

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Análisis de factibilidad de la producción de un biofertilizante foliar a base
de extractos de algas en cultivos de arroz

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Nombre de la titulación

Ingeniero Químico

Presentado por:

Gabriela Carolina Alarcón Paliz

Gabriel Israel Guerrero Ochoa

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

A Dios, mis padres y mi hermano por haber sido fortaleza, guía y apoyo.

A Amy, por haber sido el principal motivo de mi desarrollo personal y profesional, la cual llegó en el momento en que más la necesitaba.

Gabriela Alarcón

El presente proyecto lo dedico a mis padres y hermana, quienes siempre me han brindado su apoyo incondicional a lo largo de mi desarrollo como persona y como profesional.

A mis amigos por los momentos compartidos y el soporte brindado en esta inolvidable etapa.

Gabriel Guerrero

AGRADECIMIENTOS

A Amy Carolina por haber sido luz, amor y paz en los momentos más oscuros.

A mi padre Hipólito Alarcón, por haberme mostrado el valor de la perseverancia y el trabajo duro.

A Selenita Añazco, por su ayuda incondicional y sus consejos de madre.

A toda mi familia, la cual de alguna u otra forma contribuyó a mi mejora como persona.

A mi compañero de proyecto integrador, Gabriel Guerrero, por su paciencia y por su gran desempeño en este de trabajo de titulación.

Gabriela Alarcón

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mi tutor PhD. Joel Vielma Puente por su guía y disponibilidad para el desarrollo de este proyecto.

A mi querida Celsa Tapia, por su apoyo incondicional ante los obstáculos que se presentaron.

A mi compañera de proyecto integrador, Gabriela, por su valioso aporte, sin ella, este proyecto no hubiera sido posible.

Gabriel Guerrero

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Gabriela Carolina Alarcón Paliz y Gabriel Israel Guerrero Ochoa 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”



Gabriela Carolina
Alarcón Paliz



Gabriel Israel
Guerrero Ochoa

EVALUADORES

M. Sc. Nadia Magaly Flores Manrique

PROFESOR DE LA MATERIA

PhD. Joel Eduardo Vielma Puente

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

La salud humana se ve deteriorada por la exposición directa a agroquímicos o por el consumo de alimentos contaminados con residuos de fertilizantes inorgánicos. El presente estudio evalúa la viabilidad de la producción a gran escala de un biofertilizante foliar utilizando extracto de algas marinas como ingrediente activo para la disminución del uso de fertilizantes inorgánicos foliares en cultivos de arroz. La biofertilización se perfila como una alternativa sostenible y amigable con el medio ambiente con innumerables beneficios para los cultivos agrícolas.

Se desarrolló la extracción hidroalcohólica con etanol de algas marinas de la especie *Acanthophora spicifera*. Los extractos obtenidos fueron rotaevaporados en el equipo BÜCHI R-215 y luego caracterizados por espectrofotometría UV-Visible para la cuantificación del contenido total de flavonoides, el cual fue analizado estadísticamente con el software Minitab. Se efectuó la estimación de costos del diseño preliminar de una planta de extracción hidroalcohólica y se elaboró el diagrama de flujos de procesos con el software en línea Lucidchart.

Se obtuvo que al 60% de etanol se extrajo una concentración de 12000 ppm de flavonoides totales, mientras que los indicadores de rentabilidad Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa Interna de Retorno (TIR) tuvieron valores de \$2.488.823,03 y 37%, respectivamente. El Período de Retorno de la Inversión (PRI) es de 5 años con una tasa de crecimiento del 30% anual.

La producción a gran escala de un biofertilizante foliar a base de extractos de algas marinas es factible desde el punto de vista técnico y económico a las condiciones experimentales estudiadas, considerando un incremento anual de ventas de biofertilizantes superior al 15%.

Palabras Clave: Biofertilizante, Algas Marinas, Flavonoide, Extracción Hidroalcohólica, Costos.

ABSTRACT

Human health is deteriorated by direct exposure to agrochemicals or by consumption of contaminated food with inorganic fertilizer residues. This project evaluates the feasibility of a foliar biofertilizer large-scale production using seaweed extract as an active ingredient to reduce foliar inorganic fertilizers application in rice crops. Biofertilization is emerging as a sustainable and environmentally friendly alternative with innumerable benefits for agricultural crops.

*Hydroalcoholic extraction of marine algae of the species *Acanthophora spicifera* was developed using ethanol as extractor solvent. The extracts obtained were rotaevaporated in a BÜCHI R-215 equipment and then it was characterized by UV-Visible spectrophotometry for total flavonoid content quantification, which results were statistically analyzed with Minitab software. The cost estimation of the hydroalcoholic extraction plant preliminary design was carried out based on previous work and the process flow diagram was elaborated with the online software Lucidchart.*

At 60% ethanol concentration the total flavonoids content extracted were about 12000 ppm, while the profitability indicators Net Present Value (NPV) and Internal Rate of Return (IRR) had values of \$2,488,823.03 and 37%, respectively. The Return-on-Investment Period (ROI) is 5 years with a growth rate of 30% per year in sales

The large-scale production of a foliar biofertilizer based on seaweed extracts is technically and economically feasible under the experimental conditions studied, considering an annual increase greater than 15% in biofertilizer sales.

Keywords: *Biofertilizer, Seaweed, Flavonoids, Hydroalcoholic Extraction, Costs.*

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	6
RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	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	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Marco teórico.....	4
1.4.1 Fertilización inorgánica	4
1.4.2 Biofertilización.....	7
1.4.3 Obtención de extractos hidroalcohólicos	11
1.4.4 Caracterización de extractos hidroalcohólicos	11
1.4.5 Estimación de costos	13
1.4.6 Indicadores de rentabilidad	13
CAPÍTULO 2.....	14
2. Metodología	14
2.1 Pre-experimentación	15

2.1.1	Investigación preliminar	15
2.1.2	Selección de macroalga marina.....	15
2.1.3	Identificación de macroalga marina	15
2.1.4	Recolección del material vegetal	16
2.1.5	Preparación de muestras	16
2.2	Desarrollo de la experimentación	18
2.2.1	Selección de condiciones ambientales de experimentación	18
2.2.2	Uso de material vegetal	18
2.2.3	Selección de solvente	18
2.2.4	Estudio del factor de interés.....	19
2.2.5	Maceración	19
2.3	Post-experimentación:.....	20
2.3.1	Filtración al vacío	20
2.3.2	Rotaevaporación.....	20
2.3.3	Caracterización del extracto.....	21
2.3.4	Diseño preliminar de una planta de extracción hidroalcohólica	24
2.3.5	Estimación económica	30
CAPÍTULO 3.....		34
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	34
3.1	Resultados de determinación de flavonoides totales	34
3.2	Análisis de resultados de determinación de flavonoides totales.....	36
3.3	Resultados del diseño preliminar	37
3.3.1	Descripción del proceso.....	37
3.4	Resultados de costos	40
3.5	Análisis de costos.....	43
3.6	Limitaciones de la investigación	44

CAPÍTULO 4.....	46
4. Conclusiones Y Recomendaciones	46
4.1 Conclusiones.....	46
4.2 Recomendaciones.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48
APÉNDICES.....	53
APÉNDICE A. DIAGRAMA DE FLUJO DE METODOLOGÍA IMPLEMENTADA	53
APÉNDICE B. FOTOS EXPERIMENTACIÓN MACERACIÓN.....	54
APÉNDICE C. INFORME DE RESULTADOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA	56
APÉNDICE D. FLUJO DE CAJA	60

ABREVIATURAS

LASOLEX	Laboratorio de Soluciones Integrales
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
INIAP	Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias
BASF	Badische Anilin und Soda Fabrik
FDA	Food and Drug Administration
VAN	Valor Actual Neto
TIR	Tasa Interna de Retorno
PRI	Período de Retorno de Inversión
TMAR	Tasa Mínima Aceptable de Retorno
PFD	Process Flow Diagram

SIMBOLOGÍA

kg	Kilogramo
g	Gramo
mg	Miligramo
°C	Celsius
Nm	Nanómetro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
mL	Mililitro
min	Minutos
atm	Atmósferas
mbar	Milibar
L	Litro
rpm	Revoluciones por minuto
ppm	Partes por millón
Al	Aluminio
Cl	Cloro
NaOH	Hidróxido de Sodio
O	Oxígeno
Cu	Cobre
N	Nitrógeno
Ca	Calcio
Mn	Manganeso
P	Fósforo
K	Potasio
S	Azufre
Fe	Hierro
B	Boro
Zn	Zinc
Mg	Magnesio

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Clasificación de flavonoides.	8
Figura 1.2 Aspecto de macroalga <i>Ascophyllum Nodosum</i>	9
Figura 1.3 Aspecto de <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	10
Figura 1.4 Aspecto de <i>Acanthophora spicifera</i>	10
Figura 1.5 Funcionamiento de un espectrofotómetro.	12
Figura 2.1 Diagrama de Etapas de la Metodología	14
Figura 2.2 Curva de calibración para espectrofotometría	23
Figura 2.3 Diagrama de bloques del proceso	25
Figura 2.4 Tanque de mezclado.	26
Figura 2.5 Filtro de rejillas transportadores.	26
Figura 2.6 Secador de tamices transportadores.	27
Figura 2.7 Tanque de almacenamiento.	28
Figura 2.8 Molino de martillo.	28
Figura 2.9 Tanque de maceración con chaqueta de enfriamiento.	29
Figura 2.10 Filtrador de tambor rotatorio al vacío.	29
Figura 2.11 Evaporador de película agitada.	30
Figura 3.1 Prueba de normalidad de resultados obtenidos	35
Figura 3.2 Diagrama de flujo del proceso de extracción hidroalcohólica.	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Cantidad de sacos de fertilizante edáfico por hectárea.	5
Tabla 2.1 Variación de la concentración de etanol	19
Tabla 2.2 Condiciones de rotaevaporación	21
Tabla 2.3 Preparación de solución estándar de mangiferina.....	22
Tabla 2.4 Ensayos de colorimetría para curva de calibración	22
Tabla 2.5 Ensayos de colorimetría para contenido total de flavonoides	24
Tabla 3.1 Resultados de espectrofotometría a extractos hidroalcohólicos	34
Tabla 3.2 Tabla ANOVA de variación de concentración de etanol	35
Tabla 3.3 Costos de adquisición de equipos de la planta de extracción	40
Tabla 3.4 Costos de capital fijo de la planta	41
Tabla 3.5 Costos de operación al año de la planta.....	42
Tabla 3.6 Ingreso anual de venta de biofertilizante	42
Tabla 3.7 Resultados de indicadores de rentabilidad de la planta.....	42

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

La fertilización ha existido desde tiempos remotos en donde las antiguas culturas como la mesopotámica, utilizaban abono natural a partir de excremento para el crecimiento y desarrollo de los cultivos. Los avances científicos en el área de la agricultura a lo largo de la historia han derivado en la obtención de fertilizantes inorgánicos que permitan una aceleración en el crecimiento de los sembríos. “A medida que crece la población mundial se hace necesario que los procesos o rendimientos de los cultivos sean más productivos y uno de los elementos básicos para mejorar estos rendimientos son los fertilizantes.” (Batallas, 2016)

Según Argüello (2011) el uso de fertilizantes y otros agroquímicos han incrementado en los últimos 50 años, puesto que permite la aceleración de la producción agrícola para cumplir la alta demanda actual de los consumidores (pág. 9). No obstante, se ha afirmado lo siguiente:

El uso indiscriminado de estos productos y uso de agentes químicos, medicamentos, aditivos y plaguicidas, en procesos industriales o con otros fines, hacen que el hombre esté cada día más expuesto a la acción de un gran número de sustancias que, de acuerdo con sus condiciones de uso, pueden resultar dañinas. (Salamanca, 2020)

Estos agroquímicos son movilizados a través de aire, suelo, agua y productos vegetales, por lo que sus efectos perjudiciales no sólo afectan a los factores abióticos mencionados, sino también a los organismos que habitan en ellos, incluidos los seres humanos. La salud humana se encuentra en peligro por la exposición directa a los agroquímicos o por el consumo de alimentos contaminados con residuos de estos fertilizantes. Muchos de estos productos son nitrogenados, es decir, en su composición química existe concentración de nitrógeno inorgánico.

La ingesta de sus derivados como nitritos y nitratos por fuentes de agua contaminada por estos componentes químicos pueden inducir en la metahemoglobinemia. Particularmente en pequeños infantes, este padecimiento causa el bloqueo de la capacidad de transporte de oxígeno de la hemoglobina (células sanguíneas) (Camargo & Alonso, 2006)

En el Ecuador, muchos de estos productos considerados peligrosos son usados comúnmente por exposición directa al agroquímico por los trabajadores de campos agrícolas, como los productores de arroz, quienes se encargan de la preparación y aplicación de estos sin ninguna protección adecuada. Otros grupos de riesgo, de forma directa, son los transportistas de estos productos, los encargados del almacenamiento y los pobladores de los alrededores de los cultivos donde se aplican los fertilizantes inorgánicos. De forma indirecta, las personas afectadas son todas aquellas que consumen productos agrícolas con residuos químicos en su composición.

