

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Diseño a escala piloto de un aditivo nutracéutico y bioestimulante a partir
de la macroalga *Acanthophora spicifera*

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Químico

Presentado por:

Kleber Lenin Gavilanes Arreaga

José Enrique Titusunta Ortega

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2023

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a las tutoras de este proyecto, a la doctora Patricia Manzano, a la doctora Yris González y al doctor Michael Rendón por su apoyo con el uso del HPLC, al doctor Joan Vera por su apoyo en el tamizado, a la doctora Emérita Delgado, a la ingeniera Andrea Cruz y al ingeniero Camilo Ramírez por su apoyo en el proceso de secado.

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Kleber Lenin Gavilanes Arreaga* y *José Enrique Titusunta Ortega* 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"

Lenin G

Kleber Gavilanes Arreaga

José Titusunta

José Titusunta Ortega

EVALUADORES



firmado electrónicamente por:
PATRICIA ISABEL
MANZANO SANTANA

María Verónica Ordoñez, MSc

PROFESORA DE LA MATERIA

Patricia Manzano, PhD.

PROFESORA TUTORA

RESUMEN

Los bioproductos a base de algas están ganando impulso en los sistemas de producción de cultivos, debido a la presencia de componentes bioactivos con propiedades bioestimulantes las cuales promueven el crecimiento de las plantas, sumado la obtención de estos agentes bioestimulantes a partir de recursos infrautilizados como lo son las algas suponen una revalorización de estos. Este estudio presenta el diseño de una planta piloto para la producción de bioestimulantes extraíbles a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera* mediante una digestión con agua para obtener un extracto rico en flavonoides y fitohormonas. Se consideraron diferentes métodos de escalado y se optó por un enfoque empírico-híbrido. Para esto es necesario realizar un escalado a partir de la información disponible del proceso a una escala menor (laboratorio o miniplanta). Se cuantificó los siguientes flavonoides: Rutina (25.36 mg/kg), Epicatequina (64.34 mg/kg) y Quercetina (47.3 mg/kg); y, las siguientes concentraciones de fitohormonas; 16.41 mg/kg Ácido Indolacético y 2.51 mg/kg Kinetina. Finalmente se simuló el proceso experimental en base a los resultados obtenidos durante la prueba piloto, con lo cual el capital fijo necesario para la construcción de una planta de extracción piloto de bioestimulante es \$49.818 en base a los dimensionamientos de equipos requeridos y su implementación. Concluyéndose que el proyecto tiene un gran potencial de aplicación nacional ya que es un mercado sin explotar y queda mucha investigación por hacer sobre el cultivo de la macroalga *Acanthophora spicifera* como fuente de ingresos para los agricultores y el uso de líquidos bioestimulantes en la agricultura.

Palabras Clave: bioestimulante, macroalgas, fitohormonas, flavonoides y escalado

ABSTRACT

*Algae-based bioproducts are gaining momentum in crop production systems, due to the presence of bioactive components with biostimulant properties which promote plant growth, added to the obtaining of these biostimulant agents from underutilized resources such as are algae represent a reevaluation of these. This study presents the design of a pilot plant to produce extractable biostimulants from the macroalgae *Acanthophora spicifera* through digestion with water to obtain an extract rich in flavonoids and phytohormones. Different scaling methods were considered, and an empirical-hybrid approach was chosen. For this, it is necessary to carry out a scaling from the available information of the process to a smaller scale (laboratory or mini plant). The following flavonoids were quantified: Rutin (25.36 mg/kg), Epicatechin (64.34mg/kg) and Quercetin (47.3 mg/kg); and the following concentrations of phytohormones; 16.41mg/kg Indoleacetic Acid and 2.51 mg/kg Kinetin. Finally, the experimental process was simulated based on the results obtained during the pilot test, with which the fixed capital necessary for the construction of a biostimulant pilot extraction plant is \$49.818 based on the required equipment sizing and implementation. Concluding that the project has great potential for national application since it is an untapped market and there is still a lot of research to be done on the cultivation of the *Acanthophora spicifera* macroalgae as a source of income for farmers and the use of biostimulant liquids in agriculture.*

Keywords: *biostimulant, macroalga, phytohormones, flavonoids and scaling*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
CAPÍTULO 1	1
1. Introducción.....	1
1.1 Descripción del problema.....	1
1.2 Justificación del problema	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
1.4 Marco teórico	4
1.4.1 <i>Acanthophora spicifera</i>	4
1.4.2 Aplicaciones de fitohormonas y flavonoides.....	5
1.4.3 Proceso a escala laboratorio de extracción sólido- líquido	5
1.4.4 Cuantificación de fitohormonas y flavonoides a escala laboratorio.....	6
1.4.5 Escalamiento o Diseño a nivel piloto	6
1.4.6 Simulación.....	7
CAPÍTULO 2	9
2. Metodología	9
2.1 Esquema de trabajo	10

2.2	Proceso a escala laboratorio	13
2.2.1	Pretratamiento de la muestra.....	13
2.2.2	Extracción de macroalga	14
2.2.3	Adición del conservante.....	14
2.3	Proceso a escala piloto	15
2.4	Cuantificación de fitohormonas y flavonoides de la muestra	15
2.4.1	Selección de Fitohormonas y Flavonoides	16
2.4.2	Cuantificación de fitohormonas	17
2.4.3	Cuantificación de flavonoides	17
2.5	Simulación	17
2.5.1	Registro de componentes	17
2.5.2	Suposiciones previas a la simulación	18
CAPÍTULO 3		19
3.	Resultados y Análisis	19
3.1	Resultados a escala laboratorio	19
3.2	Resultados a escala piloto.....	20
3.3	Resultados de la simulación.....	25
3.4	Análisis de costos	28
CAPÍTULO 4		31
4.	Conclusiones y Recomendaciones.....	31
4.1	Conclusiones	31
4.2	Recomendaciones	32
BIBLIOGRAFÍA		33
APÉNDICES		39
APÉNDICES A- Escala Piloto.....		39
A.1	Recolección materia prima - Ballenita.....	39
A.2	Secador de bandeja del laboratorio de operaciones unitarias.....	39

A.3 Secador de bandeja del Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentable	40
A.4 Secado de materia prima	40
A.5 Trituradora utilizada durante la experimentación, escala piloto.....	41
A.6 Tamiz de mesa vibratoria utilizado durante la experimentación	41
A.7 Digestor utilizado en la experimentación, escala piloto	41
A. 8 Extracto obtenido a diferentes intervalos de operación, digestor	42
A. 9 Bolsa Filtrante de 5 micras, experimentación escala piloto	42
A. 10 Extracto bioestimulante	42
A.11 Remoción de residuos de alga dentro del digestor.....	43
A.12 Equipo dosificador, experimentación escala piloto	43
A.13 Limpieza equipo dosificador.....	43
A.14 Botellas de 150 ml y 500 ml	44
A.15 Resultados Análisis Granulométrico – Método Diferencial	44
A.16 Distribución de partícula.....	45
APÉNDICES B- Escala Laboratorio	46
B.2 Análisis inicial de muestras de <i>Acanthophora spicifera</i>	46
B.3 Proceso de digestión acuosa a escala de laboratorio	47
B.4 Datos digestión acuosa	47
B.5 Datos de adición de conservante	48
APÉNDICES C- Simulación.....	49
C.1 Propiedades de las fitohormonas y flavonoides obtenidas de Aspen Plus	49
C.2 Resultados Simulación Final.....	50

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía líquida de alta eficacia)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
ABTS	2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
sp	Especie
DIPSIMAR	Desarrollo e Implementación Piloto de un Sistema de Maricultura que Incentiva la Conservación de los Manglares
PSD	Particle Size Distribution (Distribución del tamaño de partícula)
CENAIM	Centro Nacional de Investigaciones Acuícolas y Marinas
MAATE	Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica
CAPEX	Capital expenditure (Gastos en capital)
OPEX	Operating expenditure (Gastos operativos)
FAO	Food and Agriculture Organization (Organización para la Alimentación y la Agricultura)
ERO	Especies reactivas de Oxígeno
LAQUINS	Laboratorio de Análisis Químico Instrumental
CDTS	Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentable

SIMBOLOGÍA

Símbolo	Significado
g	Gramo
pH	Potencial Hidrógeno
mS	Milisiemens
μS	Microsiemens
°C	Grados Celsius
μg g ⁻¹	Microgramo por gramo
ng g ⁻¹	Nanogramo por gramo
mg	Miligramo
nmol g ⁻¹	Nanomol por gramo
mg kg ⁻¹	Miligramo por kilogramo
pmol g ⁻¹	Picomol por gramo
ml	Mililitro
W	Vatio
kW	Kilovatio
MT	Tonelada métrica
kWh	Kilovatio hora

ÍNDICE DE FIGURAS

No. Figura	Título	No. página
Ilustración 2.1	Flujograma propuesto para la producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala laboratorio	10
Ilustración 2.2	Flujograma propuesto para la producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala piloto	11
Ilustración 2.3	Flujograma propuesto para la elaboración de la simulación del proceso productivo del bioestimulante nutracéutico	12
Ilustración 3.1	Comportamiento contenido de humedad dentro del secador de bandeja	21
Ilustración 3.2	Curva Granulométrica	22
Ilustración 3.3	Concentración de fitohormonas y flavonoides a diferentes intervalos de recolección	23
Ilustración 3.4	Histograma comparativo de fitohormonas y flavonoides a diferentes estaciones del año	25
Ilustración 3.5	Diagrama de proceso de extracción de bioestimulante en SuperPro designer	26
Ilustración 3.6	Proyección de rentabilidad planta piloto de extracción de bioestimulante	31

ÍNDICE DE TABLAS

No. Tabla	Título	No. página
Tabla 1.1	Fitohormonas reportadas en extractos de algas de <i>Ulva sp.</i> , <i>Acanthophora spicifera</i> y <i>Porphyra acanthophora</i>	4
Tabla 1.2	Compuestos Fenólicos en la macroalga <i>Acanthophora spicifera</i>	5
Tabla 1.3	Simuladores de procesos químicos	8
Tabla 2.1	Tabla comparativa proceso a escala laboratorio y escala piloto del proceso de producción de bioestimulante	13
Tabla 2.2	Flavonoides y Fitohormonas	16
Tabla 2.3	Propiedades para ingreso de nuevos compuestos en el simulador	18
Tabla 2.4	Suposiciones previas a la simulación	18
Tabla 3.1	Cuantificación de Fitohormonas y flavonoides a Escala Laboratorio	19
Tabla 3.2	Resultado secador de bandeja	20
Tabla 3.3	Resultados Análisis Granulométrico	21
Tabla 3.4	Comparación de Fitohormonas y flavonoides a escala laboratorio y piloto	24
Tabla 3.5	Especificaciones de operación de los equipos de la simulación	27
Tabla 3.6	Comparación de Fitohormonas y flavonoides a escala piloto y simulación	28
Tabla 3.7	Precio de los equipos del proceso de extracción de bioestimulante	28
Tabla 3.8	Capital fijo estimado del proceso de extracción de bioestimulante	29
Tabla 3.9	Costos de materia prima	29
Tabla 3.10	Costos energéticos diario	29
Tabla 3.11	Gastos & Ingresos producción diaria	30
Tabla 3.12	Proyección mensual	30
Tabla 3.12	Flujo de caja y rentabilidad	31

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se presenta un diseño de producción a escala piloto de un aditivo nutracéutico y bioestimulante a partir de las fitohormonas: kinetina, ácido indolacético y ácido giberélico, y los flavonoides: rutina, quercetina, epicatequina, encontrados en la macroalga *Acanthophora spicifera* con el fin de apoyar en los esfuerzos de conservación de los manglares del Ecuador dentro del marco del proyecto Desarrollo e Implementación Piloto de un Sistema de Maricultura que incentiva la Conservación de los Manglares (DIPSIMAR) realizado por el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) y el Centro Nacional de Investigaciones Acuícolas y Marinas (CENAIM). Repercutiendo en los productores de la macroalga *Acanthophora spicifera* mediante la expansión de su uso como bioestimulante generando un mayor ingreso para esta área.

1.1 Descripción del problema

En la actualidad, existen 14 ecosistemas marinos en el mundo, y Ecuador conserva 10 de ellos en su territorio, conocidos como manglares o humedales costeros, que se encuentran entre los más importantes por su flora y fauna (Guevara & Granda, 2009). La sociedad los utiliza para proporcionar una amplia gama de bienes y servicios ambientales, a mencionar: la purificación del agua, estabilización del suelo y servir como escudo contra desastres para el consumo humano, además de proporcionar materias primas y mariscos(FAO,2007).

La pérdida de los manglares afectaría negativamente a los sistemas naturales, sociales y económicos, entre las consecuencias sociales más importantes se incluyen el desempleo, el aumento de la pobreza, la reducción de la calidad de vida y la migración de los usuarios ancestrales de los manglares (Bravo, 2010).

En este sentido, el proyecto *DIPSIMAR* en conjunto con el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Hídricos y el Instituto Tecnológico del Litoral a través del CENAIM, tiene la finalidad de promover el desarrollo económico de la sociedad mediante el cultivo de moluscos y macroalgas locales como materia prima para la elaboración de bioproductos. El CIBE se ha propuesto como objetivo realizar estudios y pruebas de laboratorio para escalar a nivel piloto el proceso de producción de aditivos nutracéuticos y bioestimulantes a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera*, debido al gran potencial que representan como un recurso local económico, abundante y poco aprovechado como fuente de nuevos bioproductos (Valverde-Balladares & D'Armas, 2022). Este innovador mercado presenta

un potencial crecimiento que requiere de investigación e innovación tecnológica, necesaria para asentar una industria secundaria en el país (Jarrín, 2019).

La extracción de suplementos nutricionales y bioestimulantes a partir de macroalgas implica varios pasos de transformación que tienen lugar en diferentes equipos del proceso, los cuales dependerán de la escala a la que se llevará a cabo; es decir, se comportan de manera diferente a pequeña escala (en laboratorios o plantas piloto) y a gran escala (en producción) (Belwal, Revanth, Dinesh, Reddy, & Bhagvanth, 2016).

La aplicación del escalado a escala piloto mediante métodos tradicionales o empíricos se enfrenta a diversos desafíos, que incluyen modificaciones en los tiempos de respuesta del proceso, la aparición de fenómenos superficiales no previstos en la escala más pequeña y la manifestación de comportamientos cinéticos no anticipados, entre otros (Rossetti & Compagnoni, 2016). Por ello, el escalamiento empírico-híbrido esquematiza una versión mejorada del método empírico en el cual el modelamiento y simulación es llevada a cabo para interpretar los resultados del modelo empírico y para simular y optimizar el próximo nivel de escalamiento (Muñoz Equihua, 2016).

De modo que se emplean softwares de simulación que pueden predecir el comportamiento de diferentes procesos tanto químicos como biotecnológicos, algunos de ellos son: Aspen Plus, SpeedUp, PRO II, Hysys, Chemcad y SuperPro Designer (Reyes, J. et al., 2020). En cuanto a SuperPro Designer este es un simulador profesional que busca facilitar el modelado, diseño y optimización de procesos integrados en diversas industrias, incluidas las farmacéuticas, biotecnológicas, agroquímicas, alimentarias, de tratamiento de residuos y de tratamientos de agua (Benítez-Cortés, Pérez-Martínez, Barrios-Rodríguez, Rodríguez-Machado, & Pérez-Sánchez, 2018).

