$0.19	\$1,007.08	\$20,141.67	\$8,106.21	10
\$0.20	\$1,050.42	\$21,008.33	\$8,972.88	9
\$0.21	\$1,093.75	\$21,875.00	\$9,839.54	8
\$0.22	\$1,137.08	\$22,741.67	\$10,706.21	8
\$0.23	\$1,180.42	\$23,608.33	\$11,572.88	7
\$0.24	\$1,223.75	\$24,475.00	\$12,439.54	6
\$0.25	\$1,267.08	\$25,341.67	\$13,306.21	6

Notamos que para el precio de \$0.11, nuestra planta es rentable a partir del mes número 69, este precio está muy por debajo de la oferta de mercado, consideramos por la tanto \$0.18 ya que es un valor promedio entre un precio alto y un precio bajo.

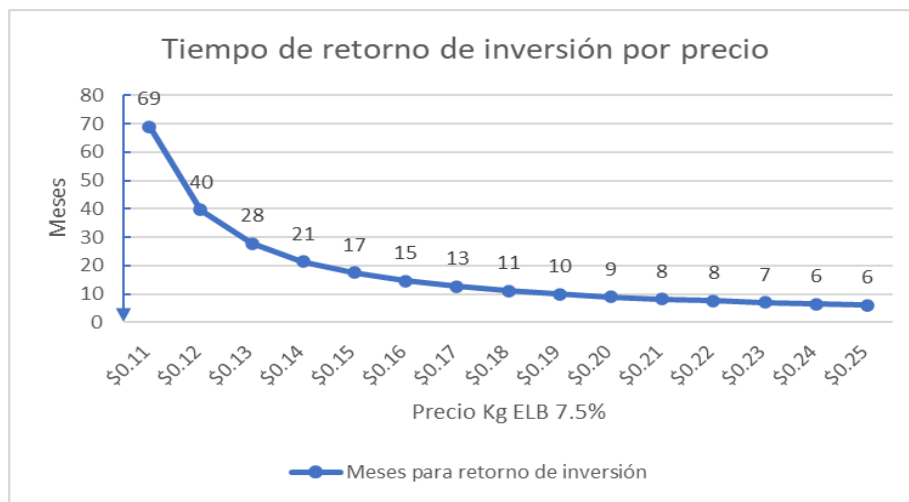


Figura 3.3 Meses de retorno de inversión por precio de kilogramo ELB

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El presente estudio analizó la viabilidad económica de una planta de extracción de líquido bioestimulante a partir de la macroalga *Kappaphycus alvarezii*, se realizó una investigación de los estudios de esta macroalga, las aplicaciones, usos, metodologías de extracción y los rendimientos del proceso de extracción.

Por cada 500 kg de materia prima, se obtiene teóricamente 4333 kg de líquido bioestimulante al 7.5% lo cual representa un rendimiento de 866.6%. Este rendimiento se basa en la dilución del extracto de la macroalga después de ser triturada, el extracto líquido se diluye y el sobrante sólido se procesa para obtener k-carragenina. El rendimiento promedio de obtención de k-carragenina fue del 3% con relación a la materia prima inicial.

Las 4 toneladas métricas de producción diaria de líquido bioestimulante representan el 81% de las ventas totales. Para poder ser rentables, se estableció un precio de \$0.18 por cada kilogramo de bioestimulante.

Se analizaron los costos de inversión, la compra de equipos mediante proveedores extranjeros, los pagos de nómina, compra de reactivos, costos de instalación, etc.

En el detalle de los gastos mensuales no se considera la renta del espacio físico debido a que este proyecto se enfoca a la puesta en marcha de la planta en las instalaciones de la escuela superior politécnica del litoral sino un costo inicial que corresponde a la adecuación de las instalaciones.

Se asume la adquisición y disponibilidad diaria de la materia prima, así como los reactivos, adicionalmente se asume la venta total de la producción lo que representa ganancias mensuales de siete mil dólares.

El análisis de costo asumiendo todo lo mencionado, nos indica que la planta es rentable a partir del onceavo mes. En promedio una planta económicamente viable se amortiza entre uno y tres años, por lo tanto, nuestra propuesta cumple este requisito de viabilidad.

Se analizó el retorno de inversión de acuerdo a diferentes precios para cada kilogramo de líquido bioestimulante, si el precio es menor a \$0.10 estaríamos perdiendo dinero y no generando rentabilidad alguna, en cambio si el precio es \$0.25 la inversión se recupera a partir del sexto mes. Para poder ser competitivos en el mercado hemos establecido el precio en \$0.18.

