

DISEÑO DE PLANTA PILOTO PARA LA PRODUCCIÓN DE INSECTICIDA A PARTIR DEL HONGO *BEAUVERIA BASSIANA*

PILOT PLANT DESIGN FOR THE PRODUCTION OF INSECTICIDE FROM THE *BEAUVERIA BASSIANA* FUNGUS

RODA NUÑEZ, S., MARTÍNEZ SOLARIS F. E..

RESUMEN

Se diseñó una planta piloto para la línea de producción de un insecticida biológico, para el control de plagas agrícolas, el proceso completo de producción de hongos de interés como del insecticida biológico en particular del hongo *Beauveria bassiana*. Se determinaron las operaciones necesarias para la producción del hongo como la purificación, siembra, inoculación, corte secado tamizado y envasado del producto. Se elaboraron los diagramas de: flujo, operaciones, distribución y diseño de planta piloto, tiempos de recorrido y se seleccionó los mejores equipos y materiales. Se realizaron los balances de masa para la parte experimental y la planta piloto. Se diseñó de una eficiente planta piloto dirigida a línea de producción de un insecticida biológico a partir del hongo *Beauveria bassiana*. que brindará beneficios como: Reducción en la contaminación del suelo, agua y de las mismas plantas que en futuro contribuyen al desarrollo natural del ecosistema.

PALABRAS CLAVE

Insecticida biológico, Hongo *Beauveria bassiana*, Planta piloto.

ABSTRACT

A pilot plant was designed for the production line of a biological insecticide, for the control of agricultural pests, it was developed from the complete process of production of fungi of interest such as the biological insecticide in particular of the fungus *Beauveria bassiana*. The necessary operations for the production of the fungus were determined, such as purification, sowing, inoculation, cutting, drying, sifting and packaging of the product. Diagrams of: flow, operations, distribution and design of pilot plant, travel times and the best equipment and materials were selected. Mass balances were made for the experimental part and the pilot plant. An efficient pilot plant was designed for the production line of a biological insecticide from the fungus *Beauveria bassiana*. that will provide benefits such as: Reduction in contamination of the soil, water and the same plants that in the future contribute to the natural development of the ecosystem.

KEYWORDS

Biological insecticide, *Beauveria bassiana* fungus, Pilot plant.

INTRODUCCIÓN



Figura 1 *Beauveria bassiana* causa muscardina blanca en diversos insectos

En las últimas décadas, el uso excesivo de plaguicidas ha impactado de manera negativa al medio ambiente, contribuyendo de igual manera al desarrollo de resistencia de plagas y enfermedades, así como a la eliminación de enemigos naturales.

Actualmente la agricultura hace hincapié en el uso de productos más amigables con el ambiente y la salud humana. En ese sentido, los hongos entomopatógenos constituyen una herramienta importante para el manejo integrado de plagas como agentes controladores de poblaciones de artrópodos. Los géneros más importantes son: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

La especie más utilizada comercialmente como biopesticidas es el hongo *Beauveria bassiana* por su amplio rango de hospederos, adaptación a diferentes zonas geográficas y fácil aplicación para el control de plagas de insectos de diferentes cultivos.

Se tienen reportes que, entre los años 1888 y 1896, en el estado de Kansas, EE.UU., se experimentaba de manera efectiva con el hongo *Beauveria bassiana* con el objeto de producirla para el control de chinches *Blissus leucopterus*,

En el presente siglo los primeros trabajos sobre el hongo *Beauveria bassiana* usado contra insectos plaga datan de 1931, donde se trató de combatir al insecto *Tyrauster nubilialia*.

El control biológico ha adquirido más relevancia por la conciencia biológica. Actualmente existen más de 2500 especies de gérmenes entomopatógenos de los cuales menos del 10 % son reproducidos masivamente y menos del 1 % se comercializan.

Se ha comprobado que el hongo *Beauveria bassiana* penetra a la cutícula del insecto objetivo por medio de quitinasas, lipasas y proteasas.

Otras de las características de los hongos entomopatógenos, es que pueden ser capaces de iniciar epizootias a densidades altas y bajas del huésped. Esto ha sido demostrado en el caso específico de *Beauveria ssp* y *Entomophoraceos*.

La *Beauveria bassiana* es un hongo imperfecto de clase *Deutoromycetes* capaz de infectar a más de 200 especies de insectos, es de apariencia polvosa de color blanco algodonoso y amarillo cremoso.

El ciclo de vida del hongo presenta un alto grado de adaptabilidad para vivir en condiciones saprófitas y parasíticas. Esta condición le permite vivir libremente en el suelo y mantenerse en ausencia de los huéspedes por largo tiempo.

Como organismo de vida libre y en presencia de materia orgánica, los conidios generan una red micelar filamentososa. No obstante, una vez colonizado el huésped, los conidios germinan formando una red de hifas, destruyendo el huésped y formando las blastósporas.