1.2 Justificación del problema

Gran parte de los manglares costeros se ven afectados debido al acelerado incremento de actividades antropogénicas, lo que ha llevado a cabo un proceso de deforestación de muchos ecosistemas provocando la degradación de la faja costera (Cruz Zambrano, 2023), y como consecuencia una baja calidad de vida de las comunidades ancestrales que subsisten de este ecosistema que ha sido su fuente de materia prima, alimentos y medicinas. La forma en que este recurso tan fundamental para la sociedad ha sido descuidado y destruido ha inspirado el estudio de la presente investigación, urgiendo la necesidad de resaltar su valor (Pernía, Mero, Cornejo, & Zambrano, 2019).

La preservación de los manglares es crucial no solo debido a sus funciones ambientales, sino también porque alrededor de un millón de personas que habitan en las zonas cercanas dependen directamente de este ecosistema para garantizar su alimentación y obtener ingresos. Esto se logra a través de la pesca y la recolección de diversas especies

comestibles, así como mediante el uso del manglar como fuente de materias primas para la construcción de viviendas, como suministro de combustible y como fuente de medicinas naturales (Verdesoto C. et al,2023).

La obtención del aditivo nutracéutico y bioestimulante ha sido llevado a cabo previamente por el CIBE a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera*, a escala de laboratorio aplicando técnicas desarrollados a partir de la bibliografía, debido a las múltiples aplicaciones reportadas en la última década en el área de la medicina, cosmética, alimentos, etc. (Valdez Navarro, Chóez Guaranda, Van Der Hende, Ruíz Barzola, & Manzano Santana, 2023).

El presente proyecto está enfocado en el diseño de un proceso para la producción de un aditivo nutracéutico y bioestimulante a escala piloto a partir de la *Acanthophora spicifera*. Con el objetivo de impulsar el desarrollo económico de las comunidades ancestrales a partir de la intensificación del cultivo de macroalgas nativas que sirven como materia prima para el desarrollo de bioproductos. Determinando los parámetros experimentales requeridos para la simulación como concentración de fitohormonas y flavonoides, caracterización de la materia prima, tiempo de operación, condiciones de temperatura, agitación, entre otros.

Por lo tanto, este estudio junto con otras investigaciones constituye la base de un potencial proceso de producción de bioproductos a partir de macroalgas ubicadas en las costas de Ecuador, con miras a un escalado comercial.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Diseñar una planta a nivel piloto de extracción de compuestos nutracéuticos y bioestimulantes a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera* mediante el escalamiento empírico-híbrido de proceso para el aprovechamiento de macroalgas de la zona costera ecuatoriana.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Preparar extractos de macroalga para la elaboración de productos nutracéuticos y bioestimulantes a escala laboratorio y a escala piloto.
2. Analizar los compuestos nutracéuticos y bioestimulantes en los extractos obtenidos por digestión acuosa de la macroalga *Acanthophora spicifera* mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas.

3. Elaborar una simulación basada en el proceso a escala piloto de producción de extractos de compuestos nutraceuticos y bioestimulantes a partir de *Acanthophora spicifera* para la validación de las condiciones de operación, dimensionamiento y costos de la experimentación a través del software SuperPro Designer

1.4 Marco teórico

1.4.1 *Acanthophora spicifera*

La *Acanthophora spicifera* es un alga béntica de la clase Rhodophyta perteneciente a la familia Rhodomelaceae del orden de las Ceramiales (Delgado M., Palacio B., & Aguirre R., 2008). Esta macroalga se encuentra en líneas de cultivo suspendidas en el mar ubicadas en la bahía de Palmar en la provincia de Santa Elena en Ecuador (Beltrán Usho & Vega López, 2022). Se reportó su presencia en la playa del Penacho del Indio en la zona conurbada de Veracruz- Boca del Río en el Estado de Veracruz en México (Cisneros Rosete, Murillo Chimal, Perea Morales, & Valdés Ávila, 2022), así como en el litoral rocoso del Golfo de Urabá en el Caribe Colombiano, donde presenta una elevada cantidad de biomasa pese a ser un alga de crecimiento incrustante (Delgado M., Palacio B., & Aguirre R., 2008).

En la siguiente tabla, se resume información recolectada de fitohormonas identificadas en extractos de *Ulva sp.* y en extracto de *Acanthophora spicifera* y *Porphyra Acanthophora*.

Tabla 1.1 Fitohormonas reportadas en extractos de algas de *Ulva sp.*, *Acanthophora spicifera* y *Porphyra acanthophora* (Medina Ballesteros & Morales Mazzini, 2022)

Fitohormonas	<i>Acanthophora spicifera</i>		<i>Ulva sp.</i>		<i>Porphyra acanthophora</i>
	Vietnam (Guillén, et al., 2022)	Trinidad & Tobago (Ali et al., 2022)	India (Gupta, et al., 2011)	México (Benítez García, et al., 2020)	Brasil (Yokoya, et al., 2010)
	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentración (mg kg^{-1})	Concentración (nmol g^{-1})	Concentración (ng g^{-1})	Concentración (pmol g^{-1})
Ácido abscísico	-	-	34.85±175	17.8±5.20	9.54
Auxinas	-	23.00	32.50±2.13	49.3±5.20	288.8
Citoquininas	15,3	45.00	2.83±1.63	16.29±4.78	101.084
Giberelinas	157	33.00	3.43±1.68	2.11±0.69	-
Jasmonatos	-	-	-	1.5±0.05	-
Silicatos	-	-	5.86±2.72	67.6±4.20	-

En la tabla 1.2, se presenta un listado de compuestos fenólicos reportados en la literatura en la macroalga *Acanthophora spicifera*.

Tabla 1.2 Compuestos Fenólicos en la macroalga *Acanthophora spicifera*

Alga	Compuesto	Cantidad	Fuente	Referencia
<i>Acanthophora spicifera</i>	Acanthophorin B	44 mg	Mar del Sur de China	(Zeng, et al., 2001)
	Acanthophorin A	5 mg		
	Quercetina	45 mg		
	Catequina	50 mg		
	Ácido Gálico	0.02 mg	India	(Abirami & Kowsalya, 2016)
	Ácido dihidroxibenzoico	0.01 mg		
	Ácido Cafeico	0.02 mg		
	Ácido p-cumárico	0.02 mg		
Catequina	249 µg	Ecuador	(Valdez Navarro, Chóez Guaranda, Van Der Hende, Ruíz Barzola, & Manzano Santana, 2023)	

Nota: cuantificación en base seca

1.4.2 Aplicaciones de fitohormonas y flavonoides

Las fitohormonas son sustancias que favorecen la adaptabilidad de las plantas a las condiciones ambientales, por ejemplo, el ácido abscísico permite aliviar el estrés hídrico de las plantas al promover el cierre de las estomas. Este fenómeno también permite el incremento del área foliar, la longitud de los tallos, así como sus pesos, ya que se favorece la fotosíntesis al disminuir la transpiración (Bottini, 2017).

Los flavonoides son compuestos fenólicos encontrados en las plantas que poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitrombóticas, antimicrobianas, antitumorales e inhibidoras de enzimas. Sin embargo, los flavonoides también tienen propiedades prooxidantes como la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), que provocan efectos mutagénicos y genotóxicos, por ejemplo, en presencia de iones metálicos o en altas concentraciones inducen daño oxidativo al ADN, proteínas, lípidos, células o tejidos (Guardado Yordi, Molina Pérez, Matos, & Uriarte Villares, 2012).

1.4.3 Proceso a escala laboratorio de extracción sólido- líquido

Pedroza (2015) presenta las condiciones para la extracción sólido-líquido que incluyen una temperatura superior a la temperatura ambiente, preferentemente 60°C, presión

atmosférica, y un tiempo de procesado lento de 2 horas. Los solventes que utiliza son agua, solventes orgánicos, acuosos y no acuosos y se utilizan en grandes cantidades. Su escalabilidad es limitada y solo se puede realizar en lotes.

Cruz y Romero (2023) utilizaron la metodología para la extracción de las algas dividida en dos partes pretratamiento y extracción, propuesta por Valdez Navarro, Chóez Guaranda, Van Der Hende, Ruíz Barzola, & Manzano Santana (2023): primeramente, extraen impurezas manualmente, entre estas impurezas están las plantas epifitas, plásticos, pedazos de conchas, entre otras. Luego de esto se lava la muestra dos veces con agua de la llave y finalmente con agua destilada. Pasa por un proceso de Liofilización para reducir la humedad presente en las algas, posteriormente se lleva a un proceso de molienda para reducir el tamaño de partícula.

Para la extracción de la macroalga *Acanthophora spicifera* proponen una relación de peso de macroalga seca y solvente de 0.25:10, utilizando agua como solvente a 43°C por 38 minutos (Valdez Navarro, Chóez Guaranda, Van Der Hende, Ruíz Barzola, & Manzano Santana, 2023).

1.4.4 Cuantificación de fitohormonas y flavonoides a escala laboratorio

Medina y Morales (2022) realizaron la identificación y cuantificación de fitohormonas en *Acanthophora spicifera* y *Ulva sp*, a partir de extracción con metanol grado HPLC con una proporción de 1 g de alga seca en 25 ml del solvente durante 45 minutos a 47°C. Por medio de un estudio bibliográfico, determinaron que las fitohormonas en estas macroalgas a cuantificar son el ácido indolacético, el ácido giberélico y la kinetina debido a su disponibilidad en las bases de datos de HPLC.

Por su parte, Cruz y Romero (2023) realizaron la identificación y cuantificación de flavonoides en *Acanthophora spicifera* a partir de tres procesos de extracción: digestión con etanol 80% con una proporción de 0.25 g de alga seca por 5 ml de solvente a 43°C por 38 minutos, sonicación con etanol 80% con una relación de 0.25:5 entre la macroalga seca y el solvente durante una hora entre 24°C Y 30°C y digestión acuosa con una relación de pesos de 0.25:10 entre la macroalga seca y el solvente a 43°C por 38 minutos. Debido a la disponibilidad de sus estándares, determinaron que los flavonoides a cuantificar en esta macroalga son la rutina, la quercetina, la catequina, la procianidina B2, la procianidina C1, la naringenina y la epicatequina.

1.4.5 Escalamiento o Diseño a nivel piloto

Escalar implica la creación de criterios y normas numéricas para determinar las unidades de medida fundamentales que permiten relacionar sistemas de gran escala con sistemas más pequeños, y viceversa. De esta manera, se pueden recopilar los datos necesarios a nivel de laboratorio para establecer el proceso a nivel piloto utilizando métodos de

escalado apropiados. A su vez, esta información se emplea para definir el funcionamiento de la planta industrial (Muñoz Equihua, 2016).

Del mismo modo, Pedroza-Flores y Anaya-Durand (2008) describe una planta piloto como un conjunto de componentes específicos que operan de manera coordinada para imitar el proceso de producción a gran escala. Estos componentes están diseñados para abordar fenómenos simples o complejos que son relevantes para la ingeniería química. La planta piloto proporciona la oportunidad de estudiar interacciones en áreas como la termodinámica, el flujo de fluidos, la transferencia de masa y energía, las reacciones químicas, la biotecnología y el control de procesos, entre otros.

Estos autores establecen tres modelos para el escalado, los cuales son el; Fenomenológico: basado en algún razonamiento teórico, pero de tipo microscópico. No implica consideraciones moleculares y permite hacer predicciones en un rango o rango de actividad no explorado experimentalmente; Empírico: una hipótesis que no tiene base teórica y debe ajustarse únicamente a las interacciones entre datos dentro de un intervalo experimental o propiedades similares del intervalo: obtenidas mediante análisis de similitud de analogías físicas térmicas, mecánicas, geométricas, químicas y de otro tipo.

El enfoque Empírico-Híbrido se refiere a una variante que combina elementos del método empírico de escalado, donde se utiliza el modelado y la simulación para comprender los resultados obtenidos a partir del modelo empírico. Además, se emplea la simulación y la optimización para planificar y mejorar el siguiente nivel de escalado. Esta estrategia aumenta las posibilidades de lograr resultados exitosos, como se señala en el trabajo de (Muñoz Equihua, 2016).

1.4.6 Simulación

Los simuladores pueden modelar un proceso químico a partir de las entradas, las condiciones de operación y los parámetros de diseño de los equipos para predecir las condiciones de salida mediante un balance de materia, prever el equilibrio de las fases y propiedades de los compuestos a partir de modelos termodinámicos complejos y definir los bloques de las propiedades unitarias a partir de modelos rigurosos (Martelo Schmalbach, 2023).

Para realizar un correcto escalamiento son necesarios tanto los datos experimentales como las herramientas computacionales, ya que están más desarrolladas y los equipos y sensores son más exactos. Se necesita realizar una simulación del proceso a escala laboratorio para la validación de las condiciones del proceso antes de realizar una simulación para el escalamiento a mayor escala (Bentolila & Novoa, 2015).

SuperPro Designer es un simulador de procesos, especialmente diseñado para las operaciones unitarias utilizadas en bioprocesos, que facilita el modelado, evaluación y optimización de procesos integrados. Este simulador puede manejar procesos en lotes o continuos (Canizales, Rojas, Pizarro, Caicedo-Ortega, & Villegas-Torres, 2020). Su principal característica es la inclusión de herramientas para estimar el balance de masa y coste de una planta específica operando tanto de forma continua como discontinua, así como la inclusión de herramientas de cálculo específicamente diseñadas para procesos que contienen componentes biológicos (Benítez-Cortés, Pérez-Martínez, Barrios-Rodríguez, Rodríguez-Machado, & Pérez-Sánchez, 2018).

Tabla 1.3 Simuladores de procesos químicos

	Aspen plus	Pro / II	SuperPro Designer
Empresa Desarrolladora	Aspen Technology Inc.	AVEVA SimSci	Intelligen Inc.
Base de datos de compuestos	Se puede añadir por definición del usuario.	Se puede añadir por definición del usuario.	Se puede añadir por definición del usuario.
Tipo de procesos simulables	Destilación, procesos de deshidratación, remoción de gases ácidos, químicos a granel, procesos depolímeros, procesos de producción de sólidos (Aspentech, 2023).	Procesos petroquímicos, producción de gases y aceites, refinerías, polímeros, productos farmacéuticos (AVEVA, 2020).	bioprocesos, productos alimenticios, procesos metalúrgicos, farmacéuticos, procesos ambientales y procesamiento de desechos (Intelligen Inc., 2017).
Tipo de resultados de diseño	Optimización de flujo de producción, rendimiento, eficiencia energética y calidad del proceso, reducción de CAPEX, análisis de seguridad, análisis ambiental. (Aspentech, 2023).	Análisis operacional, optimización de diseño de procesos en estado estacionario, reducción de costos operativos y costos de capital. (AVEVA, 2020).	Reporte de materiales y flujos, Evaluación económica, análisis de flujo de caja, costos de producción, throughput, reporte ambiental, reporte de emisiones, reporte de equipos (Intelligen Inc., 2017).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

El objetivo principal de este trabajo de investigación es diseñar una planta a escala piloto para la producción de un producto bioestimulante a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera*.

El presente trabajo se dio a cabo en el Laboratorio de Bioproductos y Bioprocesos para las pruebas a escala laboratorio y el Laboratorio de Escalado de Productos Naturales y Nutracéuticos para las pruebas a escala piloto en CIBE en el Km. 30.5 vía Perimetral, en Guayaquil, en la provincia del Guayas.