1.2 Justificación del problema

La ciencia y la tecnología están revolucionando al mundo, cambiando todo a su paso en busca de la reducción del impacto ambiental, la mejora de la salud humana y el aprovechamiento de los recursos naturales. Uno de los cambios más notables es el uso de productos que no perjudiquen el medio ambiente. Entre estos productos, destacan los biofertilizantes en la agricultura, los cuales representan la búsqueda de la sostenibilidad de los cultivos agrícolas.

El agricultor necesita de fertilizantes que no solamente aceleren la producción de sus sembríos, sino que también sean amigables con el ecosistema, alargando la vida fértil de sus suelos y la calidad del producto de sus cosechas. (Castilla, 2020)

Castilla (2020) también indica algunos de los efectos beneficios que un productor de arroz debe tomar en cuenta al utilizar biofertilizantes, como:

- Mantienen la conservación del suelo;

- Permiten una producción más sostenible desde los puntos de vista económico, ambiental y social;
- Ayudan al proceso de absorción del agua y a la fijación del carbono en el suelo;
- Favorecen la materia orgánica presente en el suelo. (pág. 3)

En el Ecuador, los productores arroceros también están interesados en la rentabilidad de utilizar un producto que sustituya o reduzca el uso de los fertilizantes inorgánicos convencionales. Para esto se conoce que:

La cadena de arroz es un mercado con serios problemas pese a la intervención del Estado quien fija a nivel de productor la saca de 200 libras, con 20% de humedad y 5% de impurezas, un precio techo de 35,50 dólares y el precio piso de 32,30 dólares. El precio a nivel de consumidor lo regula la oferta y demanda que oscila entre 45 y 52 dólares el quintal. (Zambrano, Andrade, & Carreño, 2019)

En el período desde el año 2000 al 2013, el precio del arroz para el consumidor superó en un 200% al precio del productor, por ejemplo, el precio al productor fue de \$0.23/kg contrastando el precio al consumidor que fue de \$0,75/kg. (Viteri & Zambrano, 2016)

El precio a nivel de productor es mucho menor, denotando así un decrecimiento del 24% en el año 2018 según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (Zambrano et al., 2019) . Es importante evaluar la viabilidad de un biofertilizante que permita que el rendimiento de los cultivos no se vea más afectado de lo que se encuentra a nivel nacional en los últimos años.

Actualmente, en el país existen empresas que han introducido mínimamente la fertilización a través de biofertilizantes de aplicación foliar. Una de estas empresas es Ecuaquímica, quienes han desarrollado un producto denominado Seaweed Extract, el cual es un “bioestimulante a base de algas marinas junto a una mezcla

de macros y micronutrientes” (Ecuaquímica, 2020a). Este producto tiene como ingrediente activo extracto de algas marinas de Noruega, específicamente *Ascophyllum nodosum*. La concentración de estas algas corresponde al 12% del producto y el sobrante 88%, siendo macro y micronutrientes aptos para gramíneas como el arroz.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la viabilidad de la producción a gran escala de un biofertilizante foliar utilizando extracto de algas marinas como ingrediente activo para la disminución del uso de fertilizantes inorgánicos foliares en cultivos de arroz.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Cuantificar el contenido total de flavonoides en los extractos hidroalcohólicos de algas marinas mediante el método colorimétrico para su medición por espectrofotometría UV-Visible.
2. Determinar la factibilidad de la producción de un biofertilizante por medio de un análisis económico de los equipos industriales disponibles para el funcionamiento de una planta de extracción hidroalcohólica.
3. Diseñar un diagrama de flujo de proceso (PFD) de una planta industrial para la producción a gran escala de un biofertilizante foliar a base de extracto de algas marinas.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Fertilización inorgánica

1.4.1.1 Cultivos de arroz

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP (2014), indica que el arroz es una especie de planta que pertenece a la familia de las gramíneas, su nombre científico es *Oryza sativa*.

En el Ecuador, es cultivada en la región Litoral (Costa) del país, principalmente en las provincias de Los Ríos y Guayas. La Costa ecuatoriana es ideal para el cultivo de este alimento por los factores climáticos como temperaturas de 20°C a 30°C y precipitaciones anuales máximas de 2500 mm y mínimas de 500 mm.

1.4.1.2 Necesidades nutricionales de cultivos de arroz

Los cultivos de arroz necesitan nutrientes esenciales para lograr un correcto desarrollo. Los agricultores utilizan diversos productos agropecuarios que poseen las sustancias fundamentales para el crecimiento y buena calidad del arroz.

Los fertilizantes son aquellos productos que otorgan estos nutrientes; y para una correcta aplicación de estos, lo ideal es realizar análisis químicos del suelo de cultivo para determinar el nivel de nutrientes en el terreno, los cuales son: Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Azufre (S), Zinc (Zn), Cu (Cobre), Fe (Hierro), Manganeso (Mn), Boro (B), entre otros. (INIAP 2014)

Tabla 1.1 Cantidad de sacos de fertilizante edáfico por hectárea. [INIAP,2014]

Niveles de nutrientes	Recomendaciones por hectárea [10^2 kg por saco]		
	N (Nitrógeno)	P ₂ O ₅ (Fósforo)	K ₂ O (Potasio)
Bajo	140	60	60
Medio	100	30	30
Alto	60	0	0

En la tabla 1.1 se menciona de forma general, la cantidad de sacos (presentaciones en quintales) de fertilizante de aplicación directa al suelo (edáfica) que debería ser esparcida por hectárea. Estas cantidades son respecto al nivel de nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio) que posee el suelo de cultivo a partir de un análisis químico de este.

En fertilizantes de aplicación foliar, que son aquellos que se esparcen a través de las hojas de los cultivos, se deben aplicar como complemento de los fertilizantes edáficos. La aplicación de este tipo de fertilizantes guarda una estrecha relación con la especie de planta, etapa de desarrollo de la planta, la concentración de nutrientes a aportar, el pH de la solución, factores ambientales, entre otros. (Trinidad & Aguilar, 1999)

1.4.1.3 Composición de fertilizantes inorgánicos

Existen una gran variedad de productos en el mercado con diferentes posologías de fertilización. El tipo de producto a utilizar y su composición dependerán de las necesidades del agricultor y sus sembríos a abonar. Algunos de estos productos son la urea, el muriato de potasio o el sulfato de amonio. Estos productos son destinados a la aplicación edáfica comúnmente. Otros fertilizantes de aplicación foliar se enfocan en tratar las carencias de micronutrientes como Zinc (Zn), Boro, (B), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Azufre (S), entre otros. (Delgado, 2011)

Por ejemplo, según (Ecuaquímica, 2020b) su producto Solugro, el cual es un fertilizante granulado, contiene lo siguiente:

- Nitrógeno total (N): 12%
- Fósforo asimilable (P_2O_5): 48%
- Potasio soluble (K_2O): 8%
- Boro (B): 0,02%
- Cobre (Cu): 0,05%
- Hierro (Fe): 0,10%
- Manganeso (Mn): 0,05%
- Molibdeno (Mo): 0,0005%

1.4.2 Biofertilización

1.4.2.1 Biofertilizantes

Los nutrientes, mencionados previamente, pueden ser proporcionados a los cultivos por medio de la biofertilización, la cual Castilla (2020) define como la aplicación de microorganismos al suelo como bacterias, hongos, entre otros; que ayudan de manera natural a la nutrición y crecimiento de las plantas.

Otra definición realizada por (Merino & Yahuara, 2019) afirma que un “biofertilizante hace referencia a un líquido pastoso que resulta de la fermentación de la materia orgánica, ya sea de origen animal o vegetal, en un medio líquido por un determinado tiempo, en presencia o ausencia de oxígeno, en una cámara conocida como biodigestor” (pág. 11).

En la Unión Europea, específicamente España, existen biofertilizantes a base de rizobacterias. Estas rizobacterias promueven el crecimiento vegetal, lo que causa un aumento en la producción de los cultivos y la disminución de la contaminación de acuíferos por nitratos. (Probelte, 2019)

La composición de este biofertilizante denominado Bulnova es:

- *Azospirillum brasilense* Cepa M3 (CECT 5802) > 108 UFC/mL
- *Pantoea dispersa* Cepa C3 (CECT 5801) > 108 UFC/mL

Estos nombres científicos corresponden a los microorganismos que cumplen la función de materia orgánica que alimenta a los cultivos de arroz.

1.4.2.2 Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de sustancias químicas muy extenso de naturaleza fenólica. Poseen un bajo peso molecular y su estructura

química se caracteriza por estar compuesta por dos anillos aromáticos de benceno unidos a un esqueleto de difenilpiranos, que es un puente de tres carbonos. (Martínez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002)

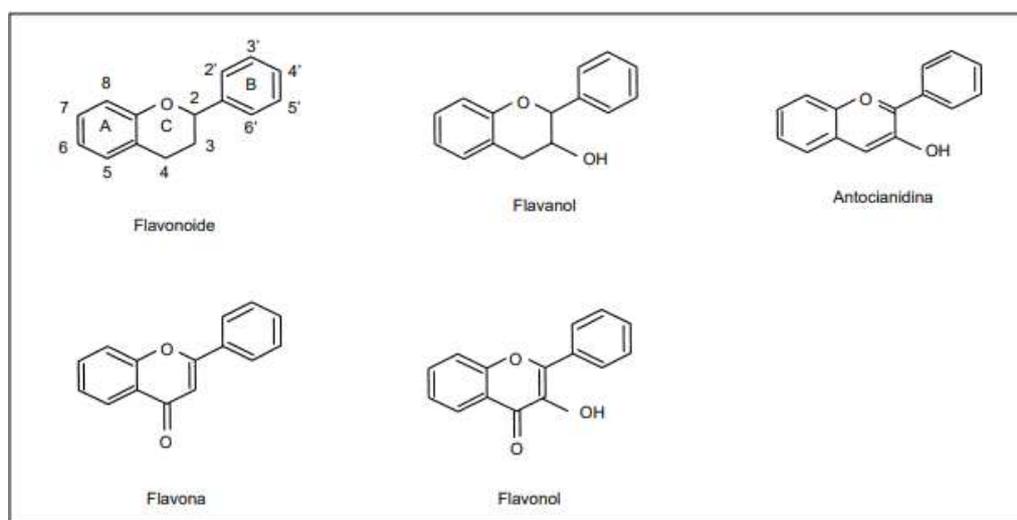


Figura 1.1 Clasificación de flavonoides. [Martínez et al., 2002]

1.4.2.3 Flavonoides en la biofertilización

Los flavonoides pueden ser utilizados como ingredientes activos en la producción de biofertilizantes, puesto que “juegan un papel en la defensa de las plantas frente a agentes agresores externos”. (Cartaya & Reynaldo, 2001)

Pholus es un biofertilizante natural de origen chileno producido a partir del extracto acuoso de Quillay, el cual es un árbol endémico de la Zona Central de Chile. Badische Anilin und Soda Fabrik BASF (2021) y que contiene como parte de sus ingredientes activos a los flavonoides.

1.4.2.4 Biofertilizantes a base de extractos de algas marinas

En el caso de los biofertilizantes a base de extractos vegetales, como las algas marinas, se suele utilizar principalmente la especie noruega *Ascophyllum nodosum*, que se puede obtener de las costas de Inglaterra, Irlanda y Noruega.

También la especie *Sargassum sp* en la región costera de Carolina del Norte, Estados Unidos. Otra especie es *Macrocystis gigante*, conocida también como “kelp”, esta especie se encuentra en el noroeste del pacífico de Estados Unidos. (Yáñez, 2017)

1.4.2.5 Especies de algas marinas

Ascophyllum nodosum

Estas algas marinas son de color pardo y forman vejigas individuales en el centro de largas frondas con forma de correa. Estas frondas cuelgan hacia abajo cubriendo suavemente las rocas intermareales protegidas. Su crecimiento es muy lento, con un ciclo de vida de alrededor de 10 a 15 años. (Guiry, 2021)



Figura 1.2 Aspecto de macroalga *Ascophyllum Nodosum*. [Vaca, 2018]

Sargassum ecuadorenum n. sp.