El ciclo de vida del hongo *Beauveria bassiana* sobre el huésped se efectúa de la siguiente manera:

Adhesión: es el primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto y sucede cuando las esporas o conidios son depositados en la superficie del insecto.

Germinación: el conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador llamado apresorio, que le permite fijarse a la superficie del insecto para una germinación adecuada se requiere una humedad relativa del 92% y una temperatura de 23 a 25 °C.

Penetración: después de la fijación mediante mecanismos físicos y químicos el hongo ingresa al insecto por las partes blandas.

Producción de toxinas: una vez dentro del insecto el hongo ramifica su estructura y coloniza las cavidades de hospedante, produciendo las toxinas llamadas *beauvericina*, *beauverolides*, *bassianolide*, *isarolides*, ácidos oxálicos y pigmentos: *tenellina* y *bassianina* que demuestran actividad insecticida. El propósito de estas toxinas es evitar el ataque a las estructuras invasivas del hongo.

Muerte del insecto: muerte del patógeno y marca fin de la fase parasítica dando así inicio a la fase saprofitica.

Multiplicación y crecimiento: después de la muerte del insecto, el hongo multiplica sus propiedades infectivas, hifas, y de esta manera simultáneamente crecen, terminando por invadir todos los tejidos del insecto, haciéndose resistentes a la descomposición, gracias a los antibióticos segregados por el hongo después de completar la invasión. El desarrollo posterior del hongo en el insecto va a depender de la humedad relativa y en caso de no contar con las condiciones idóneas el insecto permanece con apariencia blanquecina como contenedor del mismo hongo.

DESARROLLO

El proceso de purificación del hongo *Beauveria bassiana* se inicia con la recepción de la materia prima. El hongo se encuentra en lugares de clima húmedo ya sea en suelo o insectos como sustrato.

Se realizó un cultivo semiselectivo donde se aísla el hongo entomatógeno en una caja Petri para, posteriormente, evitar el crecimiento de hongos no entomopatógenos gracias al uso de antibióticos. Es semiselectivo porque no se elimina por completo la producción de agentes externos como bacterias.

Para empezar a hacer la selección del hongo ya aislado lo más puro posible en las cajas Petri se realiza las siguientes pruebas de selección.

La prueba máxima es una prueba de selección y aislamiento del hongo. El hongo aislado en las cajas de Petri se purificó con la Prueba Máxima, que consiste en dos pruebas, la primera se puso en contacto al insecto con el hongo en la misma caja de Petri. En la segunda se removió o cosechó el hongo que ha crecido en la caja Petri para después hacer aplicaciones tópicas sobre el insecto.

El resultado de cualquiera de las dos pruebas máximas descarta a los hongos que no tiene un porcentaje mínimo de infección en los insectos, ya que, si en laboratorio el hongo no es capaz de infectar a un 90 % de los insectos aún menos lo harán en campo. Con el fin de disminuir la densidad de esporas en el proceso de purificación se utiliza el método de disolución para tener un mejor control de este.

Es importante mencionar que la disolución se realizó hasta el punto en el que se ven esporas del hongo totalmente puras y sin contaminantes, no se llega hasta la disolución 1×10^{-5} necesariamente. Si las esporas del hongo se encuentran totalmente puras se detiene la disolución. Se toma en cuenta que la densidad no sea mucha en la cámara de Neubauer.

Las concentraciones de 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} son la cantidad en gramos del hongo *Beauveria bassiana* disueltas en agua destilada, es decir 1×10^{-1} equivaldría a 0,1 g del hongo *Beauveria bassiana* en 9 ml de agua destilada y 1×10^{-2} a 0,01 gramos del hongo *Beauveria bassiana* en agua destilada y así sucesivamente hasta obtener esporas del hongo puro.

La Cámara de Neubauer es necesaria para el proceso de purificación del hongo. Es el instrumento utilizado para medir la concentración de esporas del hongo y llevar un control de éste, el cual es necesario para el proceso de purificación del hongo, que también ayuda a llevar el control de pureza de las mismas esporas y así poder pasar al proceso de siembra en las matrices.

Se produjo una matriz compuesta de arroz húmedo y esterilizado durante 20 minutos en autoclaves de esterilizado a 121 °C y 1,02 atm de presión. El método de siembra fue el de Potato Dextrose Agar, PDA, siendo éste un proceso lento.

El hongo ya purificado se sembró en la matriz dentro de una botella de un litro, con el arroz ya esterilizado, multiplicándose el hongo durante un tiempo aproximado de una semana y pasar al siguiente proceso de inoculación.