La metodología desarrollada para el cumplimiento de este proyecto consiste en tres etapas:

- 1) Producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala de laboratorio
- 2) Producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala piloto
- 3) Simulación del proceso de extracción de bioestimulante

2.1 Esquema de trabajo

Ilustración 2.1 *Flujograma propuesto para la producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala laboratorio*

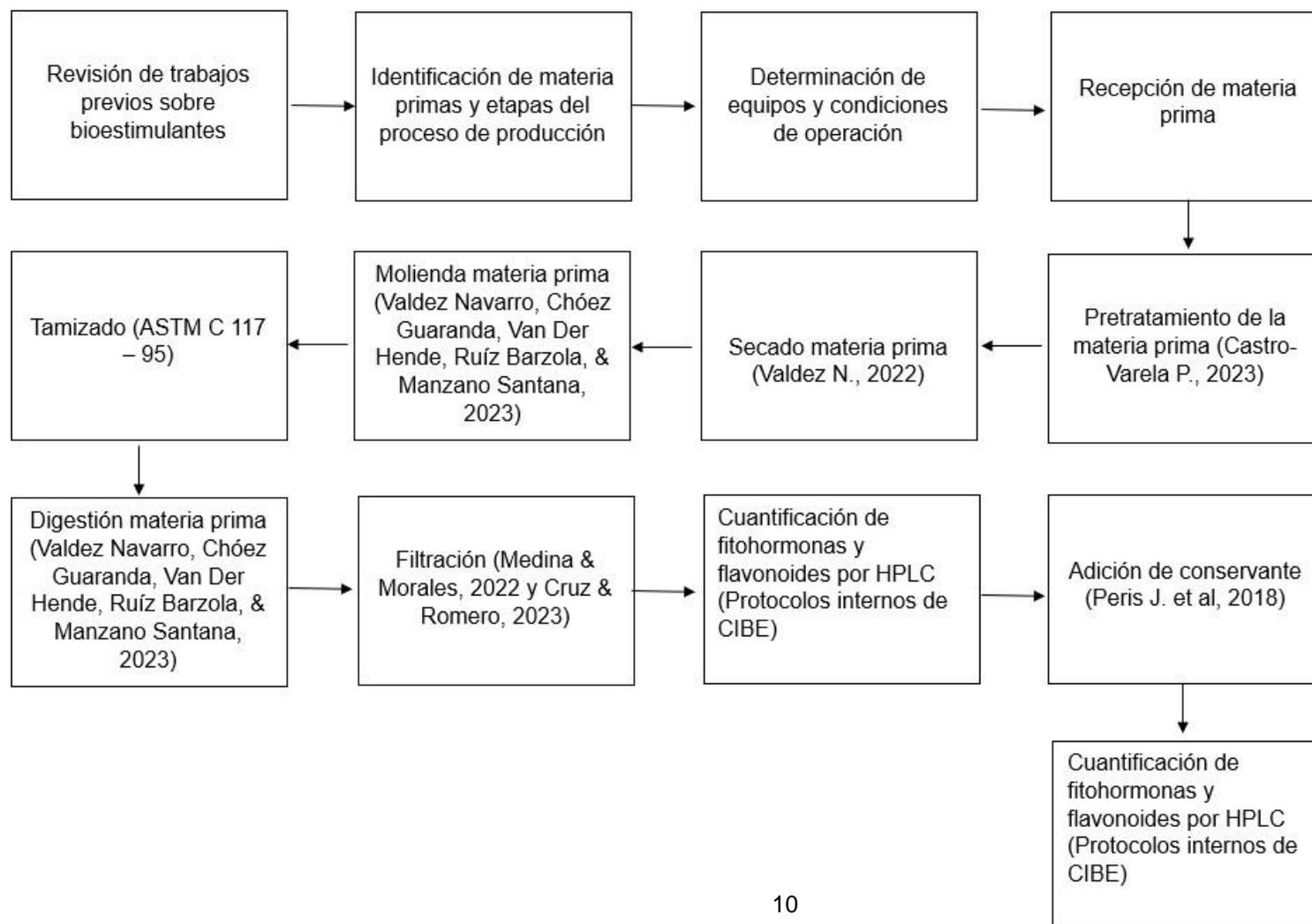


Ilustración 2.2 *Flujograma propuesto para la producción experimental del bioestimulante nutracéutico a escala piloto*

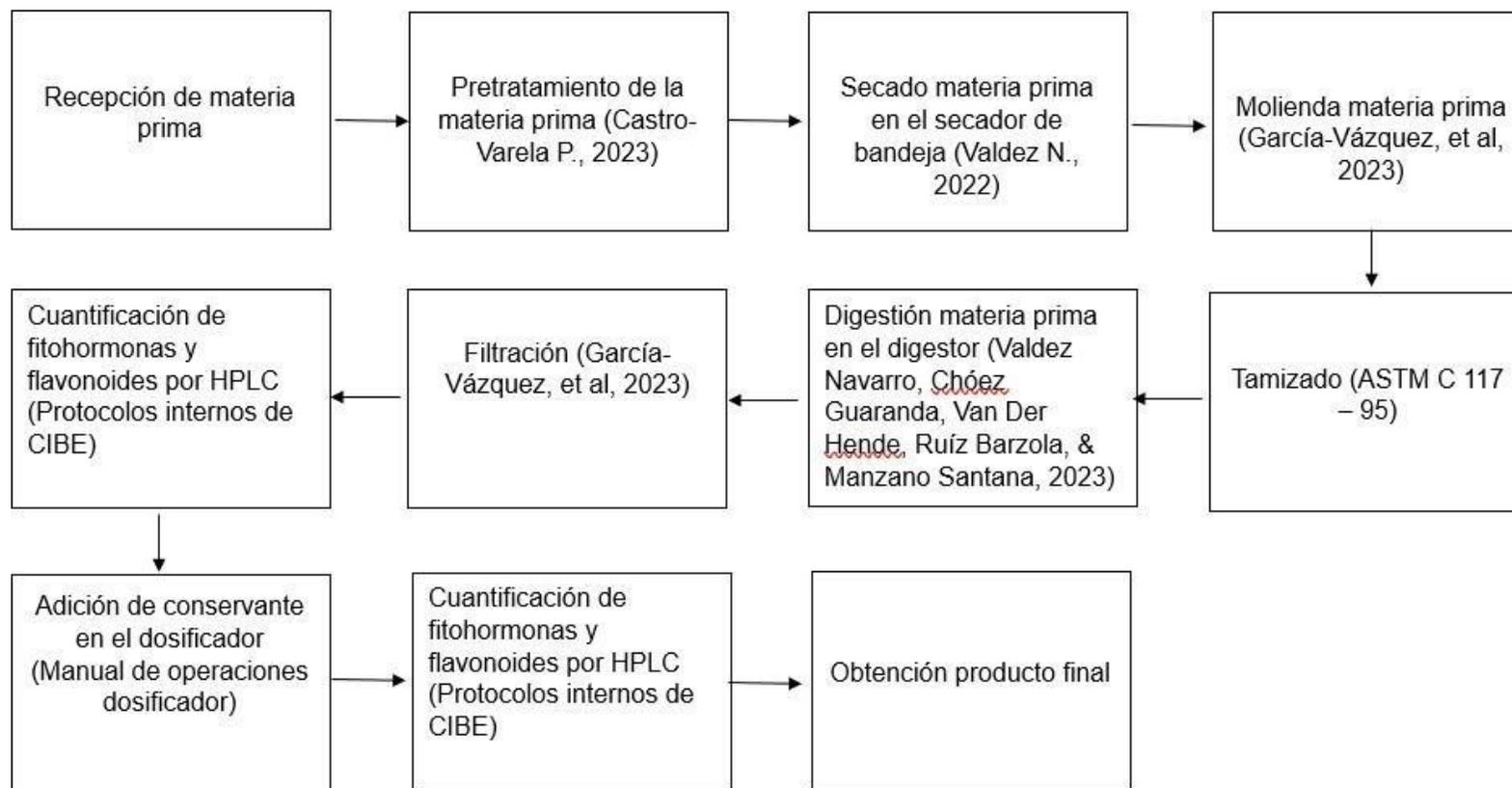
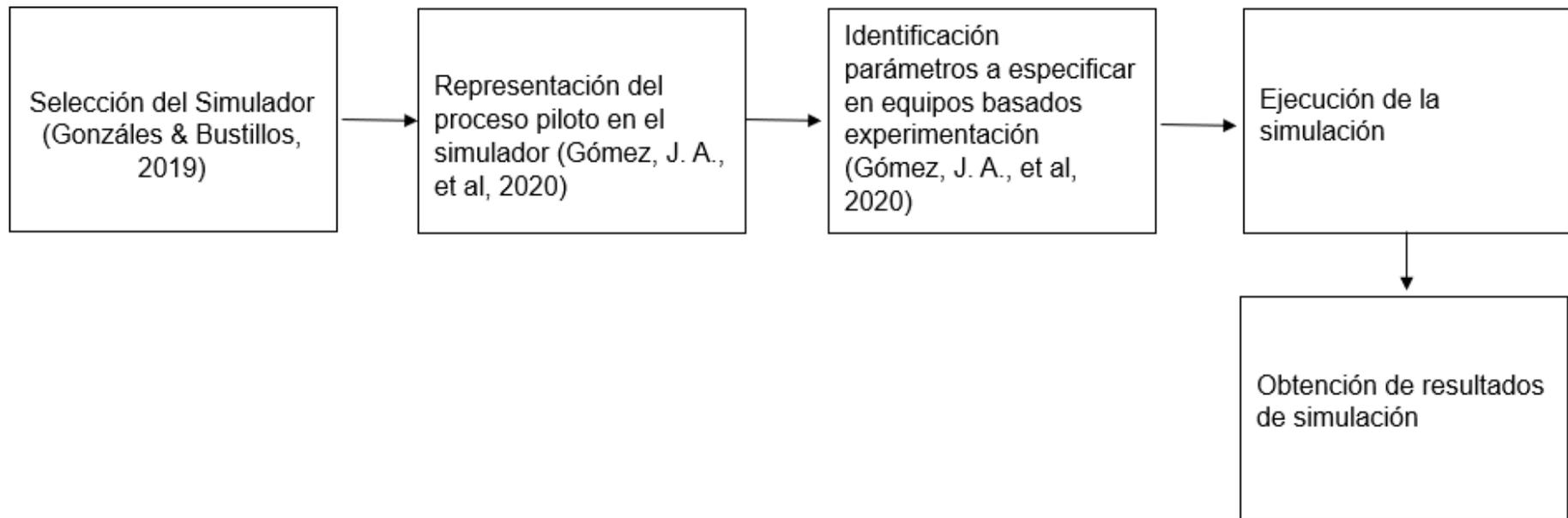


Ilustración 2.3 *Flujograma propuesto para la elaboración de la simulación del proceso productivo del bioestimulante nutracéutico*



2.2 Proceso a escala laboratorio

2.2.1 Pretratamiento de la muestra

Se utilizaron muestras de *Acanthophora spicifera*, cosechadas en distintas comunas del Ecuador como Ayangue, San Pedro y Ballenita y en diferentes estaciones del año (invierno y verano), las algas son trasladadas desde las comunas hasta la ESPOL mediante una nevera (Méndez-Trejo, Riosmena-Rodríguez, Ávila, López-Vivas, & Sentíes, 2014), manteniéndolo a bajas temperaturas para preservar sus propiedades físicas y químicas, para luego ser empaquetadas en fundas Ziploc y almacenadas en un congelador vertical a -4°C en el Laboratorio de Escalado de Productos Naturales y Nutraceuticos del CIBE-ESPOL.

2.2.1.1 Secado

Previo al secado, se procedió a descongelar las muestras al ambiente por 24 horas para colocarlas sobre papel de secado previamente revestidas en cada una de las 10 bandejas del secador con circulación de aire a 45°C durante 5 horas existente dentro del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la carrera de Ingeniería Química de la ESPOL (Valdez Navarro, 2022), el contenido de humedad se redujo hasta un 8% (Méndez-Trejo, Riosmena-Rodríguez, Ávila, López-Vivas, & Sentíes, 2014). Las muestras secas se guardaron en fundas zipper marca Diamond debidamente enumerada según la bandeja en las que se encontraba en orden descendiente desde la parte superior.

Se registró la masa de la bandeja en la posición 6 por cada hora de operación en el secador de bandejas hasta que la masa de esta se mantuviese constante. Solo se registró el peso de la sexta bandeja siendo esta una bandeja intermedia dentro del secador para no perturbar demasiado el equilibrio en el proceso de secado. Adicional, se pesó la masa final de las otras bandejas.

2.2.1.2 Limpieza

Se extrajo las impurezas como arena y conchas de mar de las muestras secas de manera manual. Se guardaron las muestras limpias en fundas de papel y se insertaron en fundas de polietileno tipo zipper para su posterior análisis. Adicional, se guardaron algunos residuos de algas sin limpiar como contramuestra.

2.2.1.3 Determinación de pH y conductividad

Se realizaron análisis de pH y conductividad como un control de calidad a partir de una mezcla de 2 g del alga y 30 ml de agua por triplicado y una mezcla de 5 g en 50 ml usando un potenciómetro marca Oakton y un conductímetro marca Oakton según los protocolos internos CIBE-ESPOL.

2.2.1.4 Molienda

Un molino eléctrico de café marca Westinghouse de 180 W de potencia del Laboratorio se empleó para la trituration de la muestra limpia, la cual fue colocada de manera progresiva para evitar la

sobrecarga del equipo hasta la obtención de un polvo fino, actividad que se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioproductos y Bioprocesos CIBE-ESPOL.

2.2.1.5 Tamizado

Se realizó un análisis granulométrico de las muestras usando el tren de tamices del Laboratorio de Análisis Químico Instrumental (LAQUINS) y la zaranda del Laboratorio de Servicios Generales

2.2.2 Extracción de macroalga

Se realizó por digestión empleando la metodología descrita por Cruz y Romero (2023), empleando una proporción de peso de macroalga y agua de 0.25:10 (100 gramos de agua y 2.5 gramos de alga) en un vaso de precipitación y se calentó en una plancha de calentamiento marca IKA modelo RCT basic durante 38 minutos a una temperatura de 43°C con agitación magnética y su posterior proceso de filtración simple con papel Whatman 1 para separar la fase sólida y líquida. Se pesaron los residuos del alga y el extracto obtenido en una balanza analítica marca Isolab, al cual se le midió pH y conductividad que sirve como un parámetro para determinar el grado de alcalinidad o acidez del extracto obtenido, guardándose en tubos Falcon de 50 ml en refrigeración a -4°C debidamente etiquetados. Se realizaron pruebas con el alga molida y el alga sin moler y se realizaron tres repeticiones de cada caso, para analizar cómo repercute las condiciones de las algas en el proceso de digestión con respecto al contenido de flavonoides y fitohormonas presentes en el extracto bioestimulante.

2.2.3 Adición del conservante

Mediante una búsqueda bibliográfica, se seleccionó el conservante a ser usado en base a la siguiente patente WO 2018/185352 A1 en la que se utiliza metabisulfito de sodio como conservante para la formulación de bioestimulante a partir de extractos de alga en un rango de 0-5% de conservante (Patente nº WO 2018/185352 A1, 2018). Por tal motivo se usó un porcentaje de 2.5% de metabisulfito de sodio dentro del rango propuesto por la patente para nuestro proyecto.

Se realizaron pruebas con el conservante para determinar las condiciones óptimas para su adición en el extracto bioestimulante obtenido puesto que no se encontraron las condiciones de temperatura y de agitación de operación usadas en la patente, por lo cual se hicieron ensayos a diferentes temperaturas. Realizándose dos tipos de extracciones, una con el alga triturada y la otra con el alga sin triturar. Los extractos obtenidos se separaron en dos muestras para realizar una prueba agregando el metabisulfito de sodio a temperatura ambiente (25°C) y a temperatura elevada (40°C) durante 10 minutos en una plancha de calentamiento marca IKA modelo RCT.