Por cada hectárea de cultivo agrícola se utilizan 127 kilogramos de líquido bio estimulante al 7.5%, esto representa \$22.86. Otros fertilizantes en el mercado requieren el equivalente a \$230 en kilogramos.

Nuestro producto resulta 10.45 veces más económico, por lo tanto bien podemos comercializarlo ya no a \$0.18 por cada kilogramo sino \$0.25 o incluso más.

Recomendaciones

Se recomienda la realización de un análisis experimental que determine el rendimiento del proceso de extracción de zumo bioestimulante a partir de ensayos con la macroalga *Kappaphycus alvarezii*, aplicando el método de extracción propuesto que permita la optimización de la cantidad de recursos empleados y el ajuste de los de costos de producción y puestas en marcha del diseño de planta piloto propuesto.

Es necesario llevar a cabo un estudio experimental con el zumo bioestimulante que se obtiene mediante el proceso de extracción propuesto, al aplicarse de manera foliar a distintas muestras de plantas de valor comercial cultivadas en el Ecuador, con la finalidad de recopilar información sobre los efectos que se obtienen del extracto de alga y determinar el alcance comercial en la agricultura ecuatoriana.

Se aconseja realizar un análisis de sensibilidad que muestre los efectos de adicionar un solvente polar, específicamente etanol al 50%, 60% y 70%, en el proceso de homogenización de la macroalga *Kappaphycus alvarezii*, para verificar si aumenta las concentraciones de compuestos reguladores de crecimiento en el extracto líquido bioestimulante obtenido con la misma cantidad de materia prima.

De ser posible realizar un análisis de sensibilidad en el proceso de extracción propuesto, al implementarse un equipo de extracción asistida por ultrasonido, entre las etapas de homogenización y filtrado del ELB, para verificar si hay algún aumento en las concentraciones de los compuestos reguladores de crecimiento en el extracto líquido bioestimulante obtenido con la misma cantidad de materia prima.

BIBLIOGRAFÍA

- Ammar, N., Jabnoun-Khiareddine, H., Mejdoub-Trabelsi, B., Nefzi, A., Mahjoub, M. A., & Daami-Remadi, M. (2017). Pythium leak control in potato using aqueous and organic extracts from the brown alga *Sargassum vulgare* (C. Agardh, 1820). *Postharvest Biology and Technology*, 130, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.010>
- Das, A. K., Sharma, M., Mondal, D., & Prasad, K. (2016). Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of κ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii*. *Carbohydrate Polymers*, 136, 930–935. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.09.114>
- Fayaz, M., Namitha, K. K., Murthy, K. N. C., Swamy, M. M., Sarada, R., Khanam, S., ... Ravishankar, G. A. (2005). Chemical composition, iron bioavailability, and antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezii* (Doty). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 792–797. <https://doi.org/10.1021/jf0493627>
- Ferraces-Casais, P., Lage-Yusty, M. A., de Quirós, A. R. B., & López-Hernández, J. (2012). Evaluation of Bioactive Compounds in Fresh Edible Seaweeds. *Food Analytical Methods*, 5(4), 828–834. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9321-2>
- Hayashi, L., Hurtado, A. Q., Msuya, F. E., Bleicher-Lhonneur, G., & Critchley, A. T. (2010). *A Review of Kappaphycus Farming: Prospects and Constraints*. https://doi.org/10.1007/978-90-481-8569-6_15

- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011, June 9). Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, Vol. 23, pp. 543–597. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., & Warrior, P. (2016). A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Frontiers in Plant Science*, 7(APR2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00435>
- Rudke, A. R., de Andrade, C. J., & Ferreira, S. R. S. (2020). *Kappaphycus alvarezii* macroalgae: An unexplored and valuable biomass for green biorefinery conversion. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 214–224. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.07.018>
- Senthil, A., Mamatha, B. S., Vishwanath, P., Bhat, K. K., & Ravishankar, G. A. (2011). Studies on development and storage stability of instant spice adjunct mix from seaweed (*Eucheuma*). *Journal of Food Science and Technology*, 48(6), 712–717. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0165-3>
- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., & Maggio, A. (2017, December 1). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, Vol. 4. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>
- Eswaran, K., Ghosh, P.K., Siddhanta, A.K., Patolia, J.S., Periasamy, C., Mehta, A.S., Mody, K.H., Ramavat, B.K., Prasad, K., Rajyaguru, M.R., Reddy, S.K. C.R., Pandya, J.B., Tewari, A., 2005. Integrated method for production of carrageenan and liquid seaweed
- Algas Marinas | EcoExploratorio: Museo de Ciencias de Puerto Rico. (2021). Retrieved 8 July 2021, from <https://ecoexploratorio.org/vida-en-el-mar/especies-marinas/algas-marinas/>
- Zenia González-Giro, Pedro Luis Batista-Corbal, Yuleidis González-Pérez, Elizabeth Rodríguez-Leblanch, Eber Marcos-Albear. (2018). Evaluación de la fitotoxicidad de un extracto acuoso del alga *Padina gymnospora* (Kützinger) sobre semillas de *Lactuca sativa* L., p.2-3
- S.T. Zodape (2009). Effect of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex silva. extract on grain quality, yield and some yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.

- Shah, M. T., Zodape, S. T., Chaudhary, D. R., Eswaran, K., & Chikara, J. (2013). Seaweed sap as an alternative liquid fertilizer for yield and quality improvement of wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 36(2), 192–200. doi:10.1080/01904167.2012.737886
- Instituto Nacional de Pesca (INP), (2015), Investigación de los recursos bioacuáticos y su ambiente. Recuperado de: <http://www.institutopesca.gob.ec/wp-content/uploads/2018/02/7.-macroalga.pdf>
- Ecoexploratorio, Algas marinas, (2020) Accedido el 20 de junio, 2021, desde <https://ecoexploratorio.org/vida-en-el-mar/especies-marinas/algas-marinas/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (2019). *Agricultura la base de la economía y alimentación*.
- Salas De La T., Norma; Córdova C., César; Estrada A., Edmundo, (2008), *Obtención de κ -Carragenano y λ -Carragenano a partir de macroalga Chondracanthus chamissoi y su aplicación en la industria alimentaria*.
- Altamirano L., (2011), *Rendimiento de carragenina nativa en Gigartina skottsbergii Mhu (μ)/ Nhu (v) en tres rangos de tamaño de fronda*, p. 13 – 15
- Gonzales V. 2018, *Actividad antiviral de polisacáridos extraídos de plantas*, Recuperado el 17 de agosto del 2021, desde <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/VIRGINIA%20GONZALEZ%20DEL%20CAMPO%20%20ROLLAN.pdf>
- Alcántara J. D., Godoy J., Alcántara J. S., Sánchez R., (2019), NOVA, Vol 17 No 32 *Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal*. P.115 - 118, DOI 10.25058/24629448.3639
- López-Padrón, Indira, Martínez-González, Lisbel, Pérez-Domínguez, Geydi, Reyes-Guerrero, Yanelis, Núñez-Vázquez, Miriam, & Cabrera-Rodríguez, Juan A., (2020). *Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada*. Cultivos Tropicales, 41(2), e10. Epub 01 de junio de 2020. Recuperado el 23 de agosto de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362020000200010&lng=es&tlng=es
- Rivera, Juan & Correa, Yaned & Penagos, Juan. (2017). *Evaluación de métodos de extracción para la obtención del ácido giberélico en semillas germinadas de maíz*

- (*Zea mays* L.). Revista Colombiana de Química. 46. 45. 10.15446/rev.colomb.quim.v46n2.63015.
- Sierra-Vélez, Liliana & Álvarez-León, Ricardo. (2009). Comparación bromatológica de las algas nativas (*Gracilariopsis tenuifrons*, *Sargassum filipendula*) y exóticas (*Kappaphycus alvarezii*) del Caribe Colombiano. Bol. Cient. Mus. Hist. Nat.. 13. 17-25.
- du Jardin, P., (2015). *Plant Biostimulants: Definition, Concept, Main Categories and Regulation*. Rev. Scientia Horticulturae, 196: 3-14 p.
- Palasi J. (2015), Caracterización físico-química y nutricional de algas en polvo empleadas como ingrediente alimentario.

APÉNDICES

Anexos



Foto 1 Blender



Foto 2 Filtros de membrana



Foto 3 Cromatógrafo HPLC



Foto 4 Lavadero para macroalgas



Foto 5 Secador de bandejas



Foto 6 Reactor



Foto 7 Congelador industrial