Son algas marinas de 75 cm de alto o más aproximadamente, tienen múltiples ramificaciones a partir de un pequeño y duro tallo principal. Sus hojas están esparcidas a intervalos de 1 a 2 cm. Son delgadas, de un color marrón claro; 4,5 a 7,5 cm de largo, 6 a 10 mm de ancho. Pueden ser

encontradas a lo largo de la ciudad costera de La Libertad, más específico en Ballenita, Santa Elena-Ecuador. (Hancock, 1945)



Figura 1.3 Aspecto de *Sargassum ecuadorenum*. [Vaca, 2018]

Acanthophora spicifera

Es un tipo de macroalga roja que alcanza longitudes de hasta 40 cm. Su color puede variar de rojo hasta morado o marrón. Crecen en sustratos de consistencia rocosa. Pueden ser encontradas en las playas de Ballenita, Santa Elena-Ecuador; más específicamente por las áreas de Chuyuipe y Farallón. (Vaca, 2018)



Figura 1.4 Aspecto de *Acanthophora spicifera*. [Vaca, 2018]

1.4.3 Obtención de extractos hidroalcohólicos

1.4.3.1 Maceración

La maceración consiste en un tipo de extracción sólido-líquido en la que el sustrato vegetal permanece en contacto o sumergido en un solvente, durante un tiempo prolongado para extraer sus principios activos. El solvente que se utilice y el tiempo de contacto, dependerán del tipo de sustrato vegetal presente. Generalmente, el solvente es una mezcla hidroalcohólica como etanol en agua a determinado porcentaje de concentración. El tiempo de maceración puede variar de 4 hasta 10 días. (Carrión & García, 2010)

1.4.4 Caracterización de extractos hidroalcohólicos

1.4.4.1 Método colorimétrico

“Las técnicas colorimétricas se basan en la medida de la absorción de radiación en la zona visible por sustancias coloreadas” (Aparicio, 2017).

Las ondas visibles se encuentran en el rango de 380 a 770 nm de longitud de onda respecto al espectro electromagnético. Cuando las muestras utilizadas no posean color, se emplean reactivos que colorean las muestras con las sustancias de interés a analizar.

Esta técnica permite comparar visualmente el color de las soluciones con patrones de colores que identifican la presencia de un compuesto en específico; o por espectrofotometría debido a que muchas sustancias tienen espectros de absorción específicos en la región visible y ultravioleta.

1.4.4.2 Espectrofotometría

“La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución” (Díaz *et al.*, 2010). Esta técnica se complementa con la colorimetría puesto que a

través de un espectrofotómetro se puede medir la absorbancia de la luz por las moléculas de la muestra a estudiar.

Para determinar la concentración de la sustancia se utiliza la ley de Bouguer-Lambert-Beer la cual relaciona la absorbancia de luz monocromática y la concentración de un cromóforo en solución, esto es:

$$A = -\log_{10}(T) = \epsilon cd \quad (1.1)$$

Donde:

A, absorbancia

ϵ , coeficiente molar de extinción

d, recorrido

c, concentración molar de sustancia,

T, transmitancia

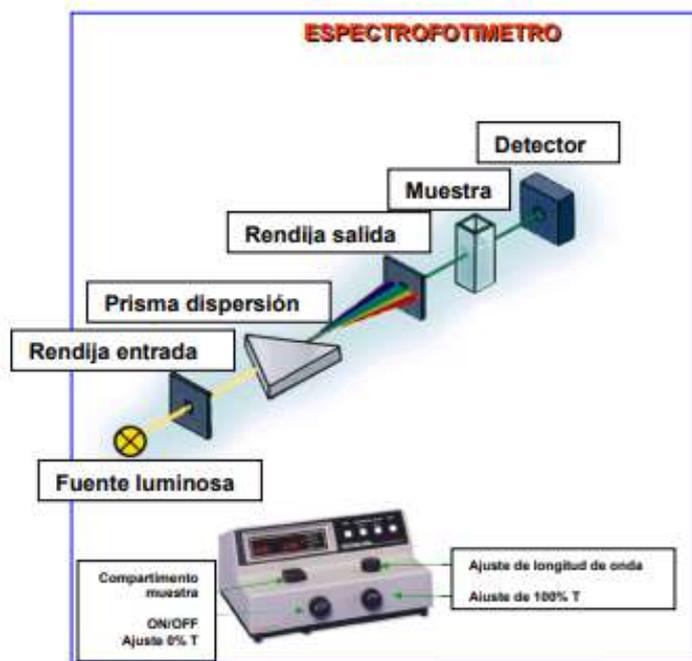


Figura 1.5 Funcionamiento de un espectrofotómetro. [Díaz *et al.*, 2010]

1.4.5 Estimación de costos

En un proyecto, es necesario predecir los diferentes costos a considerar para su ejecución satisfactoria. Con base a la estimación de costos se puede analizar la viabilidad económica del proyecto, la cual según Nassir Sapag (citado en Saca, 2018), permite definir si es rentable o no invertir en este.

1.4.6 Indicadores de rentabilidad

1.4.6.1 Valor Actual Neto (VAN)

Este indicador permite determinar si un proyecto generará beneficios adicionales una vez cubiertos todos los costos de este. Para que el proyecto sea rentable, su valor debe ser superior a cero; no obstante, si su valor es igual a cero, se deben tomar otras consideraciones específicas que dependen del inversionista. Un valor menor a cero representa que el proyecto no es rentable. (Valencia, 2011)

1.4.6.2 Tasa Interna de Retorno (TIR)

La TIR es un criterio que se relaciona con el VAN al representar la tasa de descuento que confiere al Valor Actual Neto el valor de cero. Si el valor de este indicador es superior a la tasa de descuento del proyecto, este será rentable, otorgando beneficios mayores a la expectativa planteada. (Mete, 2014)

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

Para dar un contexto general del contenido de este capítulo, se ha estructurado la metodología como se muestra en la figura 2.1:

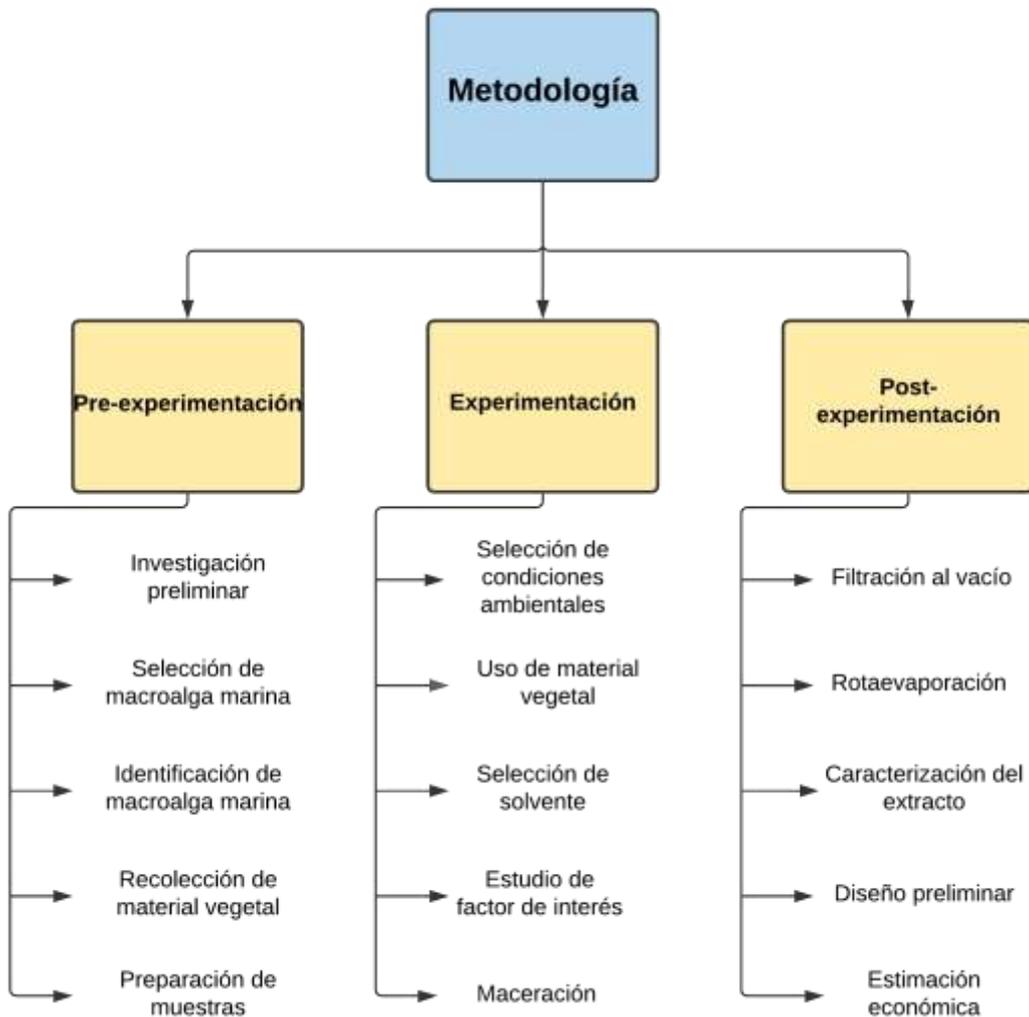


Figura 2.1 Diagrama de Etapas de la Metodología

2.1 Pre-experimentación

2.1.1 Investigación preliminar

Se realizó una búsqueda bibliográfica sobre las propiedades benéficas que poseen las macroalgas marinas para los cultivos de arroz. Además, se consideró el estado del arte respecto a la implementación de extractos de algas marinas en biofertilizantes y sus beneficios para las plantas y el suelo.

La empresa ecuatoriana, Ecuaquímica, fue referente para el precio de producto, cantidad de presentación y tipo de materia prima, puesto que comercializan un bioestimulante que no sólo se enfoca en cultivos de arroz; sino en el banano, cacao, cebolla, entre otros.

En la implementación de flavonoides como ingrediente activo en los biofertilizantes, se tomó de referente a la empresa alemana BASF con su bioestimulante de origen chileno a base de extractos de quillay.

2.1.2 Selección de macroalga marina

Se seleccionó a la macroalga roja *Acanthophora spicifera* por su facilidad y bajo costo de obtención. Además de ser una especie de alga con propiedades anticancerígenas y antimicrobiana. (Muthuraman, Mani, Thangaraj, & Sivasubramanian, 2014)

2.1.3 Identificación de macroalga marina

Para la identificación de la especie de macroalga marina se recurrió a la literatura de trabajos previos en los que se involucra el uso de la especie *Acanthophora spicifera*. En estos, se mencionan las características morfológicas y físicas que permiten distinguirlas de otras especies; además, de ser una de las pocas especies que se pueden obtener y diferenciar a simple vista en el área de recolección. (Vaca, 2018)

2.1.4 Recolección del material vegetal

Las algas necesitan ser recolectadas y conservadas de forma adecuada para evitar su descomposición. El método de recolección elegido fue obtenido del canal científico Vida Verde Educativa (2018) . Se replicaron los pasos a seguir, que implicaban el uso de bolsas plásticas herméticas Ziploc. Las algas marinas se extrajeron cuidadosamente de las zonas rocosas a orillas de la playa mientras seguían debajo del agua.

En una balanza analógica se pesó alrededor de 1 kg de algas marinas, procurando escurrirlas del agua de mar en exceso. Luego, se recogió agua de mar dentro de las bolsas para conservar a las algas en un medio acuoso natural. Las bolsas con algas marinas se almacenaron en un contenedor hermético a bajas temperaturas para transportarlas desde Ballenita hasta la ciudad de Guayaquil.

Las algas fueron retiradas del contenedor y de las bolsas para ser higienizadas de cualquier residuo orgánico e inorgánico. Para su limpieza, se empleó agua destilada y luego fueron almacenadas en un frasco refractario de 3 L. Dentro de este envase, se agregaron aproximadamente 2 L de una solución salina al 3,5% (p/v). El frasco refractario se mantuvo en refrigeración durante 4 días hasta su preparación para la experimentación.

2.1.5 Preparación de muestras

2.1.5.1 Secado

Para realizar el proceso de maceración en frío se necesita que las muestras vegetales estén libres de humedad y pulveriformes, acorde al procedimiento experimental según Carrión & García (2010) en su trabajo sobre la “Preparación de Extractos Vegetales”.

En la literatura se indica que se pueden colocar las algas al aire libre para ser secadas mediante la luz solar. Este proceso puede tomar hasta

tres días y causar contaminación en las muestras, por lo que se optó realizarlo en un secador de bandejas.

El secador de bandejas es un equipo que está ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la ESPOL. Este dispositivo consta de un termómetro digital para medir la temperatura interior del secador. Adicional, tiene tres termómetros analógicos colocados en la parte trasera del equipo que miden con mayor precisión la temperatura en el interior de la cámara del secador.

Las algas se esparcieron uniformemente en dos bandejas individuales, para que el proceso de secado sea efectivo en toda la muestra. La temperatura se reguló a 40°C, la cual fue alcanzada en 20 minutos para cada sección que conforma el secador. El secador operó con flujo de aire continuo durante 2 horas y 30 min.

Una vez las muestras estuvieron secas, se midió la cantidad de masa seca disponible. La masa de algas húmedas al inicio del proceso fue aproximadamente de 1 kg, mientras que la masa de algas secas en la culminación fue aproximadamente de 200 g a 300 g.

2.1.5.2 Molienda

Una vez finalizado el proceso de secado, se realizó la molienda de las muestras de algas marinas secas. Para esto, se utilizó un molino de mano tradicional marca Corona, el cual fue armado en los mesones del laboratorio de trabajo. El polvo de algas secas fue recolectado en un crisol de porcelana para pesar el contenido obtenido.

2.2 Desarrollo de la experimentación

2.2.1 Selección de condiciones ambientales de experimentación

La extracción de las muestras vegetales se realizó a temperaturas entre 0°C a 5°C y a presión atmosférica de 1 atm en las instalaciones del Laboratorio Instrumental (Lab-107) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCNM).