Posteriormente, se agregó el metabisulfito de sodio a las 6 muestras obtenidas anteriormente tomando 20 gramos de estas muestras y agregando 0.5 g del conservante. Finalmente se realizaron pruebas de pH y conductividad a los extractos para determinar los efectos del conservante en las propiedades del extracto.

2.3 Proceso a escala piloto

Para la realización de la parte del escalado piloto se siguió los mismos pasos realizados en el apartado 2.2 con una serie de variaciones en cuanto equipo y condiciones de operación para la etapa de molienda, extracción, filtrado y adición de conservante, listados a continuación.

Tabla 2.1 Tabla comparativa proceso a escala laboratorio y escala piloto del proceso de producción de bioestimulante

Parámetro	Escala Laboratorio	Escala Piloto
	Molienda	
Equipo	Molino eléctrico de café marca Westinghouse	Licudadora clásica Oster
Potencia	180 watts	700 watts
Característica	Polvo Fino	Polvo Fino
Tamaño Partícula	1 mm aprox.	1 mm aprox.
	Extracción	
Equipo	Plancha de calentamiento marca IKA modelo RCT basic	Reactor de Transesterificación de 30L
Tiempo de Operación	38 min	3 h
Temperatura de operación	43°C	50°C
Velocidad de agitación	1500 rpm	1580 rpm
Proporción alga/solvente	10/40 (g/ml)	10/70 (g/ml)
	Filtrado	
Material	Papel Whatman 1	Bolsa filtrante de 5 micras
	Adición de Conservante	
Equipo	Plancha de calentamiento marca IKA modelo RCT basic	Dosificador Llenador de pistón de una sola cabeza Finkpack
Tiempo de Operación	10 min	1 hora
Velocidad de agitación	1500 rpm	No aplica
Porcentaje de conservante	2.5%	2.5%

2.4 Cuantificación de fitohormonas y flavonoides de la muestra

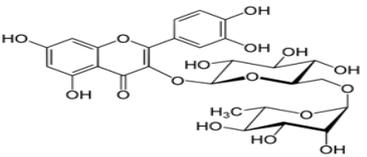
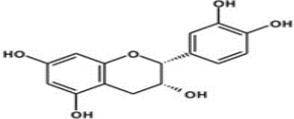
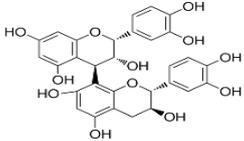
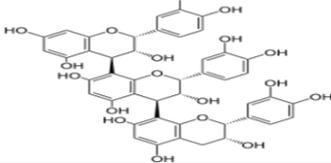
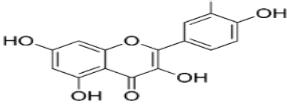
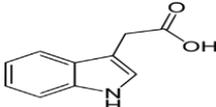
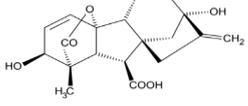
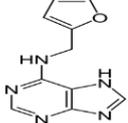
La cuantificación se realizó en un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) marca Waters localizado en el laboratorio de bioproductos y bioprocesos del CIBE. Para la preparación de

las muestras, se tomaron 1.5 ml de cada extracto usando una micropipeta y se introdujeron en tubos Eppendorf, después, se centrifugaron las muestras por 5 minutos para la separación de partículas residuales en los extractos. Se extrajo el sobrenadante de los tubos con una jeringa y se filtró usando un filtro de jeringa de 0.45 µm para depositar en los viales para HPLC marca Agilent. Se inyectaron los viales junto un blanco que consiste en agua tipo HPLC.

2.4.1 Selección de Fitohormonas y Flavonoides

A partir de referencias bibliográficas se seleccionó las fitohormonas y flavonoides que se identifican en el estudio teniendo en cuenta su disponibilidad.

Tabla 2.2 Flavonoides y Fitohormonas

Grupo	Flavonoides Estructura Química
Fenólico	Rutina 
	Epicatequina 
	Procianidina B2 
	Procianidina C1 
	Quercetina 
Grupo	Fitohormonas Estructura Química
Auxinas	Ácido indolacético 
Giberelinas	Ácido giberélico 
Citoquininas	Kinetina 

2.4.2 Cuantificación de fitohormonas

Se adaptaron las condiciones operativas utilizadas para la cuantificación de flavonoides realizada por Medina y Morales (2022), basadas en los protocolos internos de CIBE. Estas técnicas fueron ejecutadas por el personal cualificado. El instrumento utilizado fue un Arc HPLC marca Waters; equipado con un inyector automático, una bomba cuaternaria y una columna marca Agilent C18 (4,6 x 150 mm, tamaño de partícula 5 μ m). Los datos se interpretaron utilizando el software Empower™ 3.

El volumen de inyección del extracto fue de 10 μ l. Las fases móviles que se utilizaron para separar las sustancias activas fueron acetonitrilo y ácido fórmico 0.1% en agua. El caudal de inyección de la fase móvil fue de 1 ml/min a una temperatura de columna de 25 °C.

2.4.3 Cuantificación de flavonoides

Las condiciones de operación utilizadas para la cuantificación de flavonoides fueron adaptadas de las condiciones descritas por Cruz y Romero (2023) basándose en los protocolos internos de CIBE. El personal cualificado ejecutó la operación. El instrumento utilizado fue un Arc HPLC marca Waters; equipado con un inyector automático, una bomba cuaternaria y una columna marca Agilent C18 (4,6 x 150 mm, tamaño de partícula 5 μ m). Los datos se interpretaron utilizando el software Empower™ 3.

El volumen de inyección del extracto fue de 20 μ l. La fase móvil se usó para separar las sustancias activas: (A) metanol y (B) tampón dihidrógeno fosfato de potasio 5 mmol/l (20:80). El caudal de inyección de la fase móvil fue de 1 ml/min con una temperatura de columna de 38 °C.

2.5 Simulación

2.5.1 Registro de componentes

En el simulador elegido para nuestro proyecto que en este caso es el SuperPro Designer, no se disponía de ninguno de los componentes puros necesarios para la simulación como lo son la macroalga, los flavonoides y fitohormonas previamente seleccionados en la etapa 2.4.1. Por lo tanto, fue necesario registrar los compuestos correspondientes en función de las propiedades requeridas por el simulador como se muestra en la Tabla 2.2. Estas propiedades se determinaron utilizando Aspen Properties V.12, que permite la determinación de diversas propiedades fisicoquímicas y termodinámicas de algunas especies químicas utilizando la base de datos de composición y modelo termodinámico de Aspen Plus (Aspen Technology Inc., 2000), (Vaquerizo & Cocero, 2018)

Tabla 2.3 Propiedades para ingreso de nuevos compuestos en el simulador (Zea Villón, 2023)

Propiedades Físicas	Parámetro
Peso molecular	g/gmol
Punto de ebullición normal	°C
Temperatura crítica (Tc)	°C
Presión crítica (Pc)	Bar
Factor de compresibilidad	valor adimensional
Factor acéntrico	valor adimensional
Densidad	$a+bT$ (T en Kelvin)
Capacidad calorífica	$a+bT+cT^2+dT^3+eT^4$ (T en Kelvin)
Coefficientes de Antoine	$a-b/(c+T)$ (T en Kelvin)

2.5.2 Suposiciones previas a la simulación

Para cumplir con los grados de libertad, y evitar la sobre especificación del proceso para la obtención de bioestimulante se realizaron las siguientes suposiciones:

Tabla 2.4 Suposiciones previas a la simulación (Zea Villón, 2023)

Proceso	Suposiciones
Alimentación	La materia prima posee una humedad superior al 90% (Espinoza Vasquez, et al., 2023).
Secador de bandejas	<ul style="list-style-type: none"> El agua es el único compuesto volátil presente en la entrada. Se utiliza aire en exceso con humedad, temperatura y velocidad constante. No hay pérdida de materia por la potencia del aire. Humedad de equilibrio de 0.98 g agua/ g masa seca (Gupta, Cox, & Abu-Ghannam, 2011).
Extractor	<ul style="list-style-type: none"> No hay gradientes de temperatura y concentración en el mezclado. No hay transferencia de energía con el ambiente.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Resultados a escala laboratorio

De los extractos que se obtuvieron de la macroalga a escala de laboratorio, se logró extraer cinco flavonoides entre ellos epicatequina, procianidina C1, procianidina B2, rutina y quercetina. La extracción de estos flavonoides se da debido a la semejanza con la polaridad del solvente que en este caso fue el agua con respecto a los flavonoides de carácter polar.

En cuanto a la quercetina, es bien conocido que es escasamente soluble en agua a temperatura ambiente, sin embargo, Trigueros (2016) reporta que la quercetina aumenta su solubilidad en agua a diferentes temperaturas, a 60°C, 70°C y 80°C su concentración en ppm es de 42.5, 64.2, 88.7, 114,8 respectivamente, por lo cual al haber realizado la digestión a una temperatura de 43°C se pudo obtener una cuantificación de 31.85 mg/kg de alga seca. Así mismo, la rutina al ser un flavonoide o-glucósido tiende a ser más soluble en agua (Cartaya & Reynaldo, 2001; Mendoza Wilson, 2006). De la misma manera otro compuesto que se pudo detectar es la catequina debido a que es soluble en medios acuosos (López Gil, 2013).

Por otro lado, en cuanto a fitohormonas solo se logró cuantificar el ácido indolacético con una concentración de 9.12 mg/kg de alga seca, mas no se pudo cuantificar la kinetina ni el ácido giberélico por su baja concentración, debido a que se encontraban por debajo de las curvas de calibración de las fitohormonas previamente cargadas en el equipo HPLC. En la tabla 3.1, se puede observar un resumen de los flavonoides y fitohormonas presentes en los extractos a partir de la *Acanthophora spicifera* a escala de laboratorio.

Tabla 3.1 Cuantificación de Fitohormonas y flavonoides a Escala Laboratorio

Fitohormona		
Compuesto	Valor	Unidades
AIA	9,12	mg/kg de alga seca
Flavonoides		
Compuesto	Valor	Unidades
Epicatequina	33,85	mg/kg de alga seca
Procianidina C1	63,19	mg/kg de alga seca
Rutina	16,37	mg/kg de alga seca
Procianidina B2	40,78	mg/kg de alga seca
Quercetina	31,85	mg/kg de alga seca

3.2 Resultados a escala piloto

Se receptaron 8kg de *Acanthophora spicifera* cosechadas en los meses de marzo, julio y diciembre, posteriormente se realizó una inspección de la materia prima en donde se identificó trazas de otras algas, crustáceos y conchas que se retiraron manualmente, y por consiguiente la masa se redujo a menos de 4 kg.

El proceso de pretratamiento de la materia prima constó de dos etapas posterior a su limpieza las cuales fueron una etapa de secado para reducir el contenido de humedad y una etapa de tamizado para el control del tamaño de partícula para el proceso de extracción de los flavonoides y fitohormonas.

La materia prima se secó en un secador de bandejas (Apéndice A.1) durante 6 horas a 45°C, para reducir la humedad del alga a un 8%. Cabe mencionar que tanto para la escala de laboratorio como la de piloto se utilizó el mismo secador de bandejas por motivos prácticos, puesto que se necesitó de una gran cantidad de materia prima para lo requerido en ambas escalas. En la Tabla 3.2 se presentan los resultados del secador de bandeja en donde se obtuvo un porcentaje de humedad promedio de 91.92% con un rendimiento de 8.07% lo cual representa una pérdida de 3.8 kg de agua.

Tabla 3.2 Resultados secador de bandeja

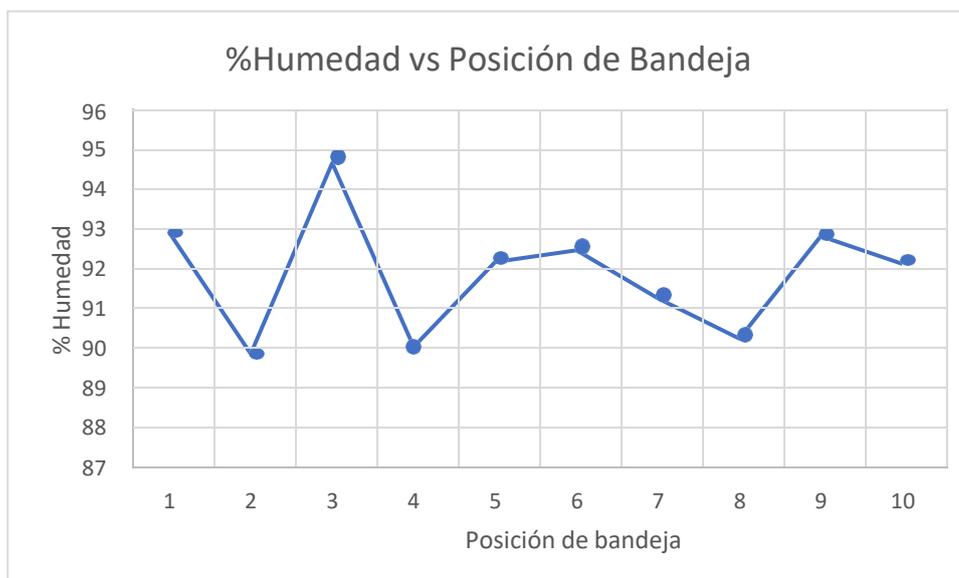
Bandeja	Humedad (g H ₂ O/g m.s)	% Humedad	% Rendimiento
Bandeja 1	13,107	92,911	7,089
Bandeja 2	8,867	89,865	10,135
Bandeja 3	17,739	94,664	5,336
Bandeja 4	9,043	90,042	9,958
Bandeja 5	11,774	92,172	7,828
Bandeja 6	12,280	92,470	7,530
Bandeja 7	10,441	91,260	8,740
Bandeja 8	9,250	90,244	9,756
Bandeja 9	12,929	92,821	7,179
Bandeja 10	11,700	92,126	7,874
Promedio		91,928	8,072

En la ilustración 3.1 se puede ver el comportamiento del contenido de humedad con respecto a la posición de las bandejas dentro del secador, observándose que la gráfica no tiene un comportamiento lineal por lo que el flujo del aire dentro del mismo no es constante.

Así mismo, esto es causado por el diseño del secador, debido a que en la posición media se encuentra la resistencia térmica del equipo, por lo que la temperatura es mayor en este punto ayudando a la transferencia de calor. Por otro lado, La zona del fondo no llega a los 45°C y en la

parte superior del equipo, el aire ya tiene cierto contenido de humedad, por lo que la capacidad de transferir agua al aire se ve afectada.

Ilustración 3.1 Comportamiento contenido de humedad dentro del secador de bandeja

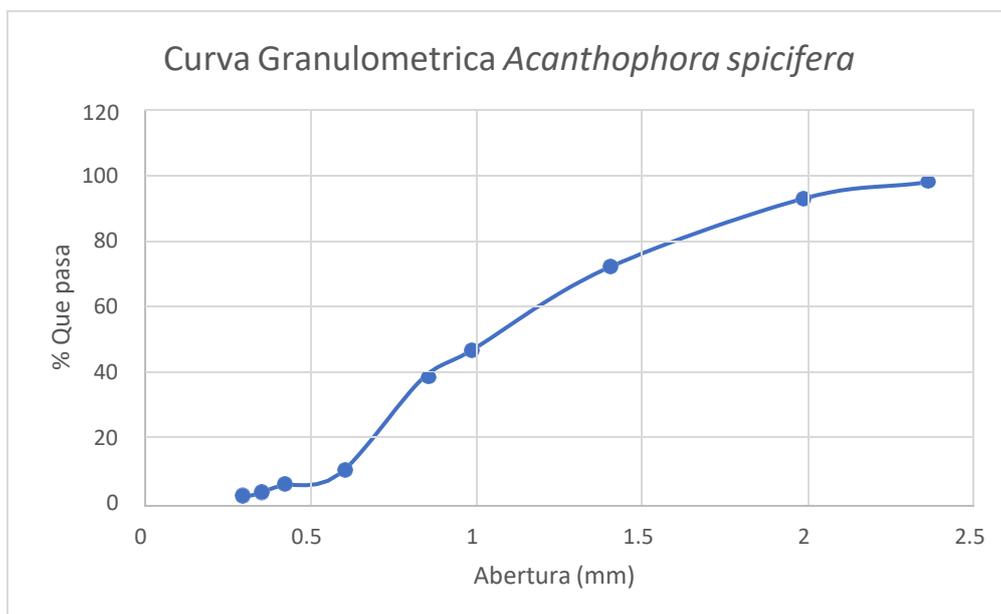


Luego del secado, la materia prima fue triturada y tamizada durante 10 minutos con una serie descendente de tamices con tamaños de malla de 2.36 mm hasta 300 μm (Apéndice A.3) para eliminar polvo y tener un control del tamaño de partícula. En la Tabla 3.3 y la ilustración 3.2 se muestran los resultados de la etapa de tamizado, en donde un gran porcentaje de la materia prima triturada tiene el tamaño de 0.6mm y 1 mm, con un diámetro promedio de 1.1 mm.

Tabla 3.3 Resultados Análisis Granulométrico

Malla	Abertura del tamiz (Dpi, mm)	Masa (kg)	% Retenido	% Retenido Acumulado	% Que pasa
8	2,360	1,340	2,233	2,233	97,767
10	2,000	2,890	4,815	7,048	92,952
14	1,400	12,990	21,643	28,690	71,310
18	1,000	14,790	24,642	53,332	46,668
20	0,850	5,250	8,747	62,079	37,921
30	0,600	17,430	29,040	91,120	8,880
40	0,425	2,140	3,565	94,685	5,315
45	0,355	1,510	2,516	97,201	2,799
50	0,300	0,600	1,000	98,201	1,799
Tapadera	-	1,080	1,799	100,000	0,000

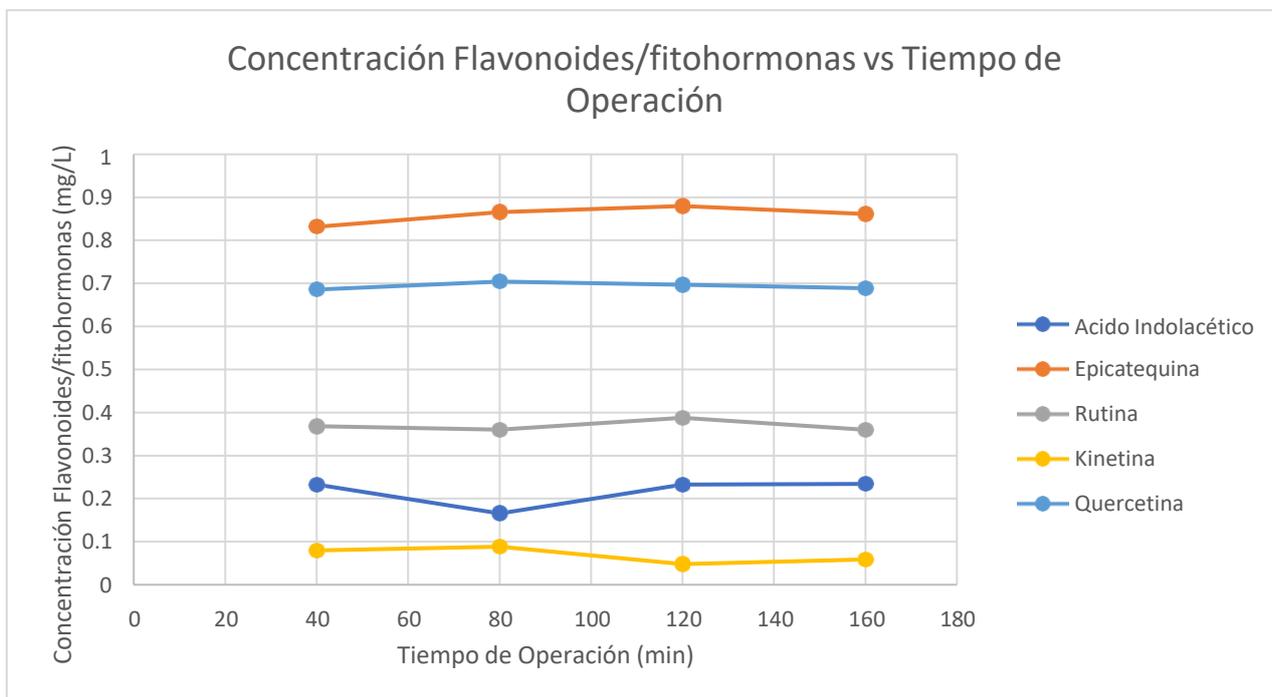
Ilustración 3.2 Curva Granulométrica



Para la extracción en la escala piloto, se empleó 14L de agua con 200 gramos de alga para la digestión acuosa, obteniéndose 9L de extracto y un residuo de alga de 3kg aproximadamente, la pérdida de extracto se lo puede atribuir a las pérdidas dentro del equipo en donde se realizó la extracción así mismo en la bolsa filtrante puesto a que esta llegaba a absorber una cantidad considerable del extracto al hacerlo pasar por la misma. Posteriormente el extracto obtenido fue pasado al equipo dosificador en donde se mezcló con el conservante y se envasó el producto en botellas de 150 ml y 500ml.

En la ilustración 3.3 se muestran la concentración de fitohormonas y flavonoides de las muestras tomadas a intervalos de 40 min en el proceso de extracción acuosa.

Ilustración 3.3 Concentración de fitohormonas y flavonoides a diferentes intervalos de recolección



En cuanto a los resultados obtenidos a escala piloto se puede observar un aumento en la concentración de flavonoides y fitohormonas, lo cual se debió a la variación de las condiciones de operación para poder llevar a cabo el proceso a una escala más grande que la realizada en el laboratorio, entre los cuales se variaron la temperatura de la digestión y la proporción sólido/solvente.

Se logró extraer tres flavonoides a diferencia de la escala laboratorio en la cual se cuantificaron cinco flavonoides, entre ellos epicatequina, rutina y quercetina con una concentración de 64.3, 25.37, 47.30 mg/kg de macroalga seca respectivamente, sin embargo, tanto la procianidina C1 como la procianidina B2 se detectaron dentro del extracto obtenido mas no pudo ser cuantificada ya que su concentración se encontraba por debajo de los valores de la curva de calibración para flavonoides previamente establecida para el equipo HPLC.

Por otro lado, en cuanto a las fitohormonas se logró cuantificar tanto el ácido indolacético como la kinetina con una concentración de 16.41 y 2.59 mg/kg de alga seca, a diferencia de la escala de laboratorio en donde no se pudo cuantificar la concentración de la kinetina, sin embargo, el ácido giberélico por su baja concentración siguió sin ser cuantificable, debido a que se encontraba por debajo de las curvas de calibración de las fitohormonas previamente cargadas en el equipo HPLC. En la tabla 3.4, se pueden observar una tabla comparativa de los flavonoides y fitohormonas presentes en los extractos a partir de la *Acanthophora spicifera* a escala piloto y laboratorio

Tabla 3.4 Comparación de Fitohormonas y flavonoides a escala laboratorio y piloto

	Compuesto	Escala laboratorio	Escala Piloto
Fitohormona	Ácido Indolacético (mg/kg)	9,12	16,41
	Kinetina (mg/kg)	NC	2,59
	Ácido Giberélico (mg/kg)	NC	NC
Flavonoides	Epicatequina (mg/kg)	33,85	64,34
	Rutina (mg/kg)	16,37	25,36
	Quercetina (mg/kg)	31,85	47,3
	Procianidina C1 (mg/kg)	63,19	NC
	Procianidina B2 (mg/kg)	40,78	NC

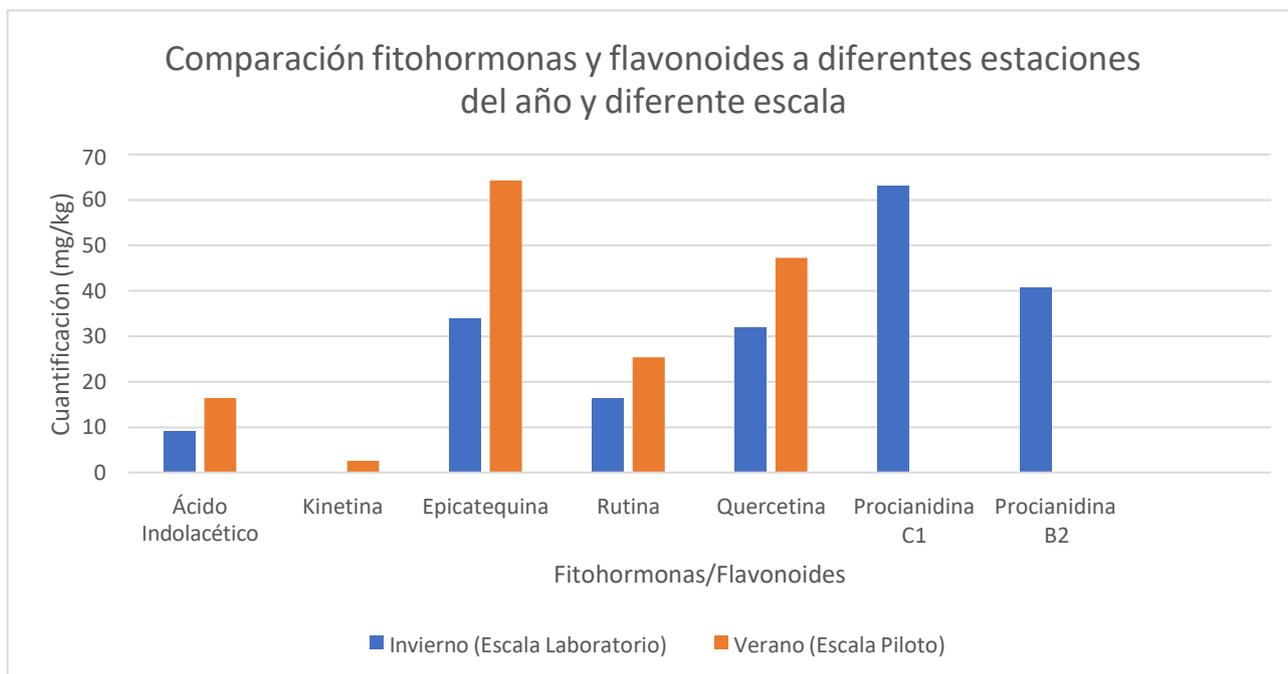
NC=No Cuantificable

Se puede apreciar que las composiciones de los flavonoides y fitohormonas cuantificadas en los extractos obtenidos a escala piloto aumentaron con respecto a las obtenidas en la escala de laboratorio lo cual se lo puede atribuir al aumento de la temperatura, el cual fue de aproximadamente de 10 °C con respecto a lo del laboratorio que fue de 43 °C, por lo que a una mayor temperatura la solubilidad tanto de las fitohormonas y flavonoides con respecto al agua se ve en aumento y por consiguiente se obtiene una mayor calidad en la extracción.

Así mismo la relación de soluto/solvente paso de ser de 1:40 a 1:70, esta relación se aumentó debido al equipo en donde se realizó la digestión acuosa que en este caso fue un reactor de transesterificación de 30L, contaba con una agitación por aspa que solo llegaba a cubrir la mitad del equipo y debido a la poca disponibilidad de la materia prima que en este caso era la *Acanthophora spicifera* se lo tuvo que realizar a tal proporción para asegurar la agitación dentro del equipo. Del mismo modo, se consideró esta relación para prevenir la obstaculización de las aspas dentro del equipo, ya que la materia prima al estar en contacto con el solvente gana un gran volumen y por consiguiente puede llegar a impedir el movimiento de las aspas.

La variación de la concentración de flavonoides y fitohormonas también se le puede atribuir a la temporada en la que se cosecho la macroalga. Según varios estudios, la concentración de pigmentos en diferentes familias de algas disminuye en la estación cálida y aumenta en la estación fría (Medina Ballesteros & Morales Mazzini, 2022). Por un lado, la cuantificación de los flavonoides y fitohormonas en la escala de laboratorio fue realizada con muestras de algas provenientes en la estación caliente o invierno que va desde diciembre a mayo, en cambio en la escala piloto fue realizado con muestras de algas mayormente recolectadas en la estación de verano o fría que va desde junio a noviembre, y por consiguiente se aprecia tal diferencia en la cuantificación realizada. En la ilustración 3.4, se pueden observar un histograma comparativo de fitohormonas y flavonoides a las diferentes escalas del proceso con respecto a la estación de cosecha de la materia prima.

Ilustración 3.4 Histograma comparativo de fitohormonas y flavonoides a diferentes estaciones del año



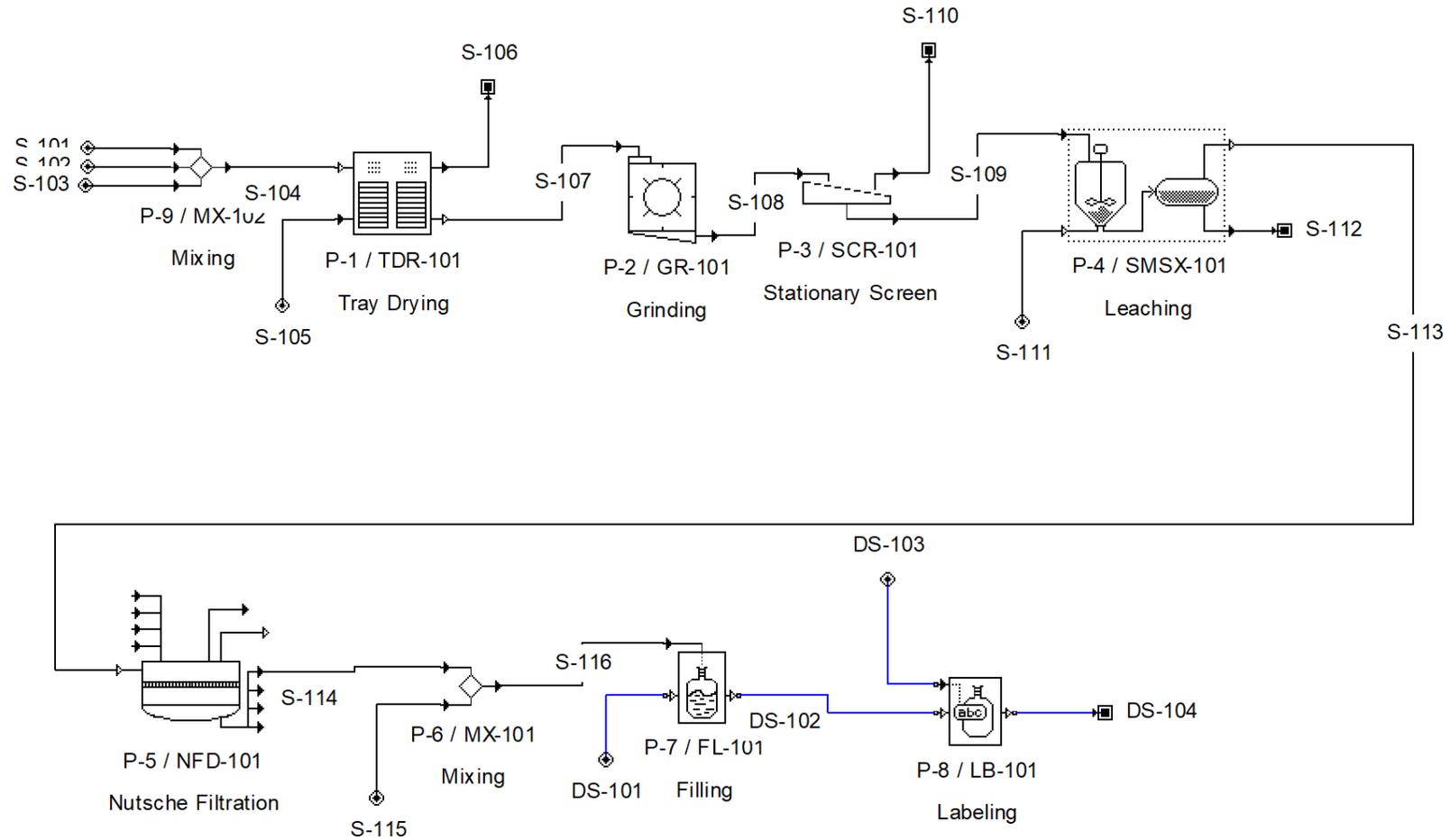
3.3 Resultados de la simulación

Aunque Aspen Plus V12.1 cuenta a su disposición de los equipos para la simulación del proceso de producción de bioestimulante a partir de la *Acanthophora spicifera*, así como de los modelos de operación y permite el registro de nuevos componentes como lo son las fitohormonas, flavonoides y la biomasa algal, su operabilidad es más compleja que la del SuperPro Designer.