2.2.2 Uso de material vegetal

Se utilizaron 5 g de muestras vegetales de macroalgas marinas rojas (*Acanthophora spicifera*) previamente secadas y molidas para cada ensayo de extracción.

2.2.3 Selección de solvente

El solvente elegido para realizar la extracción fue alcohol potable (etanol), por su bajo costo y accesibilidad de compra. Además, es considerado una sustancia segura por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, 2020). Por lo tanto, los extractos obtenidos serán aptos para la producción de un biofertilizante no perjudicial para la salud humana y amigable con el medio ambiente.

Otro factor importante para utilizarlo es su compatibilidad en extracciones de muestras vegetales a bajas temperaturas. Esto permite capturar toda la esencia de los principios activos sin alteraciones. (Pineda, 2019)

Se utilizaron 50 mL de alcohol potable del proveedor químico "Ruilova" para cada ensayo de extracción.

2.2.4 Estudio del factor de interés

En la sección experimental del proyecto se estudió la factibilidad de producir un biofertilizante foliar a base de extracto de algas marinas, variando la concentración del solvente extractor con el fin de cuantificar el contenido total de flavonoides en cada ensayo.

El solvente utilizado fue alcohol potable (etanol de pureza 95%) el cual fue mezclado con diferentes volúmenes de agua para disminuir la concentración gradualmente.

2.2.5 Maceración

Tabla 2.1 Variación de la concentración de etanol

Muestra	Concentración de etanol (v/v)
1	100%
2	80%
3	60%
4	40%
5	20%
6	0%

El método de extracción sólido-líquido para las muestras de algas marinas fue la maceración en frío. Para el procedimiento, se pesó en una balanza analítica 5 g de algas secas pulveriformes. Luego, se agregaron los 5 g de muestra en un matraz Erlenmeyer con ayuda de una espátula. Se los mismos pasos en 5 matraces adicionales.

Para preparar el solvente a distintas concentraciones, se utilizaron dos probetas de vidrio de 50 mL cada una. La concentración de etanol fue variando conforme a la tabla 2.1. Cada una de las muestras fueron rotuladas con su respectiva concentración y almacenadas en refrigeración a bajas temperaturas durante quince días.

2.3 Post-experimentación:

2.3.1 Filtración al vacío

El equipo utilizado para la filtración fue la bomba de vacío marca Gast. Este procedimiento se efectuó para remover los residuos sólidos de algas presentes en los extractos obtenidos por la maceración en frío.

Se seleccionó la filtración al vacío para acelerar el tiempo de filtrado de las muestras y realizar la remoción del solvente. El sistema de filtración al vacío fue armado siguiendo las “Técnicas Básicas de Experimentación en Química” de Vilalta & Altarriba (2010).

En un embudo Buchner se colocó papel filtro, luego este embudo se acopló a un Kitasato conectado a la bomba de vacío. Después, se vertieron los extractos individualmente en el sistema de filtrado.

Los extractos libres de sólidos se almacenaron en recipientes de vidrio con su respectiva rotulación. Cada uno de estos recipientes fueron colocados inmediatamente en refrigeración para evitar la degradación de las muestras.

2.3.2 Rotaevaporación

Los extractos hidroalcohólicos fueron purificados por rotaevaporación, puesto que es un método de eliminación suave del solvente de un extracto sensible a altas temperaturas. El equipo utilizado fue un rotavapor de la marca BÜCHI modelo R-215 con controlador de vacío V-850, baño calefactor B-491, bomba de vacío V-700 y enfriador de destilación B-741.

Cada una de las seis muestras extraídas fueron trasvasadas a un matraz de bola y conectadas al tubo refrigerante del sistema. Las condiciones establecidas para el uso del rotaevaporador se tomaron del

manual BÜCHI “Training papers: Distillation with a Rotary Evaporator” de (Hoegger, 2000)

Tabla 2.2 Condiciones de rotaevaporación [Hoegger, 2000]

Condiciones	Refrigerante	Vapor	Baño calefactor
Temperatura [°C]	20	40	60
Presión [mbar]	1013	175	1013

Las condiciones presentadas en la tabla 2.2 fueron variando en base a la concentración de etanol en cada muestra. En extractos vegetales la temperatura se recomienda que no sobrepase los 50°C, es preferible realizar la evaporación a 40°C para evitar la descomposición de los principios activos. El agua de refrigeración recirculaba a través del enfriador del propio sistema de rotaevaporación, por lo que no fue factible medir su temperatura con exactitud y se aproximó a 20°C.

El baño calefactor se mantuvo a una temperatura de 40°C para las primeras muestras de concentración al 100%, 80% y 60% de etanol. A partir de las concentraciones de 40% e inferiores se aumentó la temperatura a 50°C, para aumentar la tasa de evaporación del solvente.

La tasa de rotación se mantuvo en 100 rpm, siguiendo como regla general que “a mayor velocidad de rotación, mayor la tasa de destilación” (Hoegger, 2000). No obstante, no se incrementó más la tasa de rotación puesto que el matraz de bola no era de un tamaño considerable. Aumentarla, pudo ocasionar que el contenido co-rote con el matraz por la presión contra las paredes del matraz, resultando en una disminución de la turbulencia.

2.3.3 Caracterización del extracto

Para la caracterización del extracto se contrataron los servicios del Laboratorio de Soluciones Experimentales (Lasolex), debido a limitaciones

de disponibilidad de equipos para las pruebas finales. El contenido de flavonoides totales se evaluó por el método colorimétrico con cloruro de aluminio AlCl_3 por duplicado, siguiendo la técnica descrita por Ivanova, Stefova, & Chinnici (2010).

Los reactivos utilizados fueron:

- Cloruro de aluminio (AlCl_3)
- Nitrito de sodio (NaNO_2) 0,5 g/L
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio (NaOH) 1M
- Mangiferina

Los equipos utilizados fueron:

- Balanza analítica Beltrán BK200
- Espectrofotómetro HANNA Iris HI801
- Micropipeta automática MICROLIT

Tabla 2.3 Preparación de solución estándar de mangiferina

Madre	Peso	Volumen	Concentración
	(mg)	(mL)	(mg/mL)
Mangiferina	12,5	25	0,5

Se preparó una solución madre de mangiferina al 0.5 mg/mL, como indica la tabla 2.3, para realizar la curva de calibración.

Tabla 2.4 Ensayos de colorimetría para curva de calibración

Mangiferina	Volumen H_2O	NaNO_2 0,5 g/L	AlCl_3 1 g/L	NaOH 1M	H_2O	Volumen final	Absorbancia
(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(510 nm)
Blanco	5	0,3	0,3	2	2,4	10	0,007
A	4	0,3	0,3	2	2,4	10	0,023
B	3	0,3	0,3	2	2,4	10	0,041
C	2	0,3	0,3	2	2,4	10	0,051

D	1	0,3	0,3	2	2,4	10	0,059
E	0	0,3	0,3	2	2,4	10	0,071

En la tabla 2.4 se establecieron los diferentes ensayos de colorimetría realizados en base a Ivanova *et al.* (2010). Primero se preparó el blanco (muestra) que no incluye mangiferina. Para esto se añadieron 5 mL de agua destilada en un matraz volumétrico seguido de la adición de 0.3 mL de una solución de NaNO₂ 0.5 g/L. Después de 5 min, se añadieron 0.3 mL de una solución de AlCl₃ 1 g/L y 6 min después, 2 mL de NaOH 1M. luego se aforó hasta alcanzar un volumen de 10 mL y se midió su absorbancia a 510 nm en el espectrofotómetro.

Se repitió el mismo procedimiento con 5 muestras más, pero añadiendo 1 mL adicional de mangiferina en cada repetición y disminuyendo 1 mL de agua destilada correspondientemente, tal como se indica en la tabla 2.4.

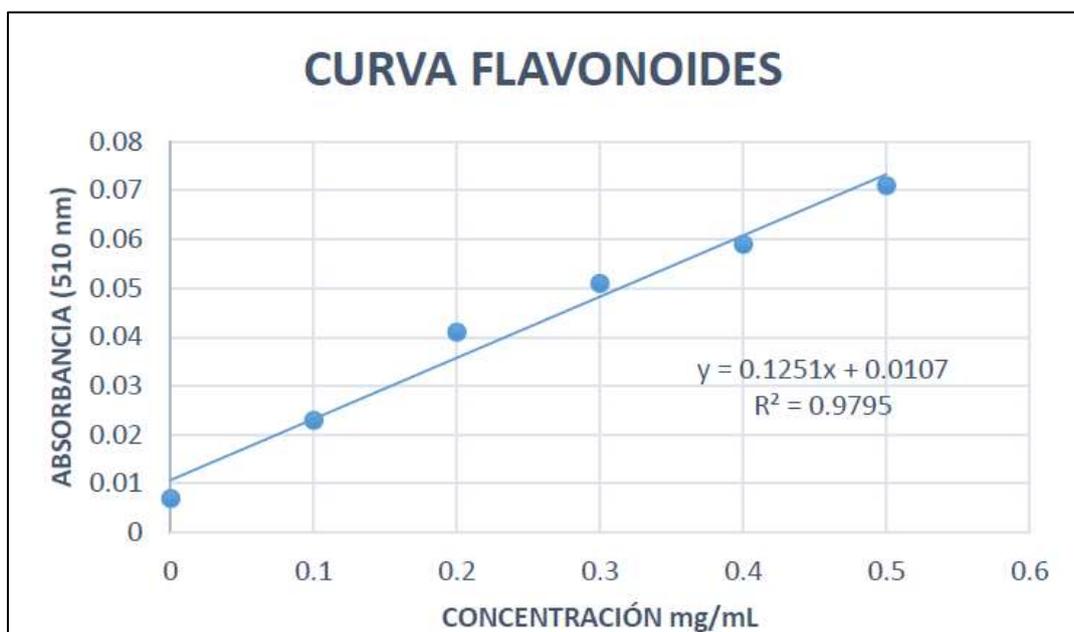


Figura 2.2 Curva de calibración para espectrofotometría

En la figura 2.2 se muestra la curva de calibración de las soluciones preparadas con mangiferina.

Tabla 2.5 Ensayos de colorimetría para contenido total de flavonoides

Extracto de algas	Volumen H₂O	NaNO₂ 0,5 g/L	AlCl₃ 1 g/L	NaOH 1M	H₂O	Volumen final
(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
Blanco	4	0,3	0,3	2	2,4	10
A	4	0,3	0,3	2	2,4	10
B	4	0,3	0,3	2	2,4	10
C	4	0,3	0,3	2	2,4	10
D	4	0,3	0,3	2	2,4	10
E	4	0,3	0,3	2	2,4	10

Después de calibrar el equipo, se tomaron alícuotas de 1 mL de extracto de algas marinas y se repitió el mismo procedimiento que se realizó para la curva de calibración con la solución de mangiferina; con cada una de las muestras de diferente concentración de etanol. En la tabla 2.5. se detallan los volúmenes utilizados; las soluciones se hicieron por duplicado para analizarlas en el espectrofotómetro.

Al usar el espectrofotómetro, se midió la absorbancia de cada una de extractos de forma individual, teniendo en consideración que antes de cada ensayo, se enceró con el blanco (muestra) para una correcta medición de la absorbancia. Además, se debe recalcar que el equipo utilizado permite obtener resultados en unidades de concentración.

2.3.4 Diseño preliminar de una planta de extracción hidroalcohólica

2.3.4.1 Localización

Para la ubicación de la planta se consideraron los criterios señalados por (Peters, Timmerhaus, & West, 2003)

1. Obtención de materia prima.
2. Comercio
3. Fuentes de energía
4. Clima

Estos criterios son los más importantes en un diseño preliminar de una planta industrial. El requerimiento de la materia prima es el factor decisivo para la ubicación, puesto que las algas marinas sólo pueden crecer en condiciones ambientales específicas que proveen las cercanías al mar. Por esta razón, la planta debe ubicarse en las afueras del cantón Santa Elena, provincia de Santa Elena; cerca de la parroquia Ballenita de cuyas playas se extrajeron las algas marinas para la experimentación.