Cada una de las fitohormonas y flavonoides cuantificadas en las etapas de laboratorio y piloto fueron creadas mediante Aspen Plus V12.1 (Apéndice C.1) para luego ser registradas en Super Pro Designer. Sin embargo, para la biomasa algal se recurrió a fuentes bibliográficas de macroalgas de la misma familia para la determinación aproximada de la fórmula empírica, densidad y calor específico de esta, debido a las limitaciones para determinar experimentalmente dichos parámetros necesarios para la simulación.

El diagrama de flujo de la simulación del proceso de producción de bioestimulante a partir de la *Acanthophora spicifera* dentro del SuperPro Designer según la descripción del proceso descrito tanto en la escala de laboratorio y piloto se muestra en la Ilustración 3.5 (Gómez, Sánchez, & Correa, 2020).

Ilustración 3.5 Diagrama de proceso de extracción de bioestimulante en SuperPro designer



El proceso comienza con las corrientes de biomasa de alga, agua, y fitohormonas o flavonoides mezclándose en el MIX-102, con un flujo de 2257 g/batch con respecto a la escala piloto, se lo trabajo de esa manera para así tener un mayor control sobre las proporciones. Posteriormente la mezcla de materias primas se seca en el secador de bandejas (TDR-101), durante 6 horas a 45°C reduciendo el contenido de humedad hasta un 7%. Después del secado quedan 215.08 g/batch, a la cual se reduce su tamaño de partícula a 2mm en el molino GR-101 y se tamiza en el tamiz de mesa vibratoria SCR-101 para separar el material mayor a 2mm en base al tamizado realizado. Al extractor SMSX-101 ingresan 210.19 g/batch de alga y 14 L/batch de agua a condiciones ambientales, siguiendo la relación 1:70 sólido-líquido. Dentro del extractor, la mezcla de alimentación de materias primas y agua se agita durante 160 minutos y se calienta hasta 50°C. Al final de la operación, se obtuvieron 10700.22 g/batch de bioestimulante. Luego, pasa por el filtro NFD-101 para la retención de partículas de alga sobrantes y mezclándose con el conservante en el MIX-101. Para finalmente pasar por el equipo dosificador y etiquetado FL-101 y LB-101. En la Tabla 3.5 se detallan las condiciones de operación de los equipos principales de la simulación.

Tabla 3.5 Especificaciones de operación de los equipos de la simulación

Equipo	Especificaciones			
TDR-101	Tiempo de secado (h)	Temperatura final de sólidos (°C)	Final LOD (%)	Profundidad torta (mm)
	6	45	7	5
GR-101	Presión Operación (bar)		Tiempo de Operación (min)	
	1,013		60	
VSCR-101	Tamaño tamiz (mm)		Tiempo de Operación (min)	
	2		30	
SMSX-101	Temperatura (°C)	Tiempo de mezclado (min)	Tiempo de decantación (min)	Rendimiento de recuperación (%)
	50	160	15	76,43
NFD-101	Removido (%)		Tiempo de Operación (min)	
	10		30	
DS-101	Cantidad por contenedor (mL)		Tiempo de Operación (min)	
	500		30	
LB-101	Tiempo de Operación (min)			
	30			

Por otro lado, la simulación registró un contenido de 63.42 mg/kg epicatequina, 25 mg/kg rutina, 48.74 mg/kg quercetina, 16.35 mg/kg ácido indolacético y 2.64 mg/kg kinetina en el extracto bioestimulante. La tabla 3.6 muestra la comparativa de los valores en la escala piloto y los resultados obtenidos en la simulación

Tabla 3.6 Comparación de Fitohormonas y flavonoides a escala piloto y simulación

	Compuesto	Escala Piloto	Simulación	% Error
Fitohormona	Ácido Indolacético (mg/kg)	16,41	16,35	0,34
	Kinetina (mg/kg)	2,59	2,64	1,89
Flavonoides	Epicatequina (mg/kg)	64,34	63,42	1,44
	Rutina (mg/kg)	25,36	25	1,43
	Quercetina (mg/kg)	47,3	48,74	3,03

Uno de los factores que causa la diferencia en la concentración de la simulación con respecto a la concentración de la escala piloto, es la caracterización de las materias primas, modelos termodinámicos y los tiempos de operación. Mientras que la simulación cuantifica estos compuestos según la caracterización de las materias primas, la cual no cuenta con todas las especies presentes en las materias algales. Cabe destacar que la diferencia en las concentraciones obtenidas es leve con respecto a la obtenida en la escala piloto con lo cual, en caso de querer realizar modificaciones al proceso experimental, la simulación podrá ser usada para estudiar como estos cambios afectarían el rendimiento del producto final.

3.4 Análisis de costos

A continuación, se detalla el costo de cada uno de los equipos necesarios para la planta simulada como se mostró en la ilustración 3.5. La tabla 3.7 muestra los precios de cada uno de los equipos.

Tabla 3.7 Precio de los equipos del proceso de extracción de bioestimulante

Equipo	Costo
Secador de bandejas	\$2.500
Molienda	\$600
Sistema de tamizado estacionario	\$700
Extractor	\$5.000
Filtro Nutsche	\$5.000
Total	\$13.800

Realizando el análisis de costos de los equipos, con un total de \$13.800 a lo cual es necesario agregar los costos de instalación de cada uno de los equipos, costos indirectos del proyecto y costos adicionales para determinar el costo de capital fijo de la planta. Por lo que se recurrió a utilizar el factor de Lang de 3.61 para proceso sólido-fluido, estimando dicho capital fijo en base al costo de los equipos de la planta (Turton, 2008).

Tabla 3.8 Capital fijo estimado del proceso de extracción de bioestimulante

Parámetros	Costo
Equipos	\$13.800
Instalaciones & otros	\$36.018
Costo capital total	\$49.818

El capital fijo necesario para la construcción de una planta piloto de extracción de bioestimulante es \$49.818. El mayor costo para la planta son los costos de la instalación & otros con un valor de \$36.018. Para los costos de materia prima requeridos para el proceso, se tomaron en base a costos promedios estipulados en el Ecuador, listados en la tabla 3.9

Tabla 3.9 Costos de materia prima

Reactivos	Unidad	Costo Unitario
Agua potable	m3	\$0,60
Metabisulfito de sodio	kg	\$3
<i>Acanthophora Spicifera</i>	kg	\$0,85

Para determinar el consumo eléctrico se sumaron los kilovatios-hora que cada equipo consume y se multiplico por las horas de trabajo. Como se puede ver en la tabla 3.10 el consumo energético de los equipos.

Tabla 3.10 Costos energético diario

Equipo	kW	Horas	kWh
Secador de bandejas	6	12	72
Molienda	2,5	1	2,5
Sistema de tamizado estacionario	0,25	1	0,25
Extractor	0,75	5	3,75
Filtro Nutsche	1	1	1
Total			79,5

Para la producción del extracto bioestimulante se consideró dos operación batch diarias, para lo que se estableció los siguientes consumos diarias de producción en la tabla 3.11. Entre ellos los gastos de materia prima, consumo energético, salario de operadores, entre otros. Solamente se considero 2 personas en turnos rotativos de 8 horas en el lapso que se lleva a cabo cada operación batch para realizar las operaciones de la planta, puesto que se trata de una escala piloto.

En cuanto a los ingresos de la planta piloto se consideró la venta del líquido bioestimulante a un precio promedio de \$10 por cada botella de 1 litro de producto, en base a comparación de productos similares que rondan alrededor de \$10 a \$50 en el mercado de bioestimulante a partir de algas. Por lo que, 8 kg de materia prima produce 18kg kg de líquido bioestimulante, el cual al precio de \$10 se convierten en \$180 de venta diaria. Asumiéndose la comercialización de todo el producto.

Tabla 3.11 Gastos & Ingresos producción diaria

Gastos diarios		
Producción por día	Cantidad	Costo
m3 agua potable	28	\$16,8
kg de metabisulfito de sodio	0,5	\$1,5
kg de <i>Acanthophora Specifera</i>	8	\$6,8
kWh consumo energético	79,5	\$7,314
Operadores	2	\$45
Botellas	18	\$9,72
Total		\$87,134
Ingresos diarios		
Ingresos	Precio	Venta
Bioestimulante	\$10	\$180
Total		\$180

En base a los gastos & ingresos diarios, se consideró la proyección de un mes laboral de 20 días de producción, del cual los ingresos ascienden a \$3.600 y los gastos a \$1.743, teniendo una ganancia neta mensual de \$1.857

Tabla 3.12 Proyección mensual

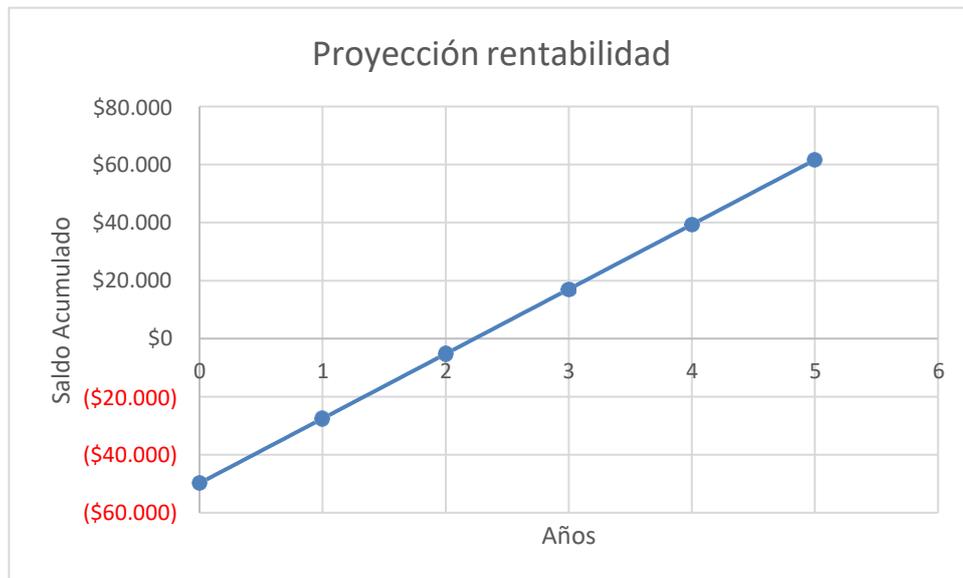
Proyección	Gastos	Ingresos	Ganancia
Mensual (20 días laborables)	\$1.743	\$3.600	\$1.857

Para poner en operación la planta piloto, necesitamos una inversión inicial de \$49.818, que incluye la adquisición de los equipos, instalación, entre otros. Si se comercializa el líquido bioestimulante en \$10 por kg, la planta se vuelve rentable después 3 años de operación, como se detalla en la tabla 3.12. El cálculo de rentabilidad se basa en la relación entre la deuda total y el beneficio neto mensual

Tabla 3.12 Flujo de caja y rentabilidad

Año	Ingreso	Acumulado
0	\$49.818	\$-49.818
1	\$22.288	\$-27.530
2	\$22.288	\$-5.242
3	\$22.288	\$17.046
4	\$22.288	\$39.333
5	\$22.288	\$61.621

Ilustración 3.6 Proyección rentabilidad planta piloto de extracción de bioestimulante



CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Después de realizar los métodos de extracción y adición de conservante a escala laboratorio y a escala piloto, y la cuantificación del contenido de fitohormonas y flavonoides mediante cromatografía líquida de alta eficacia para la producción de un aditivo nutracéutico y bioestimulante a partir del alga *Acanthophora spicifera*, se concluye que:

- Se logró preparar extractos a partir de la macroalga *Acanthophora spicifera* tanto en una escala de laboratorio como de una escala piloto con un contenido rico en flavonoides y fitohormonas.
- A escala laboratorio, se logró producir el aditivo bioestimulante con una concentración de fitohormonas; 9.12 mg/kg de alga seca (Ácido Indolacético) y flavonoides; 33.85 mg/kg de alga seca (epicatequina), 63.19 mg/kg de alga seca (procianidina C1), 16.37 mg/kg de alga seca (rutina), 40.78 mg/kg de alga seca (Procianidina B2) y 31.85 mg/kg de alga seca (quercetina).
- A escala piloto, mediante el ajuste de las condiciones de laboratorio: relación soluto/solvente y la temperatura de operación de la digestión acuosa, se logró producir el aditivo bioestimulante con una concentración de fitohormonas: 16.41 mg/kg de alga seca (Ácido Indolacético) y 2.59 mg/kg de alga seca (Kinetina); y flavonoides: 64.3 mg/kg de alga seca (epicatequina), 25.37 (rutina), y 47.3 mg/kg de alga seca (quercetina).
- Así mismo, la temporada en la que se cosecha la macroalga juega un papel fundamental en el contenido de fitohormonas y flavonoides, puesto que se tuvo una mayor cuantificación de estos a escala piloto debido a que se uso alga mayormente proveniente de los meses de julio y diciembre (estación fría), a diferencia de la escala de laboratorio que se empleó alga proveniente de los meses de diciembre y marzo (estación cálida).
- El simulador SuperPro Designer V.13 fue capaz de representar el proceso experimental propuesto para la obtención del bioestimulante a partir de la *Acanthophora spicifera*. Lográndose producir el aditivo bioestimulante con una concentración de fitohormonas: 14.77 mg/kg de alga seca (Ácido Indolacético); y flavonoides: 74.16 mg/kg de alga seca (epicatequina) y 29.4 mg/kg de alga seca (rutina).
- En base a la simulación, se logró el diseño del proceso de extracción de bioestimulante

con sus respectivos equipos para cada una de las etapas, con lo cual el capital fijo necesario para la construcción de una planta de extracción de bioestimulante es \$49.818 en base al costo de cada uno de los equipos y al factor de Lang para estimación de costos de plantas.

- Del análisis de costos, la planta llega a ser rentable luego del segundo año de operación. En promedio una planta llega a ser viablemente económica si se amortigua entre uno o tres años de operación, por consiguiente, nuestra planta piloto cumple con dicho criterio.

4.2 Recomendaciones

- Se sugiere la realización de una caracterización exhaustiva de la *Acanthophora spicifera* (C, H, O, N, P, Mg, Na, Ca, Fe y otros metales) para la determinación de la fórmula empírica de la macroalga, constituyendo una opción adecuada para utilizar en los cálculos requeridos en el diseño, selección de equipamiento y condiciones de operación.
- En caso de querer realizar modificaciones al proceso experimental, la simulación podrá ser usada para estudiar cómo estos cambios afectarían el rendimiento del producto final en cuanto al contenido de flavonoides y fitohormonas.
- Para un mejor análisis de la influencia del tamaño de partícula en la digestión acuosa, se recomienda realizar pruebas en el digestor utilizando diferentes tamaños de partícula evaluando la concentración de los flavonoides y fitohormonas de forma que se disminuya costos de molienda y de filtración del proceso.
- Ya que se tiene un bioestimulante en una presentación líquida, se recomienda realizar un estudio de la viabilidad de obtener el producto en polvo utilizando un secador de espray, ya que mejora la conservación del producto.
- Se recomienda realizar un estudio de estabilidad del producto simulando condiciones de trabajo de campo para determinar la durabilidad del producto. El producto se utilizará para aplicaciones agrícolas, por lo que se espera que se encuentre por prolongados periodos de tiempo expuesto al medio ambiente. Por esta razón, se está recomendando realizar el estudio donde el producto se deje a la intemperie.

BIBLIOGRAFÍA

- Abirami, R. G., & Kowsalya, S. (2016). Quantification and Correlation Study on Derived Phenols and Antioxidant Activity of Seaweeds from Gulf of Mannar. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*.
- Anaya-Durand, A., & Pedroza-Flores, H. (2008). Escalamiento, el arte de la ingeniería química: Plantas piloto, el paso entre el huevo y la gallina. *Tecnología, Ciencia, Educación*,31-39.
- Aspentech. (2023). *Aspen Plus®*. Obtenido de [aspentech.com](https://www.aspentech.com/en/products/engineering/aspen-plus): <https://www.aspentech.com/en/products/engineering/aspen-plus>
- AVEVA. (2020). *AVEVA™ PRO/II™ Simulation*. Obtenido de [aveva.com](https://www.aveva.com/en/products/pro-ii-simulation/): <https://www.aveva.com/en/products/pro-ii-simulation/>
- Beltrán Usho, E. L., & Vega López, S. N. (2022). *Evaluación in vivo de extractos de Acanthophora spicifera como alternativa ecosostenible para combatir la vibriosis en Penaeus vannamei*. Guayaquil.
- Belwal, S., Revanth, V., Dinesh, K. S., Reddy, B. V., & Bhagvanth, M. (2016). Development and scale up of a chemical process in pharmaceutical industry: a case study. *Int. J. Eng. Res. Appl.*
- Benítez García , I., Dueñas Ledezma, A., Martínez Montaña , E., Salazar Leyva, J. A., Carrera, E., & Osuna Ruiz, I. (2020). Identification and Quantification of Plant Growth Regulators and Antioxidant Compounds in Aqueous Extracts of *Padina durvillaei* and *Ulva lactuca*. *Agronomy*.
- Benítez-Cortés, I., Pérez-Martínez, A., Barrios-Rodríguez, M. A., Rodríguez-Machado, A., & Pérez-Sánchez, A. (2018). Simulación de una planta de producción de aceite de moringa empleando el simulador de procesos Superpro Designer. *Tecnología Química*.
- Bentolila, M., & Novoa, R. (2015). *Scale Up Methodology for the Fine Chemical Industry - The Influence of the Mixing in the Process*. Jerusalén: Visimix lmtd.
- Borges, P., Ortega, A., Roncal, E., & Rogert, E. (2008). Obtención a escala piloto de un extracto de café.

- Bottini, A. R. (2017). Fitohormonas ¿Cómo interpretan las plantas las señales del ambiente? *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, (págs. 118-124). Mendoza.
- Canizales, L., Rojas, F., Pizarro, C. A., Caicedo-Ortega, N. H., & Villegas-Torres, M. F. (2020). *SuperPro Designer®, User-Oriented Software Used for Analyzing the Techno-Economic Feasibility of Electrical Energy Generation from Sugarcane Vinasse in Colombia*. Cali: Processes.
- Carrillo González, G., & Torres Bustillos, L. G. (2019). *Biorrefinerías y Economía Circular*. Ciudad de México.
- Castro-Varela, P., Rubilar, M., Rodrigues, B., Pacheco, M. J., Caneda-Santiago, C. T., Marí-Beffa, M., . . . Abdala-Díaz, R. (2023). A sequential recovery extraction and biological activity of water-soluble sulfated polysaccharides from the polar red macroalgae *Sarcopeltis skottsbergii*. *Algal Research*.
- Cisneros Rosete, X., Murillo Chimal, A., Perea Morales, J. E., & Valdés Ávila, G. M. (2022). *Diseño de un experimento para la obtención de un hidrogel con agar extraído de algas rojas de deriva de la playa Penacho del Indio, Veracruz*. Puebla.
- Cruz Cordovez, C. L., & Romero Ochoa, L. A. (2023). *Cuantificación de flavonoides mediante técnicas cromatográficas en biomasa de macroalga *Acanthophora spicifera* recolectada en diferentes meses del año*. Guayaquil.
- Cruz Zambrano, M. G. (2023). *Almacenamiento de carbono de los manglares de la comuna Valdivia y la comunas Olón para su valoración bioeconómica*. La Libertad.
- Delgado M., J. C., Palacio B., J. A., & Aguirre R., N. J. (2008). *Variación vertical y estacional de la comunidad de macroalgas en los costados noroccidental y nororiental del golfo de Urabá, Caribe Colombiano*. Antioquia.
- Díaz, M. J., Álvarez-Gallego, C. J., Caro, I., & Portela, J. R. (2023). Incorporating Augmented Reality Tools into an Educational Pilot Plant of Chemical Engineering. *Education Sciences*.
- Espinoza Vasquez, A. P., Galatro, D., Manzano Santana, P. I., Chóez Guaranda, I. A., Cevallos, J. M., Salas, S. D., & González Triana, Y. K. (2023). Tray dryer design under feed uncertainty: A case study on a nutraceutical beverage. *Journal of Food Engineering*.
- Gabela Valladares, E. A., Villa Alvarez, P. A., & González Triana, Y. (2021). Caracterización de las materias primas *Vernonanthura Patens*, *Ilex Guayusa* y residuos de cáscara

de cacao en un simulador comercial para la elaboración de una bebida con propiedades nutraceuticas (ESPOL. FCNM).

García Rodríguez, A. A., Carbonell Sorí, L., & Roche Delgado, L. (2022). Determinación de la fórmula química aproximada para la macroalga *Ulva lactuca*. *Centro Azúcar*, págs. 49(1), 71-80.

García-Vázquez, L. M., Ocampo-Vásquez, J., Ayala-Martínez, M., Hernández-Aco, R. S., Zaragoza-Bastida, A., & Zepeda-Bastida, A. (2023). Efecto antioxidante y antibacteriano de diferentes extractos de *Tithonia tubaeformis*. *Revista Bio Ciencias*.

Gómez, J. A., Sánchez, Ó. J., & Correa, L. F. (2020). Techno-economic and environmental evaluation of cheesemaking waste valorization through process simulation using SuperPro designer. *Waste and Biomass Valorization*.

Guardado Yordi, E., Molina Pérez, E., Matos, M. J., & Uriarte Villares, E. (2012). Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. *Nutrition, Well-Being and Health*, 23-48.

Guevara, J. M., & Granda, V. (2009). *El manglar es vida*. Quito: Ministerio de Cultura.

Guillén, P. O., Motti, P., Mangelinckx, S., De Clerck, O., Bossier, P., & Van Den Hende, S. (2022). Valorization of the chemical diversity of the tropical red seaweeds *Acanthophora* and *Kappaphycus* and their applications in aquaculture: A review. *Frontiers*. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2022.957290/full>

Gupta, V., Kumar, M., Brahmabhatt, H., Reddy, C., Seth, A., & Jha, B. (2011). Simultaneous determination of different endogenous plant growth regulators in common green seaweeds using dispersive liquid-liquid microextraction method. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1259-1263.

Gupta, S., Cox, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *WT-Food Science and Technology*.

Intelligen Inc. (2017). *SuperPro Designer® User guide*. Scotch Plains.

Juanes Peris, J. H., Juanes Peris, L., & Ramos Ruiz, R. (2018). *Patente n° WO 2018/185352 A1*.

Landinez, L. A., Vargas, D. F., & Sandoval Reyes, J. C. (2020). Simulación de un banco de pruebas de transferencia de calor a través del software ASPEN HYSYS.

- López Ortega, J. E., Vyhmeister, E., & Rodríguez, R. (June de 2018). Algas marinas: una biomasa subutilizada como fuente de precursores petroquímicos. *In Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE (Vol. 13, No. 1)*.
- Lucas Pincay, K. M., Tenorio Fabara, S. E., & Angulo Sánchez, W. (2022). Modelo de un extractor como una unidad añadida en un simulador comercial para la elaboración de una bebida nutracéutica (ESPOL. FCNM).
- Martelo Schmalbach, N. (2023). *Procesos integrales de biorefinería aplicados a la valorización de residuos lignocelulósicos locales para la producción de productos químicos y energía*. Donostia- San Sebastián.
- Medina Ballesteros, A. J., & Morales Mazzini, M. S. (2022). *Identificación y cuantificación de fitohormonas en Ulva sp. y Acanthophora spicifera por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la propuesta de un bio-producto*. Guayaquil.
- Méndez-Trejo, M. C., Riosmena-Rodríguez, R., Ávila, E., López-Vivas, J. M., & Senties, A. (2014). Evaluación de la invasión de *Acanthophora spicifera* (Rhodophyta) sobre la epifauna en Bahía de La Paz, B.C.S.
- Muñoz Equihua, E. S. (2016). Escalamiento del proceso de obtención de fructooligosacáridos a partir de jugo de caña mediante síntesis enzimática con células permeabilizadas de *Candida apicola*.
- Palacios Rodríguez, A. E., Plúas Monroy, V. N., & Angulo Sánchez, W. (2021). Modelado de un secador de bandeja por lotes como un módulo integrado a un simulador de procesos comercial en la elaboración de bebidas nutracéuticas (ESPOL. FCNM).
- Pedroza, M. A., Amendola, D., Maggi, L., Zalacain, A., De Faveri, D. M., & Spigno, G. (2015). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Dried Waste Grape Skins. *International Journal of Food Engineering*, 359-370.
- Pérez Trueba, G. (2003). *Flavonoides: Antioxidantes o Prooxidantes*. La Habana.
- Pernía, B., Mero, M., Cornejo, X., & Zambrano, J. (2019). *Impactos de la contaminación sobre los manglares del Ecuador*. Guayaquil.
- Picardo, M. C., de Medeiros, J. L., Monteiro, J. G., Moreira Chaloub, R., Giordano, M., & de Queiroz Fernandes Araújo, O. (2013). A methodology for screening of microalgae as a decision-making tool for energy and green chemical process applications. *Clean Technologies and Environmental Policy*.

- Piccinno, F., Hischier, R., Seeger, S., & Som, C. (2016). From laboratory to industrial scale: a scale-up framework for chemical processes in life cycle assessment studies. *Journal of Cleaner Production*.
- Rossetti, I., & Compagnoni, M. (2016). Chemical reaction engineering, process design and scale-up issues at the frontier of synthesis: Flow chemistry. *Chemical Engineering Journal*.
- Sanford, K., Chotani, G., Danielson, N., & Zahn, J. A. (2016). Scaling up of renewable chemicals. *Current opinion in biotechnology*.
- Schnoller, V. C., Hernández-Carmona, G., Hernández-Garibay, E., López-Vivas, J. M., & Muñoz-Ochoa, M. (2020). Chemical characterization of soluble polysaccharides in the red alga *Acanthophora spicifera* from La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Ciencias marinas*, págs. 46(3), 165-176.
- Trigueros Fernández, H. (2016). Estudio de la solubilidad de la quercetina en agua bajo la radiación por microondas.
- Valdez Navarro, A. L. (2022). *Determinación de las condiciones óptimas de extracción de compuestos antioxidantes y fitohormonas de la macroalga Acanthophora spicifera de la península de Santa Elena - Ecuador*. Guayaquil.
- Valdez Navarro, A. L., Chóez Guaranda, I. A., Van Der Hende, S., Ruíz Barzola, O. H., & Manzano Santana, P. I. (2023). Condiciones óptimas de extracción de compuestos antioxidante del alga roja *Acanthophora spicifera*. *Revista Bionatura*.
- Valverde-Balladares, P., & D'Armas, H. (2022). Potencial nutracéutico de macroalgas marina - Ecuador. *FacSalud Unemi*, 42-52.
- Vaquerizo, L., & Cocero, M. J. (2018). CFD–Aspen Plus interconnection method. Improving thermodynamic modeling in computational fluid dynamic simulations. *Computers & Chemical Engineering*, 152-161.
- Vincevica-Gaile, Z., Sachpazidou, V., Bisters, V., Klavins, M., Anne, O., Grinfelde, I., . . . Burlakovs, J. (2022). Applying Macroalgal Biomass as an Energy Source: Utility of the Baltic Sea Beach Wrack for Thermochemical Conversion. págs. 14(21), 13712.
- Xu, S. Y., Huang, X., & Cheong, K. L. (2017). Recent advances in marine algae polysaccharides: Isolation, structure, and activities. *Marine Drugs*, págs. 15(12), 388.
- Yokoya, N. S., Stirk, W. A., van Staden, J., Novák, O., Turečková, V., Pěňčík, A., & Strnad, M. (2010). Endogenous cytokinins, auxins, and abscisic acid in red algae from Brazil. *Journal of Phycology*, 1198-1205.

Zea Villón, F. A. (2023). *Evaluación de una unidad piloto para la producción de una bebida con propiedades nutraceuticas*. Guayaquil.

Zeng, L. M., Wang, C. J., Su, J. Y., Li, D., Owen, N. L., Lu, Y., . . . Zhen, Q. T. (2001). Flavonoids from the red alga *Acanthophora spicifera*. *Chinese Journal of Chemistry*.