2.3.4.2 Diagrama de bloques

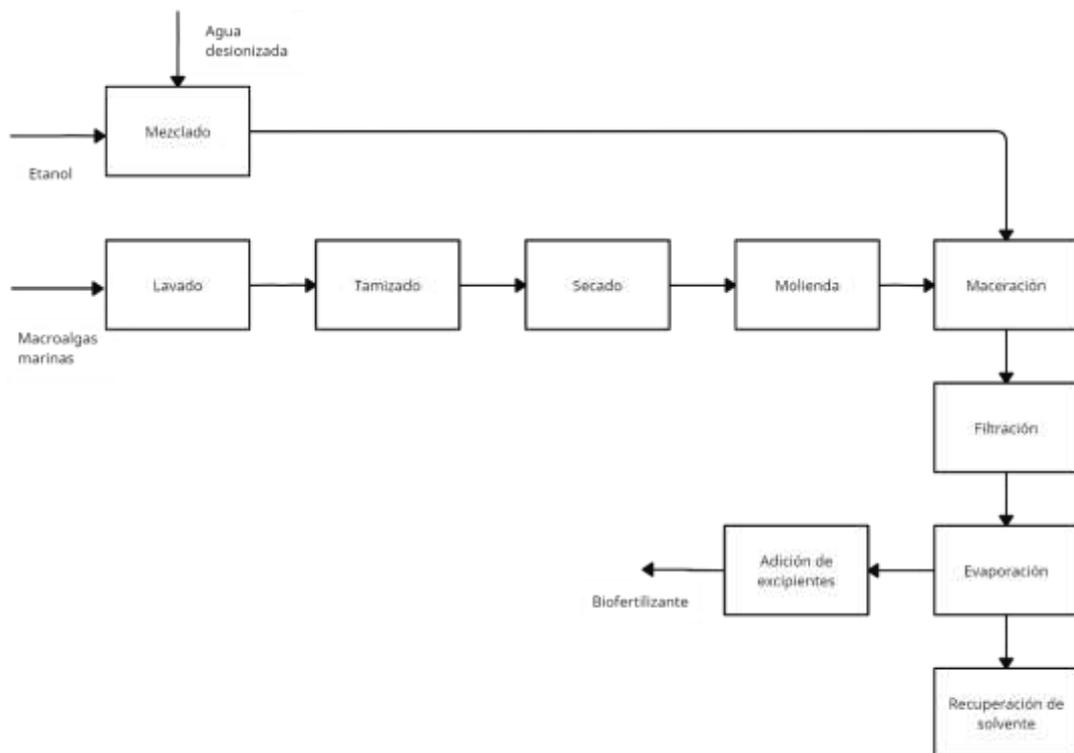


Figura 2.3 Diagrama de bloques del proceso

2.3.4.3 Equipamiento

En esta sección se describe brevemente los equipos principales que se consideraron para diseñar el diagrama de flujo de proceso y la estimación económica.

Tanque de lavado

El tipo de tanque seleccionado para el lavado de las algas es de una geometría cilíndrica de acero inoxidable. El agitador incorporado debe ser regulable, para proporcionar una limpieza suave de las impurezas como arena, rocas y demás residuos que el alga marina pueda contener al inicio del proceso.



Figura 2.4 Tanque de mezclado. [Prowater, 2021]

Filtro de rejillas

En este equipo se consideró el uso de rejillas transportadoras para recuperar el alga del proceso de lavado y dirigirla hacia el secador.



Figura 2.5 Filtro de rejillas transportadores. [Alibaba, 2021]

Secador de tamices transportadores

Se seleccionó este equipo debido a que se divide en secciones con temperatura y humedad variable en cada una con el fin de realizar un secado óptimo conforme las algas marinas sean transportadas por el túnel de secado.

Además, este tipo de secador tiene tiempos de 5 a 120 minutos en promedio según (McCabe, Smith, & Harriott, 2007). Este intervalo corresponde al tiempo de secado de las algas marinas en la etapa de pre-experimentación.



Figura 2.6 Secador de tamices transportadores. [Alibaba, 2021]

Tanque de almacenamiento

Para el almacenamiento se consideró tanques de geometría cilíndrica y de posicionamiento vertical. Se consideraron tres tanques, uno para almacenar agua que sería tratada posteriormente para su uso, otro para depositar el solvente extractor recuperado, y el tercero para la transición del alga seca al final del secador de tamices transportadores y el proceso de molienda.



Figura 2.7 Tanque de almacenamiento. [Alibaba, 2021]

Molino de martillo

Se escogió este tipo de molino porque su uso, generalmente, está destinado a la molienda en seco. Las algas marinas secas son un material bastante frágil que no necesitará de mucha potencia para ser triturado, por lo que se ahorraría energía.



Figura 2.8 Molino de martillo. [Gémina, 2020]

Tanque de maceración

Para el proceso de maceración se consideraron aspectos como el sistema de enfriamiento, la agitación continua, la medición de la temperatura dentro del tanque y el volumen que debe tener respecto a la cantidad de materia prima que ingrese al mismo.



Figura 2.9 Tanque de maceración con chaqueta de enfriamiento. [ACE, 2020]

Filtrador al vacío de tambor rotatorio

Se consideró este equipo porque permite recrear en cierta medida la filtración al vacío en el laboratorio, pero a mayor escala. Su estructura permite que los residuos sólidos, producto de la maceración de las algas, se retengan en su superficie rotatoria, permitiendo sólo el paso del extracto hacia el siguiente proceso.



Figura 2.10 Filtrador de tambor rotatorio al vacío. [Alibaba, 2020]

Evaporador de película agitada

El vacío dentro de este evaporador disminuye la temperatura de ebullición del solvente hidroalcohólico. La constante agitación aumenta la turbulencia del fluido, por ende, el coeficiente de transferencia de calor también aumenta (McCabe et al., 2007). Esto permite que los tiempos de residencia sean cortos, lo cual es ideal para la remoción de solventes en extractos vegetales sensibles a la degradación por altas temperaturas.



Figura 2.11 Evaporador de película agitada. [ExtractionSolution, 2020]

2.3.5 Estimación económica

2.3.5.1 Costos de equipos

Los valores considerados fueron con base en catálogos disponibles de empresas como Ace Machinery (2020) para el tanque de maceración y Gémina (2020) para el molino de martillos. De la misma forma, se recolectaron datos de los demás equipos disponibles con sus respectivos costos de trabajos previos relacionados a este proyecto como el de (Pérez, Sing, Pérez, & Segura, 2018) en el que se realizó una evaluación tecno-económica de una planta de biofertilizantes.

2.3.5.2 Costos de mantenimiento y operación

Estos costos se clasificaron como fijos y variables según Zugarramurdi, Parín, & Lupin (1998). Los costos fijos que se consideraron fueron los relacionados al personal de trabajo, laboratorio y departamentos de calidad y los gastos administrativos. Para los gastos administrativos se usó la estimación del 40% de los costos de personal en base a Zugarramurdi *et al.* (1998).

En los costos variables se consideró a la materia prima, las utilidades básicas necesarias el funcionamiento de la planta (agua desionizada, vapor, agua de enfriamiento, electricidad y combustible), el mantenimiento y otros aspectos como miscelánea y consumibles (guantes, kits de

análisis de laboratorio, etiquetas, entre otros materiales convencionales). (Pérez *et al.*, 2018)

Para el costo total de la materia prima, se consideró para el etanol un costo unitario de 0,80 \$/L según Pacheco (2018). Mientras que para las algas marinas se hizo un estimado del gasto total para su recolección, que fue un equivalente de 10,00 \$/kg.

2.3.5.3 Flujo de Caja y Análisis de Costo

Se consideró un período de estudio de 10 años para aproximar los resultados con mayor precisión. Para el flujo de caja se utilizaron los costos de equipos, mantenimiento y operación, capital fijo, los ingresos por ventas respecto a la posible producción de la planta y la depreciación anual de los equipos.

Todos estos datos se ingresaron en una hoja de cálculo de Excel y se utilizaron las funciones NPV e IRR para obtener el Valor Actual Neto y la Tasa Interna de Retorno, respectivamente, a partir de una tasa de descuento del 10%. La depreciación fue fijada en un 10% anual de los costos de equipos en base al Decreto Ejecutivo 374 (2020) del reglamento para aplicación de la Ley de Régimen Tributario Interno (LRTI) artículo 28 #6-a.

Los costos de capital fijo fueron clasificados en costos fijos directos de planta y costos fijos indirectos de planta. En los fijos directos se consideraron los estudios previos, costos de compra de equipos, instalación, cañería, instrumentación, electricidad, servicios auxiliares y el terreno junto a las mejoras de este.

Los costos de estudios previos para el proyecto se aproximaron a \$350,00, por lo que este valor se lo triplico para considerarlo en el capital

fijo. Esto es debido a que se deben hacer más estudios después de la aprobación de una propuesta de diseño.

Los costos de instalación de equipos se estimaron como el 20% del costo de compra de equipo (Zugarramurdi *et al.*, 1998). Así mismo, se seleccionó el costo de la instalación de cañerías como el 50% de costos de compra de equipos, la electricidad del 10% y el terreno del 8%.

En los costos fijos indirectos se utilizó de referencia a Pérez *et al.* (2018) quienes consideraron a los costos de contingencia como el 15% de los costos de ingeniería, el equipo auxiliar como el 35% y los honorarios del 3% respecto a los costos de ingeniería.

Para aproximar los ingresos por ventas, se fijó la producción en 400 L de extracto hidroalcohólico por batch. Esto con el fin de calcular la tasa promedio de botellas de 1 L anuales que pueden ser producidas.

Para establecer el precio de venta de cada botella de 1 L se calculó el costo variable unitario como la relación entre los costos variables y la cantidad de botellas producidas en un año, esto es:

$$CVu = \frac{CV}{Q} \quad (2.1)$$

Donde:

CVu, costo variable unitario de una botella de 1L (\$)

CV, costos variables anuales (\$/año)

Q, cantidad de unidades producidas anuales (1L/año)

Luego, se estableció un margen de ganancia común del 35% y se usó la relación entre el costo variable unitario y el margen de ganancia:

$$PV = \frac{CVu}{1-MG} \quad (2.2)$$

Donde:

PV, precio de venta (\$)

CVu, costo variable unitario (\$)

MG, margen de ganancia

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Resultados de determinación de flavonoides totales

Tabla 3.1 Resultados de espectrofotometría a extractos hidroalcohólicos

Muestra	Repetición	Absorbancia (510 nm)	Concentración flavonoides (mg/mL)
Etanol 0%	1	0,994	7,86
	2	1,024	8,1
Etanol 20%	1	0,46	3,592
	2	0,66	5,19
Etanol 40%	1	0,791	6,237
	2	0,862	6,805
Etanol 60%	1	1,58	12,544
	2	1,625	12,904
Etanol 80%	1	0,116	0,842
	2	0,213	1,617
Etanol 100%	1	1,261	9,994
	2		

En la tabla 3.1 se muestran los resultados de absorbancia y concentración de flavonoides obtenidos después del proceso de caracterización por Lasolex.

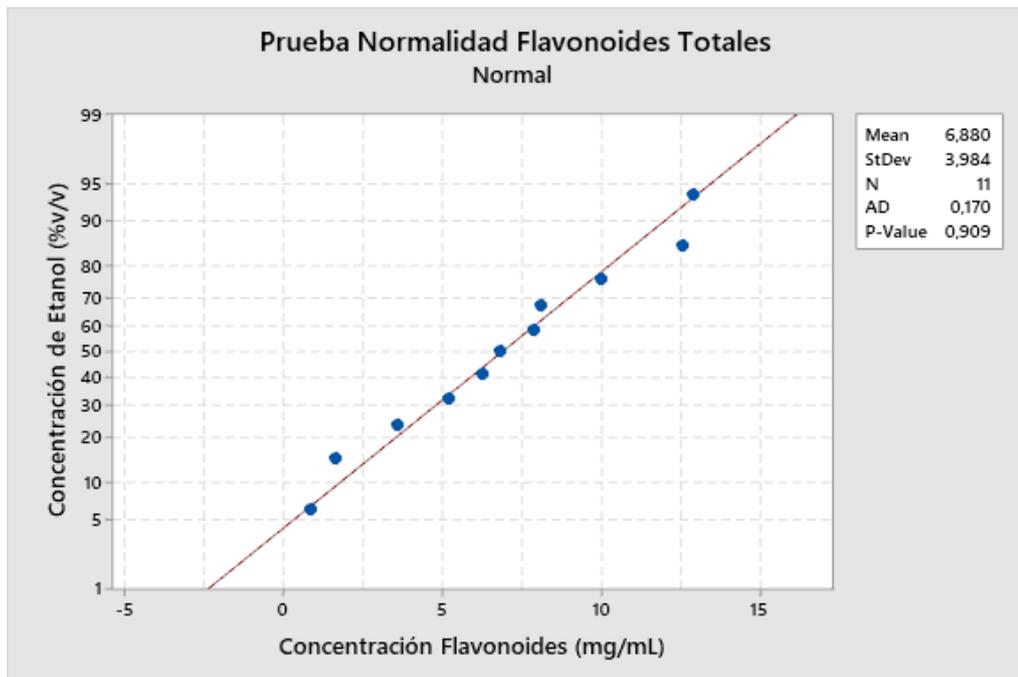


Figura 3.1 Prueba de normalidad de resultados obtenidos

En la figura 3.1 se muestran los resultados de la prueba de normalidad de los datos de concentración de flavonoides ingresados en Minitab. La gráfica indica que los datos poseen una distribución normal.

Tabla 3.2 Tabla ANOVA de variación de concentración de etanol

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Variación etanol	5	156,926	31,3852	85,66	0.00
Error	5	1,832	0,3664		
Total	10	158,758			

En la tabla 3.2 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) de un factor obtenido en el software Minitab. Donde:

- GL, grados de libertad
- SC, suma de cuadrados
- MC, media de cuadrado
- F, valor F
- P, valor P

El valor p resulta ser menor al nivel de significancia de la prueba que es 0,05; rechazando la hipótesis nula que indica que la variación de etanol no influye en la concentración de flavonoides extraídos de las algas marinas.