APÉNDICES

APÉNDICES A- Escala Piloto

A.1 Recolección materia prima - Ballenita



A.2 Secador de bandeja del laboratorio de operaciones unitarias



A.3 Secador de bandeja del Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentable



A.4 Secado de materia prima



Nota: a) Secado en el secador de bandejas del LOPU; b) Secado en el secador de bandeja de CDTS

A.5 Trituradora utilizada durante la experimentación, escala piloto



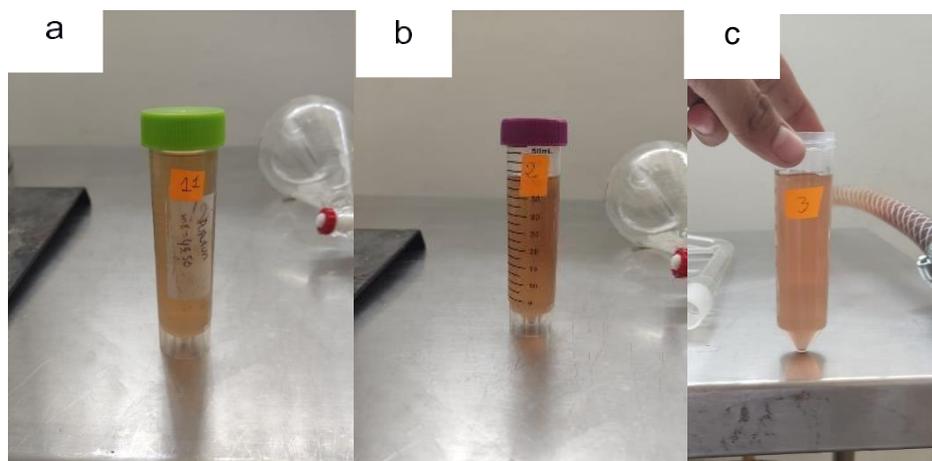
A.6 Tamiz de mesa vibratoria utilizado durante la experimentación



A.7 Digestor utilizado en la experimentación, escala piloto



A. 8 Extracto obtenido a diferentes intervalos de operación, digestor



Nota: a) Muestra tomada a los 40 min de operación del digestor; b) Muestra tomada a los 80 min de operación del digestor; c) Muestra tomada a los 120 min de operación del digestor.

A. 9 Bolsa Filtrante de 5 micras, experimentación escala piloto



A. 10 Extracto bioestimulante



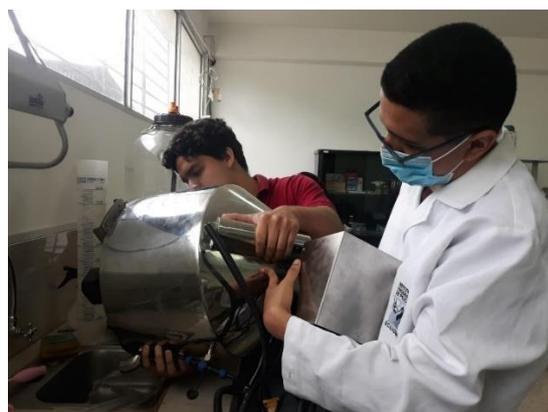
A.11 Remoción de residuos de alga dentro del digestor



A.12 Equipo dosificador, experimentación escala piloto



A.13 Limpieza equipo dosificador



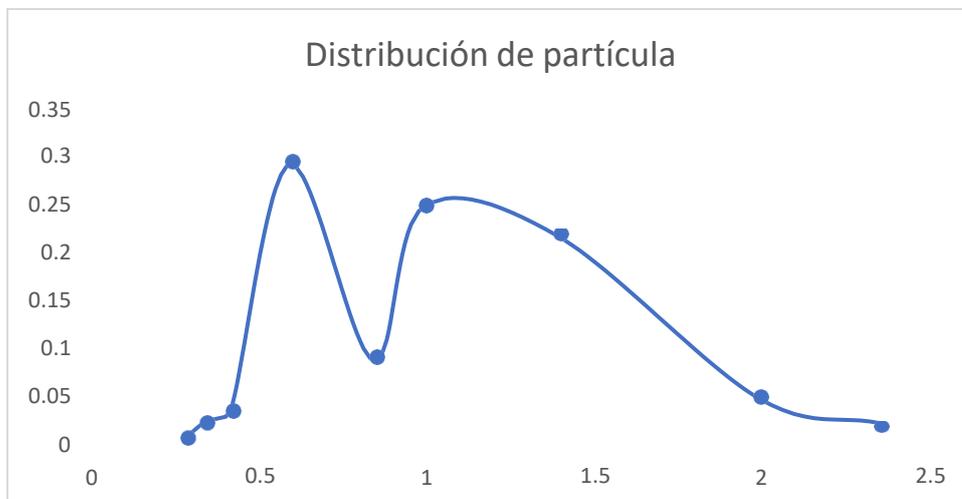
A.14 Botellas de 150 ml y 500 ml



A.15 Resultados Análisis Granulométrico – Método Diferencial

	Abertura del tamiz (Dpi, mm)	masa (kg)	Fracción másica retenida (xi)	Diámetro medio de las partículas en el incremento Dpi, mm	Fracción acumulativa inferior a Dpi	Xi x Dpi	Diámetro Promedio $\Sigma Xi \times Dpi =$
8	2,36	1,34	0,02232589	-	0,97767411	-	1,09166053
10	2	2,89	0,04815062	2,18	0,95184938	0,10496834	
14	1,4	12,99	0,21642786	1,7	0,78357214	0,36792736	
18	1	14,79	0,24641786	1,2	0,75358214	0,29570143	
20	0,85	5,25	0,08747084	0,925	0,91252916	0,08091053	
30	0,6	17,43	0,2904032	0,725	0,7095968	0,21054232	
40	0,425	2,14	0,03565478	0,5125	0,96434522	0,01827308	
45	0,355	1,51	0,02515828	0,39	0,97484172	0,00981173	
50	0,3	0,6	0,00999667	0,3275	0,99000333	0,00327391	
Tapadera	-	1,08	0,017994	0,01399533	0,982006	0,00025183	

A.16 Distribución de partícula



APÉNDICES B- Escala Laboratorio

B.1 Conductímetro y PH metro



B.2 Análisis inicial de muestras de *Acanthophora spicifera*

Parámetros	Valores								
Lugar de Origen	Ballenita, Santa Elena		San Pedro, Santa Elena			Algas en CIBE (Ballenita, Ayangue, San Pedro)			
Fecha de recolección	19-07-23		09-06-23			12-12-22 - 09-03-23			
Volumen	18 mL	20 mL	30 ml	30 ml	30 ml	30 ml	50 ml	30 ml	30 ml
Masa	-	15,841 g	2,06 g	2,015 g	2,0566 g	2,002 g	5,0079 g	2,0696 g	2,0312 g
pH	7,36	7,65	6,63	6,7	6,81	7,36	-	7,51	7,42
Conductividad	6,40 mS	1,271 mS	1,403 mS	1,334 mS	1,181 mS	-	10,01 mS	7,05 mS	8,55 mS
Estado	Sucio		Limpio			Sucio y seco			

B.3 Proceso de digestión acuosa a escala de laboratorio



B.4 Datos digestión acuosa

	Muestra 1 (Alga sin triturar)	Muestra 2 (Alga triturada)	Muestra 3 (Alga triturada)	Muestra 4 (Alga sin triturar)	Muestra 5 (Alga sin triturar)	Muestra 6 (Alga triturada)
Masa agua	101,3964 g	100,2823 g	100,7486 g	100,1837 g	100,2577 g	100,0104 g
Masa alga	2,5233 g	2,5375 g	2,5543 g	2,5061 g	2,5084 g	2,5371 g
Extracto	44,7513 g	32,8688 g	38,5763 g	31,74 g	31,5798 g	36,9134 g
Residuo Alga	51,5305 g	59,1879 g	46,4206 g	61,2542 g	59,8642 g	48,0605 g
pH	7,94	7,37	7,15	7,32	7,39	7,43
Conductividad	1,788 mS	1,913 mS	1,834 mS	6,68 mS	6,60 mS	7,03 mS

B.5 Datos de adición de conservante

	Muestra 1 (Alga sin triturar)	Muestra 2 (Alga triturada)	Muestra 3 (Alga triturada)	Muestra 4 (Alga sin triturar)	Muestra 5 (Alga sin triturar)	Muestra 6 (Alga triturada)
Masa extracto	20,0444g	20,0097 g	20,0175 g	20,0365 g	20,0936 g	20,0660 g
Masa conservante	0,5119 g	0,5108 g	0,5057 g	0,5005 g	0,5015 g	0,5004 g
Conductividad	22,8 mS	23,2 mS	21,2 mS	26,5 mS	24,9 mS	25,2 mS

APÉNDICES C- Simulación

C.1 Propiedades de las fitohormonas y flavonoides obtenidas de Aspen Plus

Capacidad Calorífica líquido/sólidos= $a + bt + ct^2 + dt^3 + et^4$

Capacidad Calorífica gas= $a + bt + ct^2 + dt^3 + et^4$

Coefficiente de Antoine= $a - \frac{b}{c+t}$

Densidad= $a + bt$

Componente	Peso molecular (g/mol)	Punto normal de ebullición (K)	Temperatura crítica (K)	Presión crítica (bar)	Factor de compresibilidad	Factor acéntrico	Capacidad calorífica de líquido/sólido (kJ/kmolK)	Capacidad calorífica de gas (kJ/kmolK)	Coefficientes de Antoine	Densidad (g/L)
Ácido indolacético	175.187	669.47	911.969553	40.8814	0.26553706	0.91805583	a= -14985 b= 228,84 c= -1,3933 d= 0,0042 e= -6x10 ⁻⁶	a= 10437 b= -147,31 c= 0,8423 d= 0,0024 e= 3x10 ⁻⁶	a=0 b=2027,6257 c=0	a=2272,9 b=-1,2653
Rutina	598.51	989.9	1213	11.6969	0.164	1.092	a= -13247 b=163,97 c=-0,7375 d=0,0015 e=-1x10 ⁻⁶	a=-13251 b=163,95 c=-0,7373 d=0,0015 e=-1x10 ⁻⁶	a=0 b=2407,4269 c=0,5591	a=873,55 b=-0,0869
Prociadinina C1	866.78592	2748.49	6021.49879	60.0925	0.17542341	-0.28193688	a=-17396 b=213,98 c=-0,955 d=0,0019 e=-1x10 ⁻⁶	a=-17391 b=214,03 c=-0,9552 d=0,0019 e= -1x10 ⁻⁶	a=0 b=2027,6256 c=0	a=1026,9 b=-0,057
Epicatequina	290.27	783.9	1022	25.8528	0.218	1.0331	a=-4672,2 b=55,488 c=-0,246 d=0,0005 e=-4x10 ⁻⁷	a=-4494,5 b=55,49 c=-0,246 d=0,0005 e=-4x10 ⁻⁷	a=0 b=2382,1362 c=0	a=23924 b=-12,87
Kinetina	215.215	295.04	510.85	31.3106	0.252912	0.693126	a= 177,17 b= 0,1136 c= 0,0031 d=-0,000008 e=6x10 ⁻⁹	a= 2102,3 b= -23,744 c= 0,1075 d=-0,0002 e=2x10 ⁻⁷	a= 2,67235682 b= 0,99697734 c= 1,00000552	a= 1736,3 b= -1,023
Quercetina	302,24	928.26	1273.85	39.4117	0.22359	1.45312	a= 333,12 b= 1,1782 c= -0,0005 d= -2x10 ⁻⁶ e= 2x10 ⁻⁹	a=-655,26 b= 9,3262 c= -0,0402 d= 0,00009 e=-7x10 ⁻⁸	a=0 b= 2027,62556 c= 0	a= 2148,1 b=-0,7067

C.2 Resultados Simulación Final

Time Ref: Batch		S-101	S-102	S-103	S-104	S-105	S-106	S-107	S-108
Type		Raw Material	Raw Material	Raw Material		Raw Material	Emission		
Total Mass Flow	kg	0,2000	2,2570	0,0000	2,4570	0,0000	2,2419	0,2151	0,2151
Temperature	°C	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	45,0	45,0	45,0
Pressure	bar	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013
Liq/Sol Vol Flow	L	0,8000	2,2690	0,0000	3,0690	0,0000	0,0000	0,8153	0,8153
Total Enthalpy	kW-h	0,0017	0,0659	0,0000	0,0676	0,0000	1,6109	0,0040	0,0040
Specific Enthalpy	kcal/kg	7,4689	25,1089	1042,1891	23,6859	0,0000	618,2457	15,9521	15,9521
Heat Capacity	kcal/kg-°C	0,2988	1,0003	45,9731	0,9438	0,0000	0,4486	0,3555	0,3555
<input checked="" type="checkbox"/> Total Contents	g	200,0000	2257,0025	0,0312	2457,0337	0,0000	2241,9464	215,0873	215,0873
Acido Indolacet		0,0000	0,0000	0,0033	0,0033	0,0000	0,0000	0,0033	0,0033
Biomass		200,0000	0,0000	0,0000	200,0000	0,0000	0,0000	200,0000	200,0000
Epicatequina		0,0000	0,0000	0,0129	0,0129	0,0000	0,0000	0,0129	0,0129
Etiqueta		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Glass Bottle		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Kinetina		0,0000	0,0000	0,0005	0,0005	0,0000	0,0000	0,0005	0,0005
Na2S2O5		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Quercetina		0,0000	0,0000	0,0095	0,0095	0,0000	0,0000	0,0095	0,0095
Rutina		0,0000	0,0000	0,0051	0,0051	0,0000	0,0000	0,0051	0,0051
Water		0,0000	2257,0025	0,0000	2257,0025	0,0000	2241,9464	15,0561	15,0561

Time Ref: Batch		S-109	S-110	S-111	S-112	S-113	S-114	S-115	S-116	DS-101	DS-102	DS-103	DS-104
Type				Raw Material				Raw Material		Raw Material		Raw Material	
Total Mass Flow	kg	0,2103	0,0048	14,0000	3,5101	10,7002	9,2717	0,2000	9,4717	1,9098	11,3815	0,0191	11,4006
Temperature	°C	45,0	45,0	25,0	50,0	50,0	49,9	25,0	49,6	25,0	45,4	25,0	25,0
Pressure	bar	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013
Liq/Sol Vol Flow	L	0,7971	0,0182	14,0745	4,1451	10,8566	9,4071	0,1429	9,5488	1,9199	11,4687	0,0192	11,4031
Total Enthalpy	kW-h	0,0039	0,0001	0,4085	0,1963	0,6228	0,5390	0,0036	0,5426	0,0557	0,5983	0,0006	0,3305
Specific Enthalpy	kcal/kg	15,9521	15,9521	25,1089	48,1225	50,0803	50,0179	15,5354	49,2898	25,1089	45,2324	25,1089	24,9428
Heat Capacity	kcal/kg-°C	0,3555	0,3555	1,0003	0,9596	0,9986	0,9986	0,6216	0,9907	1,0003	0,9919	1,0003	0,9938
<input checked="" type="checkbox"/> Total Contents	g	210,2909	4,7964	14000,0000	3510,0676	10700,2233	9271,7443	200,0000	9471,7443	1909,7527	11381,4971	19,0975	11400,5946
Acido Indolacet		0,0032	0,0001	0,0000	0,0008	0,0025	0,0022	0,0000	0,0022	0,0000	0,0022	0,0000	0,0022
Biomass		195,5400	4,4600	0,0000	195,5400	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Epicatequina		0,0126	0,0003	0,0000	0,0030	0,0096	0,0087	0,0000	0,0087	0,0000	0,0087	0,0000	0,0087
Etiqueta		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	19,0975	19,0975
Glass Bottle		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1909,7527	1909,7527	0,0000	1909,7527
Kinetina		0,0005	0,0000	0,0000	0,0001	0,0004	0,0004	0,0000	0,0004	0,0000	0,0004	0,0000	0,0004
Na2S2O5		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	200,0000	200,0000	0,0000	200,0000	0,0000	200,0000
Quercetina		0,0092	0,0002	0,0000	0,0022	0,0071	0,0064	0,0000	0,0064	0,0000	0,0064	0,0000	0,0064
Rutina		0,0050	0,0001	0,0000	0,0012	0,0038	0,0034	0,0000	0,0034	0,0000	0,0034	0,0000	0,0034
Water		14,7204	0,3358	14000,0000	3314,5204	10700,2000	9271,7233	0,0000	9271,7233	0,0000	9271,7233	0,0000	9271,7233