3.2 Análisis de resultados de determinación de flavonoides totales

De acuerdo con la tabla 3.1, utilizando etanol al 60% se tienen concentraciones más altas de flavonoides, llegando hasta los 12,904 mg/mL, mientras que al 80% hubo una gran reducción de la concentración de hasta un 93,47%, correspondiente a 0,842 mg/mL. Con el solvente al 100% se vuelve a elevar hasta 9,994 mg/mL, es por esto se consideran como valores anómalos, los resultados obtenidos al 80% y 100%, respecto a los principios de extracción descritos en el marco teórico de este trabajo.

La obtención de estos valores incoherentes se debe a la poca cantidad de muestra recolectada para la caracterización; este inconveniente sucedió principalmente con las muestras de altas concentraciones de etanol, puesto que su evaporación fue más acelerada, reduciéndose así la cantidad de extracto disponible. Además, esto ocasionó que se descartara el duplicado de la muestra de etanol al 100%.

Respecto a la relación existente entre la variación de concentración de etanol y el contenido total de flavonoides extraídos, se determinó que existe una significancia directa entre ambas variables. A pesar de los valores aberrantes obtenidos a concentraciones de etanol superiores al 60%, los datos siguen una distribución normal, lo que permite realizar un análisis de varianza (ANOVA) demostrándose así la diferencia existente entre las medias de los diferentes grupos de concentración de etanol.

Adicional a esto, se debe tomar en consideración que en todas las variaciones realizadas se obtuvieron cantidades de flavonoides relativamente altas, lo que permite validar en base al estado del arte del proyecto la factibilidad del uso de extractos de algas marinas como ingrediente activo de un biofertilizante.

En este caso, la empresa mexicana Agrimportec (2021) comercializa un bioestimulante llamado Sinerplant. Este producto tiene como ingrediente activo un contenido total de flavonoides de 2,2 ppm, el cual es un valor lo suficientemente alto para brindar efectos beneficiosos a los cultivos como su crecimiento y desarrollo. Las concentraciones de flavonoides en los extractos de algas marinas están entre 842 a 12904 ppm según los resultados de la espectrofotometría.

3.3 Resultados del diseño preliminar

3.3.1 Descripción del proceso

Las algas marinas pueden ser cultivadas para el abastecimiento de la planta. Estas son recolectadas y transportadas hacia el tanque de lavado TL-101, donde son descontaminadas de impurezas mediante agua desionizada a temperatura ambiental proveniente del tanque de almacenamiento TK-101. Luego, estas son transportadas hacia un filtro de rejillas F-101 con banda transportadora donde se escurren del agua en exceso e ingresan al secador de tamices transportadores S-101. La temperatura de secado alcanza un máximo de 40°C y el tiempo de residencia es de dos horas. Una vez que las algas están libres de humedad, son almacenadas en el tanque TK-102 para su posterior molienda en el molino de martillos M-101.

Las algas secas pulveriformes ingresan al tanque de maceración TM-101 con chaqueta de enfriamiento para alcanzar temperaturas entre 0 a 5 °C. El tanque de maceración está en constante agitación para promover la extracción de los principios activos de las algas con etanol al 60% proveniente de la corriente 10.

Después de 10 días de maceración en frío, el extracto obtenido es transportado hacia el filtro de tambor rotatorio al vacío F-102, para remover los residuos sólidos presentes. El producto es impulsado por la bomba P-103 hacia el evaporador de película agitada EV-101, en donde se concentra

el extracto por evaporación del etanol. El etanol recuperado es condensado en el equipo E-101 con agua de refrigeración, para luego ser almacenado en el tanque TK-103 y ser reutilizado en el proceso o para otros fines. El extracto de algas marinas es recolectado al final del proceso fijándose una salida de 400 L/batch de extracto hidroalcohólico de algas marinas.

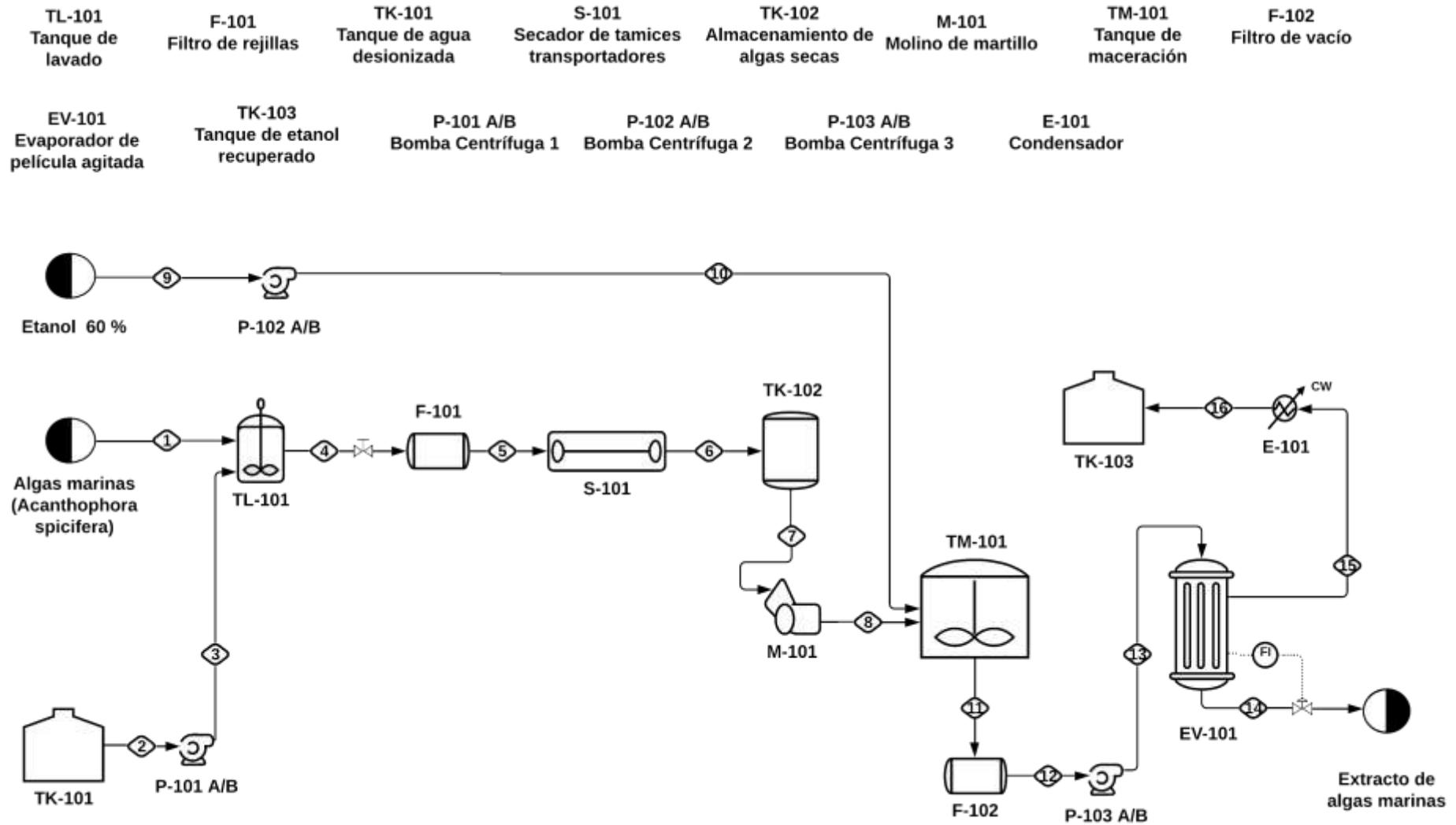


Figura 3.2 Diagrama de flujo del proceso de extracción hidroalcohólica

3.4 Resultados de costos

Tabla 3.3 Costos de adquisición de equipos de la planta de extracción

Costos de Compra de Equipos				
Equipo	Simbología	Cantidad	Características	Costos
Tanque de lavado	TL-100	1	500L, 1,1 kW, acero inoxidable 304, 139 rpm máximo	\$ 2.000,00
Filtro de rejillas	F-100	1	1,3 kW, banda transportadora, 5000 m ³ /d máx.	\$ 4.500,00
Secador de tamices transportadores	S-100	1	consumo máx. vapor 1200 kg/h, 140 °C máx., 36,8 kW máx.	\$ 8.500,00
Tanques de almacenamiento	TK-100	3	vertical, acero inoxidable 316, 600 L	\$ 15.000,00
Molino de martillo	M-100	1	55 kW, 1,5 ton/h máx.	\$ 10.000,00
Tanque de maceración	TM-100	1	500 L, acero inoxidable 304, vertical, 220V	\$ 60.000,00
Filtro de vacío	F-100	1	1,5 kW, operación al vacío, tambor rotatorio	\$ 15.000,00
Evaporador de película agitada	EV-100	1	200 L/h, acero inoxidable 304, vertical, cilíndrico, operación al vacío	\$ 28.400,00
Bombas	P-100 A/B	3	2,2 kW cada una, centrífuga, 12,5 m ³ /h máx., 2900 rpm	\$ 4.500,00
Condensador	E-100	1	Acero inoxidable, 650 kW	\$ 20.000,00
TOTAL				\$167.900,00

En la tabla 3.3 se encuentran detallados los equipos seleccionados para un diseño preliminar de una planta de extracción hidroalcohólica de algas marinas.

Tabla 3.4 Costos de capital fijo de la planta

Inversión Inicial	
Costos Totales Fijos Directos de Planta	
Estudios previos	\$ 1.050,00
Costo de compra de equipos	\$167.900,00
Instalación	\$ 33.580,00
Cañería	\$ 83.950,00
Instrumentación	\$ 20.000,00
Electricidad	\$ 16.790,00
Servicios auxiliares	\$ 20.000,00
Terreno y mejoras	\$ 13.432,00
CTFD	\$ 355.652,00
Costos Totales Fijos Indirectos de Planta	
Ingeniería	\$ 80.000,00
Contingencia	\$ 25.185,00
Construcción	\$ 100.000,00
Equipo auxiliar	\$ 58.765,00
Honorarios	\$ 5.037,00
CTFI	\$ 268.987,00
Costos Directos de Capital Fijo	\$ 624.639,00

En la tabla 3.4 se especifican cada uno de los aspectos considerados para la estimación económica del capital fijo de la inversión inicial para la planta hidroalcohólica.

Tabla 3.5 Costos de operación al año de la planta

Costos operacionales anuales	
Costos Fijos	
Operacionales	\$ 40.000,00
Laboratorio/Calidad	\$ 10.000,00
Administrativos	\$ 16.000,00
Total Fijos	\$ 66.000,00
Costos Variables	
Materia prima	\$ 66.800,00
Utilidades	\$ 15.000,00
Mantenimiento	\$ 10.000,00
Miscelánea y consumibles	\$ 50.000,00
Total Variables	\$ 141.600,00
TOTAL	\$207.600,00

En la tabla 3.5, está la clasificación de los costos de operación considerados para el diseño preliminar, los costos fijos y costos variables en la operación anual de la planta.

Tabla 3.6 Ingreso anual de venta de biofertilizante

Producción 1er Año	
Parámetro	Valor
Tasa promedio de botellas 1 L /batch	400
Número de batches por año	37
Tasa promedio de botellas 1L /año	14800
Cálculo Ingreso	
Costo variable unitario (\$ 1L /año)	\$ 9,57
Margen de ganancia	35,00%
Precio de venta (\$1L/año)	\$ 14,72
Ingreso Anual Estimado	\$217.846,15

En la tabla 3.6, se muestran los datos más importantes para realizar la estimación de ingresos por ventas de producto elaborado en base a un año de producción.

Tabla 3.7 Resultados de indicadores de rentabilidad de la planta

Indicadores de rentabilidad	
Período de Retorno de la Inversión (PRI)	5
Tasa Mínima Aceptable de Retorno (TMAR)	10%
Valor Actual Neto (VAN)	\$2.488.823,03
Tasa Interna de Retorno (TIR)	37%

En la tabla 3.7, se observan los resultados de los indicadores de rentabilidad del proyecto. El flujo de caja puede visualizarse en el Apéndice D.

3.5 Análisis de costos

De acuerdo con la tabla 3.3, el costo total de la compra de equipos es de \$167.900,00. Los equipos más costosos son aquellos cuyo funcionamiento es poco común o sus requerimientos energéticos son superiores respecto a otros de la misma categoría, como el tanque de maceración, el evaporador de película agitada y el condensador, de \$60.000,00, \$28.400,00 y \$20.000,00, respectivamente.

La compra de equipos representa el 47% de los costos fijos directos del capital fijo y juntos a los fijos indirectos representados por los gastos de construcción, contingencia e ingeniería, son los que influyen en mayor medida en el valor total del capital fijo.

En los costos operacionales de la tabla 3.5, los costos fijos más influyentes anualmente, son los costos de salario de operarios de \$40.000,00. En los costos variables, la materia prima tiene un costo de \$66.600,00, lo cual representa el 47% de los costos totales variables. No obstante, el valor de la materia prima podría disminuirse considerando que la ubicación esperada de la planta sería en las cercanías del mar, por la implementación del cultivo de algas marinas.

El etanol no tiene un precio muy elevado dentro del país, por lo que al fijar una producción de 400 L de extracto por batch de extracto, sólo sería necesario 37000 L de etanol en el primer año. Los costos de materia prima pueden variar dependiendo del aumento o disminución de la producción de la planta; también la situación del mercado del país puede influir en estos.

Los costos de utilidades representan el 11% de los costos variables, este porcentaje es en referencia a Pérez *et al.* (2018). Se espera que la planta no tenga un consumo muy elevado de energía respecto a otras industrias similares, puesto

que su producción en el primer año es relativamente pequeña, siguiendo una operación en modo batch.

Los costos relacionados a la categoría miscelánea y consumibles, son los más elevados. Estos representan todos aquellos artículos consumidos a diario como: guantes, kits de análisis de laboratorio, pipetas, etiquetas, desechables, entre otros.

Utilizando las ecuaciones 2.1 y 2.2 se calcularon el costo variable unitario y el precio de venta de una botella de 1 L de biofertilizante foliar, dando como resultado \$9,57 y \$14,72, respectivamente (tabla 3.6). El precio de venta se encuentra dentro del rango de precios comerciales de los bioestimulantes y demás productos agrícolas foliares y ecológicos, este rango va desde los 9\$ hasta los 20\$ el litro de producto.

Los indicadores de rentabilidad expuestos en la tabla 3.7, presentan que el proyecto es factible en un período de 10 años. Como primer punto, el resultado obtenido de la TIR sugiere que el proyecto otorga beneficios superiores al retorno de la inversión debido que su valor es superior al TMAR. Por otro lado, el PRI es de 5 años, lo que indica que en 5 años de funcionamiento se espera recuperar la inversión que corresponde a \$624.639,00, siempre y cuando se logre un incremento del 30% anual en los ingresos por ventas.

No obstante, se realizaron cambios en el incremento expectativo de las ventas del producto dentro de la plantilla de Excel creada para el flujo de caja. Se determinó que el proyecto no sería rentable si no existiese un incremento anual mínimo del 15% en las ventas de la industria. Se ha considerado que los únicos ingresos para este diseño preliminar provengan de las ventas del producto elaborado.

3.6 Limitaciones de la investigación

La adquisición de la materia prima (algas marinas) fue crucial para la investigación de este proyecto; no obstante, existieron limitaciones en la cantidad

de algas marinas disponibles para realizar el procedimiento experimental. Esto es debido a la logística concerniente con las condiciones de refrigeración para el transporte de las algas marinas hacia el laboratorio y la amplia capacidad de almacenamiento que requieren, lo que dificultaba recolectar cantidades suficientes para experimentar lo suficiente.

A pesar de lograr la extracción hidroalcohólica de las algas marinas, obteniendo altas concentraciones de flavonoides. Sin embargo, no se lograron realizar más análisis respecto a la composición de macro y micronutrientes dado que no había suficiente extracto disponible para realizar más ensayos. Otro factor que limitó el trabajo investigativo fue el tiempo de ejecución y disponibilidad de instrumentos y equipos.

Por otro lado, la maceración es un tipo de extracción que requiere un período de hasta 10 días para ejecutarse. Pero, debido a la imposibilidad de realizar una agitación constante durante el proceso, se extendió el macerado hasta 15 días.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se evaluó que la producción a gran escala de un biofertilizante foliar a base de extractos de algas marinas es viable desde el punto de vista técnico y económico respecto a las condiciones experimentales estudiadas, a los trabajos previos estudiados y las estimaciones utilizadas de los diferentes costos analizados para el cálculo de los indicadores de rentabilidad.

En el estudio se logró cuantificar la concentración de flavonoides con respecto a etanol al 60% gracias al método colorimétrico y la espectrofotometría de UV-visible, obteniéndose valores superiores a los 12000 ppm de contenido total de flavonoides. Esto indica que el extracto de algas marinas de *Acanthophora spicifera* tiene altas concentraciones de flavonoides, haciéndolo factible como un biofertilizante foliar para la disminución del uso de fertilizantes inorgánicos.

Con base en la estimación de costos realizada, se obtuvo un TIR del 37%, el cual es mayor al TMAR fijado del 10% y un VAN de \$2.488.823,03, demostrando así la viabilidad económica del proyecto en 5 años en un flujo de caja proyectado a 10 años. No obstante, la disminución de la tasa de crecimiento de las ventas anuales provoca el aumento del PRI el cual llegó a 7 años; además el VAN se aproximaría a cero, causando que el proyecto no fuese rentable.

Se logró realizar el diagrama PFD de una planta de extracción hidroalcohólica de algas marinas gracias al software Lucidchart. Esto permitió analizar el curso del proceso a seguir, los diferentes equipos que se necesitarían para cada etapa de la producción a gran escala y realizar analogías del procedimiento experimental de maceración con el proceso a gran escala.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar más ensayos de maceración en frío a diferentes condiciones de las estudiadas en este trabajo investigativo, con el fin de optimizar las cantidades de materia prima necesarias para obtener la mayor cantidad de principios activos de las algas marinas.

Se recomienda realizar la estimación de costos y análisis económico utilizando la herramienta propuesta por Pérez *et al.* el cual es un simulador de proceso llamado SuperProDesigner que les permitió hacer una evaluación tecno-económica del diseño conceptual de una planta de biofertilizante líquido.

En el procedimiento experimental, se realizó la maceración sin la agitación correspondiente, por lo que se recomienda que, de existir la disponibilidad, se mantenga la extracción a una constante agitación para obtener mejores resultados, disminuyendo los días de maceración.

Se recomienda utilizar métodos de caracterización adicionales para la cuantificación de macros y micronutrientes que posea el extracto de algas marinas, confiriéndole así una confiabilidad superior de su efectividad como biofertilizante foliar.

BIBLIOGRAFÍA

- Ace Machinery. (2020). Industrial Stainless Steel Wine Fermentation Tank with Cooling Jacket. Obtenido de https://www.ace-chn.com/product/Wine_Fermentation_Tank.html
- Agrimortec. (2021). Sinerplant. Obtenido de <https://agrimortec.com/sinerplant/>
- Aparicio, E. (2017). Técnicas colorimétricas. *Colegio Libre de Estudios Universitarios*. Obtenido de http://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/1703/articulos/Articulo08_Tecnicas_colorimetricas.pdf
- Argüello, A. (2011). *Introducción de la finalidad extrafiscal en el Impuesto al Valor Agregado que grava a la transferencia e importación de agroquímicos, como medida fiscal para la protección del medio ambiente, la salud y la seguridad alimentaria*. Quito.
- Badische Anilin und Soda Fabrik. (2021). Pholus, bioestimulante y fertilizante natural en base a extracto de Quillay. Obtenido de <https://agriculture.basf.com/cl/es/proteccion-de-cultivos-y-semillas/productos/pholus.html>
- Batallas, L. (2016). *Propuesta de aplicación de los modelos simplificados para evaluar y controlar los riesgos por exposición inhalatoria a agentes químicos en operaciones de mezcla y envasado de fertilizantes inorgánicos*. Guayaquil.
- Camargo, J. A., & Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32(6). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.002>
- Carrión, A., & García, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia metódica*. Cuenca.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>
- Castilla, L. (2020). Biofertilización en el cultivo del arroz: alternativa natural para la vida de los suelos. *Revista Arroz*, 2–2. Obtenido de <http://fedearroz.com.co/new/documentos/2020/biofertilizacion.pdf>

- Decreto Ejecutivo 374. (2020). Reglamento para aplicación de la Ley de Régimen Tributario Interno. *Registro Oficial Suplemento 209*, pp. 29–30.
- Delgado, F. (2011). Arroz del Ecuador. Obtenido de Ecuanoicias website: http://ecuanoticias.com.ec/info_tecnica_arroz.pdf
- Díaz, N., Bárcena, J., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., ... Túnez, I. (2010). Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Campus Universitarios de Rabanales*, 1–8. Obtenido de https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
- Ecuaquímica. (2020a). Seaweed Extract. Obtenido de Ecuador website: <http://www.ecuaquimica.com.ec/producto/seaweed-extract/>
- Ecuaquímica. (2020b). Solugro. Obtenido de Ecuaquímica website: <http://www.ecuaquimica.com.ec/producto/sol-u-gro-12-48-8/>
- FDA. (2020). Code of Federal Regulations Title 21. Obtenido de Food & Drug Administration website: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1293&SearchTerm=ethanol>
- Gémina. (2020). *Catálogo de Molino de Martillos*. España. Obtenido de https://www.gemina.es/files/catalogue/pdf/21_Molino_Martillo.pdf
- Guiry, M. (2021). AlgaeBase. Obtenido de World-wide electronic publication website: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=5
- Hancock, A. (1945). *Allan Hancock Pacific Expeditions* (1st ed., Vol. 12). Los Angeles, California: The University of Southern California Press. Obtenido de <https://img.algaebase.org/pdf/AC1F187E1b0e328572IHD87AE1CA/17652.pdf>
- Hoegger, R. (2000). Training Papers: Distillation with a Rotary Evaporator. *Imlab*. Obtenido de <https://www.imlab.eu/sites/default/files/generated/products/files/distillation-rotary-evaporator-imlab.pdf>
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (2014). Arroz. Obtenido de Tecnología INIAP website: <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mcereal/rarroz>

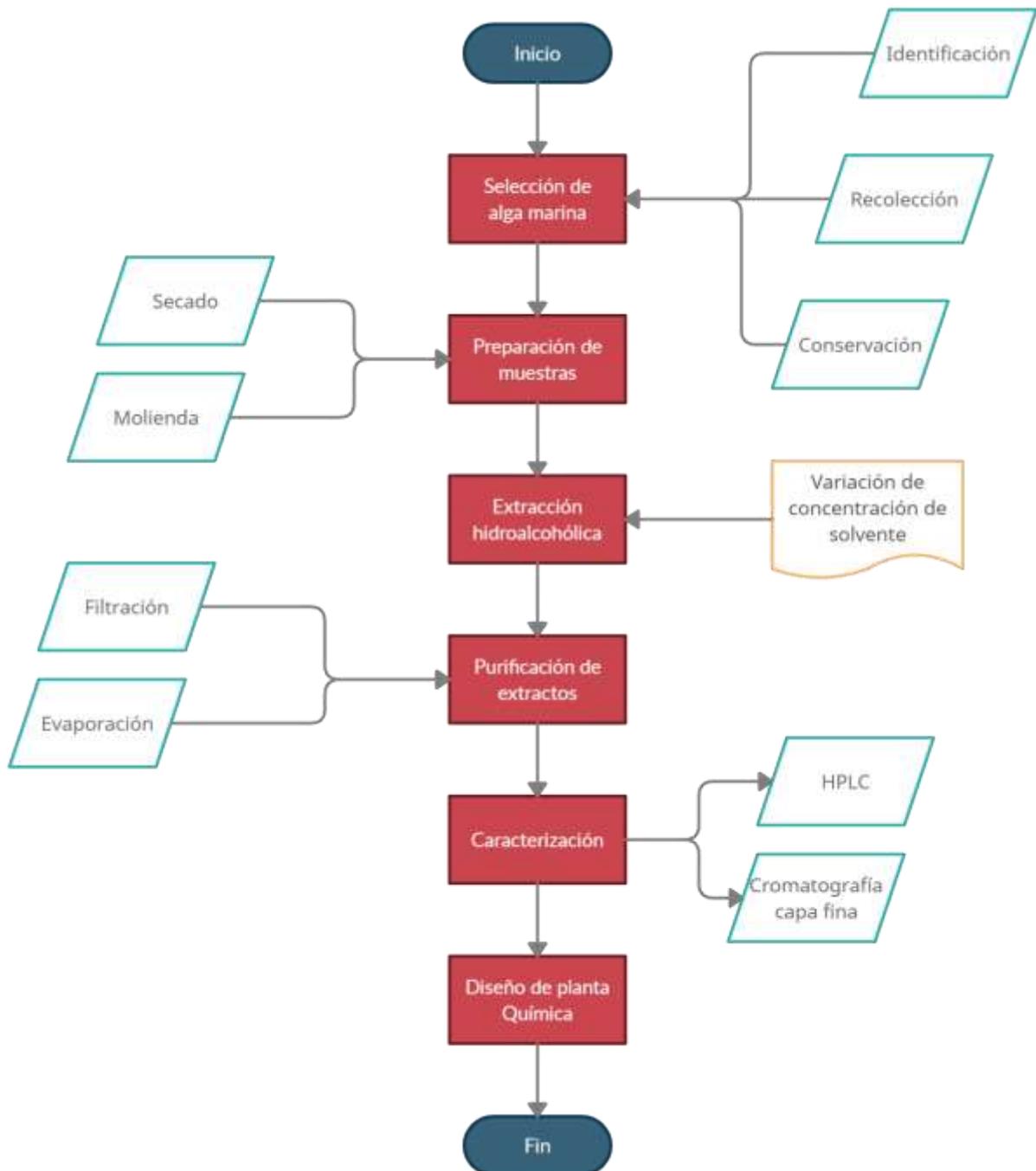
- Ivanova, V., Stefova, M., & Chinnici, F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(1). <https://doi.org/10.2298/JSC1001045I>
- Martínez, S., González-Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271–278. Retrieved from <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
- McCabe, W., Smith, J., & Harriott, P. (2007). *Operaciones unitarias en ingeniería química* (7th ed.). México: McGraw-Hill.
- Merino, J., & Yahuara, L. (2019). *Biofertilización a través del “Bocashi” para la mejora de la producción de culantro (Coriandrium sativum) y rabanito (Raphanus sativus)*. Chiclayo.
- Mete, M. (2014). Valor Actual Neto y Tasa de Retorno: Su utilidad como herramientas para el análisis y evaluación de proyectos de inversión. *Revista de Difusión Cultural y Científica de La Universidad La Salle En Bolivia*, 7(7). Obtenido de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=s2071-081x2014000100006&script=sci_arttext
- Muthuraman, M., Mani, S., Thangaraj, U., & Sivasubramanian, A. (2014). In vitro cytotoxicity and molecular docking studies on *Acanthopora spicifera*. *Der Pharma Chemica*, 6(1), 411–417. Obtenido de <https://www.derpharmachemica.com/pharmachemica/in-vitro-cytotoxicity-and-molecular-docking-studies-on-acanthopora-spicifera.pdf>
- Pacheco, M. (2018). La venta de etanol para elaboración de la gasolina ecopaís se redujo. *El Comercio*. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/venta-etanol-elaboracion-gasolina-ecopais.html#:~:text=Cada%20litro%20de%20etanol%20se,%2C72%20y%200%2C74>.
- Pérez, A., Sing, S., Pérez, E., & Segura, R. (2018). Evaluación técnico-económica y diseño conceptual de una planta de biofertilizantes líquidos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2). <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.77053>

- Peters, M., Timmerhaus, K., & West, R. (2003). *Plant Design and Economics for Chemical Engineers* (5th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Pineda, I. (2019). *Desarrollo y optimización de aperitivos de cáscaras de mandarina y hojas de higo*. Cuenca. Obtenido de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/9201/1/14845.pdf>
- Probelte. (2019). Bulhnova. Obtenido de Probelte website: <https://www.probelte.es/productos/detalle/es/bulhnova/137>
- Saca, J. (2018). *Uso del VAN y TIR como herramientas para determinar la viabilidad económica de un negocio de emprendimiento*. Machala. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/12692/1/ECUACE-2018-AE-CD00360.pdf>
- Salamanca, G. (2020). Efecto de los agroquímicos en salud pública y medio ambiente. *Universidad Militar de Nueva Granada*. Nueva Granada: Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Obtenido de <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/36092/SalamancaCastilloGilmarFabian2020.pdf;jsessionid=103823730F619B456D35167041FF2F91?sequence=1>
- Sapag, N. (2011). *Proyectos de inversión formulación y evaluación* (2nd ed.). Santiago de Chile: Pearson Education.
- Trinidad, A., & Aguilar, D. (1999). Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra*, 17(3), 247–255. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/573/57317309.pdf>
- Vaca, A. (2018). *Biorremediación de agua contaminada con cadmio empleando técnica de biosorción con tres especies de macroalgas*. Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29594/1/TESIS%20VACA%20SANDOYA.pdf>
- Valencia, W. (2011). Indicador de Rentabilidad de Proyectos: el Valor Actual Neto (VAN) o el Valor Económico Agregado (EVA). *Industrial Data*, 14(1), 15–18. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/816/81622582003.pdf>
- Vida Verde Educativa. (2018). *Colecta y preservación de Algas Macroscópicas*. Youtube. Obtenido de <https://www.youtube.com/watch?v=lzm5GPEKxaQ>

- Vilalta, M., & Altarriba, R. (2010). Técnicas Básicas de Experimentación en Química en Formato Digital. *Grupo de Recursos Para La Didáctica de La Química*, pp. 118–119. Cataluña: Escuela Politécnica Superior de Ingeniería de Manresa. Obtenido de https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/6657/tecnicas_basicas_experimentacion.pdf
- Viteri, G., & Zambrano, C. (2016). Comercialización de arroz en Ecuador: Análisis de la evolución de precios en el eslabón productor-consumidor. *Revista Ciencia y Tecnología*, 9(2), 11–17. Obtenido de https://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_V9_N2_2Viteri%20y%20Zambrano.pdf
- Yáñez, R. (2017). *Nuevos biofertilizantes a base de algas marinas*. Lima. Obtenido de <http://190.119.243.88/bitstream/handle/UNALM/2983/F04-Y3-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Zambrano, C., Andrade, M., & Carreño, W. (2019). Factores que inciden en la productividad del cultivo de arroz en la provincia Los Ríos. *Revista Universidad y Sociedad*, 11(5). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202019000500270
- Zugarramurdi, A., Parín, M., & Lupin, H. (1998). Ingeniería económica aplicada a la industria pesquera. *Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación*. Roma. Obtenido de <http://www.fao.org/3/v8490s/v8490s00.htm#Contents>

APÉNDICES

APÉNDICE A. DIAGRAMA DE FLUJO DE METODOLOGÍA IMPLEMENTADA



APÉNDICE B. FOTOS EXPERIMENTACIÓN MACERACIÓN



Figura B.1 Proceso de secado de algas



Figura B.2 Pesaje de algas secas



Figura B.3 Inicio de proceso de extracción



Figura B.4 Filtración al vacío de extractos



Figura B.5 Extractos de algas marinas



Figura B.6 Rotaevaporación de extractos

APÉNDICE C. INFORME DE RESULTADOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA



Dirección: Urb. La Garzota, PB 01, Mz 132, 511
Ciudad: Guayaquil – Guayas
Correo electrónico: lasolex2020@gmail.com
Teléfono: 0996016294

INFORME DE RESULTADOS

Código: LX-INF-2021-112
Solicitante: LX-R-112

IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE

Guerrero Gabriel
0925330680
0983808166

Fecha de emisión: 12 de agosto del 2021

DATOS DE LA MUESTRA

Tipo de muestra:	Extractos
Análisis solicitados:	Flavonoides
Temperatura de recepción:	Refrigeración
Temperatura de conservación:	Refrigeración
Condiciones ambientales al momento del ensayo:	T: 23.7°C; HR: 71%
Fecha de entrega de la matriz:	03/08/2021

ENSAYO DE DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES

1. PRINCIPIO O FUNDAMENTO

El contenido de flavonoides totales se evaluó por método colorimétrico con $AlCl_3$ siguiendo la técnica descrita por Ivanova et al¹. La medición se realizó espectrofotométricamente a una absorbancia de 510 nm y se empleó mangiferina como estándar para la construcción de la curva de calibración.

2. REACTIVOS

- Cloruro de Aluminio ($AlCl_3$)
- $NaNO_2$ 0.5 g/L
- Agua destilada
- NaOH 1M
- Mangiferina

3. EQUIPOS

- Balanza analítica Bektron BK200
- Espectrofotómetro HANNA Iris HI801
- Micropipeta automática MICROLIT

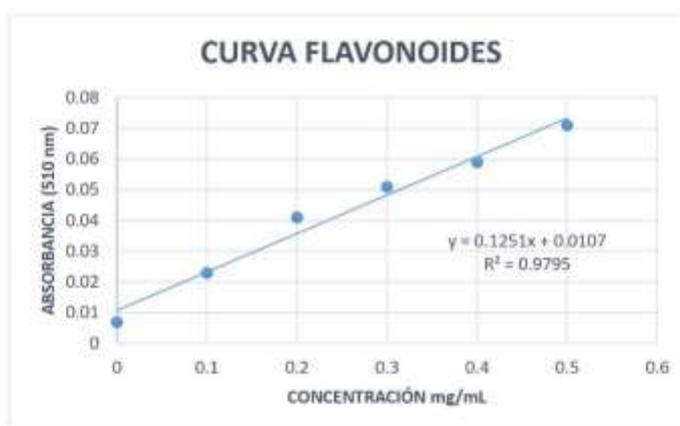
4. PREPARACIÓN DEL ENSAYO

MADRE	PESO (mg)	Volumen (mL)	Concentración (mg/mL)
MANGIFERINA	12.5	25	0.5

¹Ivanova, V., Stefova, M., Chinnici, F. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. J. Serb. Chem. Soc. 2010; 75, 45.

MANGIFERINA (mL)	VOLUMEN H ₂ O (mL)	NaNO ₂ 0.5 g/L (mL)	AlCl ₃ 1 g/L (mL)	NaOH 1M (mL)	H ₂ O (mL)	Volumen final (mL)	ABSORBANCIA (510 nm)
Blanco	5	0.3	0.3	2	2.4	10	0.007
A	4	0.3	0.3	2	2.4	10	0.023
B	3	0.3	0.3	2	2.4	10	0.041
C	2	0.3	0.3	2	2.4	10	0.051
D	1	0.3	0.3	2	2.4	10	0.059
E	0	0.3	0.3	2	2.4	10	0.071

Curva de calibración



5. RESULTADOS DE LAS MUESTRAS Y RÉPLICAS

CÓDIGO DE MUESTRA	ABSORBANCIA (510 nm)	FLAVONOIDES (mg/mL)
BLANCO	0	0
EtOH 1	0.994	7.860
EtOH 1-1	1.024	8.100
EtOH 2	0.460	3.592
EtOH 2-1	0.660	5.190
EtOH 3	0.791	6.237
EtOH 3-1	0.862	6.805
EtOH 4	1.580	12.544
EtOH 4-1	1.625	12.904
EtOH 5	0.116	0.842
EtOH 5-1	0.213	1.617
EtOH 6	1.261	9.994
EtOH 6-1	(*)	(*)

Muestra: 1 mL; NaNO₂: 0.3mL; AlCl₃: 0.3mL; NaOH: 2mL; H₂O: 6.4mL; V. total: 10mL.

(*) El volumen de extracto entregado en esta muestra, no fue suficiente para realizar las dos repeticiones.

ANEXOS: Registros fotográficos

ENSAYO DE DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES





Dirección: Urb. La Garzota, PB 01, Mz 132, S11
Ciudad: Guayaquil – Guayas
Correo electrónico: lasolex2020@gmail.com
Teléfono: 0996016294

INFORME DE RESULTADOS

Código: LX-INF-2021-112
Solicitante: LX-R-112



APÉNDICE D. FLUJO DE CAJA

Flujo de Caja Detalle	Años					
	0	1	2	3	4	5
Ingresos Totales		\$ 217.846,15	\$ 283.200,00	\$ 368.160,00	\$ 478.608,00	\$ 622.190,40
Ventas		\$ 217.846,15	\$ 283.200,00	\$ 368.160,00	\$ 478.608,00	\$ 622.190,40
Incremento Anual	30%					
Costos Operacionales Totales		\$ 207.600,00	\$ 211.848,00	\$ 216.223,44	\$ 220.730,14	\$ 225.372,05
Costos Fijos		\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00
Costos Variables		\$ 141.600,00	\$ 145.848,00	\$ 150.223,44	\$ 154.730,14	\$ 159.372,05
Incremento Anual CV	3%					
Costos Capital Fijo		\$ 624.639,00				
Depreciación de Equipos (20%)	20%		\$ 33.580,00	\$ 33.580,00	\$ 33.580,00	\$ 33.580,00
Flujo Neto		\$-624.639,00	\$ -23.333,85	\$ 37.772,00	\$ 118.356,56	\$ 224.297,86
Flujo Acumulado		\$-624.639,00	\$ -647.972,85	\$ -610.200,85	\$ -491.844,29	\$ -267.546,43
Indicadores						
PRI		5,175544691				
TMAR		10%				
VAN		\$2.488.823,03				
TIR		37%				

Años				
6	7	8	9	10
\$ 808.847,52	\$ 1.051.501,78	\$ 1.366.952,31	\$ 1.777.038,00	\$ 2.310.149,40
\$ 808.847,52	\$ 1.051.501,78	\$ 1.366.952,31	\$ 1.777.038,00	\$ 2.310.149,40
\$ 230.153,21	\$ 235.077,81	\$ 240.150,14	\$ 245.374,64	\$ 250.755,88
\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00	\$ 66.000,00
\$ 164.153,21	\$ 169.077,81	\$ 174.150,14	\$ 179.374,64	\$ 184.755,88
\$ 33.580,00	\$ 33.580,00	\$ 33.580,00	\$ 33.580,00	\$ 33.580,00
\$ 545.114,31	\$ 782.843,97	\$ 1.093.222,17	\$ 1.498.083,36	\$ 2.025.813,52
\$ 640.806,23	\$ 1.423.650,21	\$ 2.516.872,37	\$ 4.014.955,73	\$ 6.040.769,25