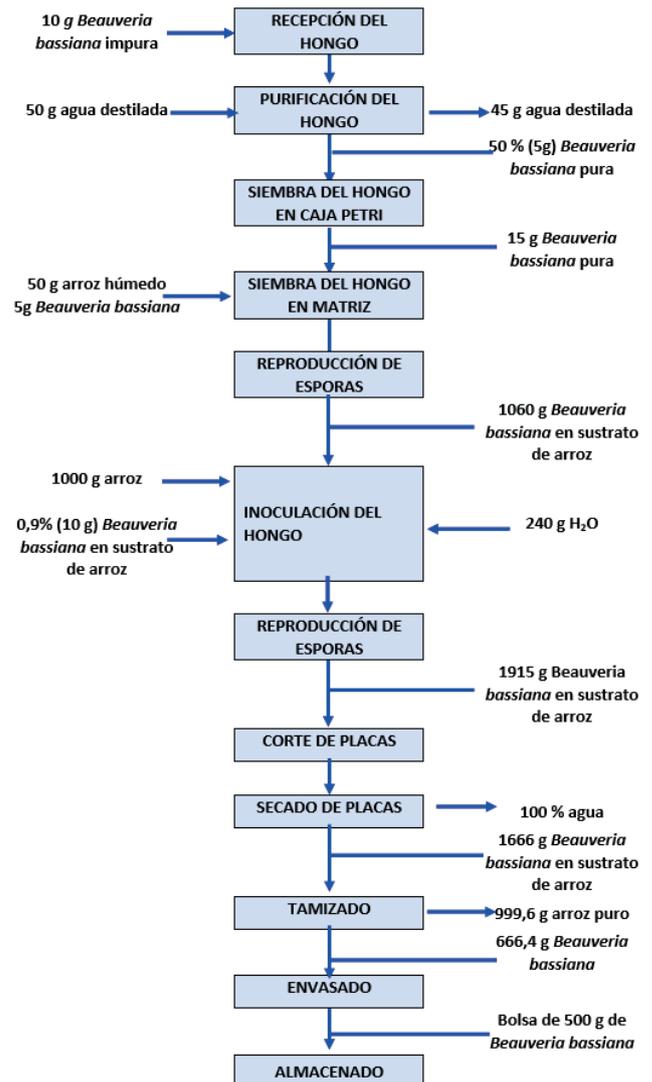


Figura 2. Balance de masa experimental para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*

Se recolectó del medio ambiente 10 gramos del hongo *Beauveria bassiana* que se encuentra de manera impura. Se utilizaron 50 gramos de agua destilada como mecanismo de dilución para obtener el hongo en estado puro. Se obtuvieron 45 g de agua destilada y 5 g del hongo puro, es decir una eficacia del 50 % del hongo puro. En una caja de Petri se hizo crecer al hongo de 5 a 15 g. En una botella de uno y medio litros se agregaron 50 g de arroz esterilizado y 5 g del hongo puro. Después de su reproducción se obtuvieron 1060 g del hongo en el sustrato de arroz.

La Inoculación del hongo *Beauveria bassiana* se realizó en bolsas con 1000 gramos de arroz. Se usó solo el 0,9 % del hongo, 10 g, debido a que no es un proceso a nivel planta piloto, y 250 g de H₂O. Después de la reproducción de esporas se obtuvieron 1915 g del hongo en sustrato de arroz. Se realizaron cortes en la placa de arroz con el hongo. En el proceso secado de placas se extrajo el 100 % del H₂O de las placas. En el proceso de tamizado entraron 1666 g del hongo *Beauveria bassiana* en sustrato de arroz seco se obtuvieron 999,6 g de arroz puro y 666,4 g del hongo *Beauveria bassiana* puro. Se envasó en bolsas de 500 y 100 g.

La figura 3 muestra el diagrama de flujo experimental para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*



Figura 3. Diagrama de flujo experimental para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*

La figura 4. Indica los tiempos de operaciones experimentales para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*.

Número	Descripción de Movimientos Mano Izquierda	Tiempo, s	Simbología de la Operación			
			●	→	◐	▼
1	Siembra del hongo en matriz	600	●			
2	Reproducción de esporas en matriz	86400				●
3	Transporte al área de esterilización	15		→		
4	Esterilización del arroz	7200			◐	
5	Transporte al área de inoculación	15		→		
6	Inoculación	28800	●			
7	Transporte al área de incubación y corte	15		→		
8	Reproducción de esporas	21600				●
9	Corte de placas	7200	●			
10	Transporte al área de secado	15		→		
11	Secado	21540				●
12	Tamizado	172800	●			
13	Envasado	3600	●			
14	Almacenado	1800				▼

Figura 4. Tiempos de operaciones experimentales para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*

La figura 5. Enseña los tiempos de la producción del hongo *Beauveria bassiana*.

Simbología	Actividades	Tiempo			
		Segundo	Minutos	Horas	Días
● Operación	6	220200	3670	61	2,55
→ Transporte	4	60	1	0	0,00
◐ Espera	3	129540	2159	36	1,50
▼ Almacenaje	1	1800	30	1	0,02
Total	14	351600	5860	98	4,07

Figura 5. Tiempo de la producción del hongo *Beauveria bassiana*

En la figura 6. Se puede ver el diagrama de operaciones a nivel planta piloto para la producción de del hongo *Beauveria bassiana*.

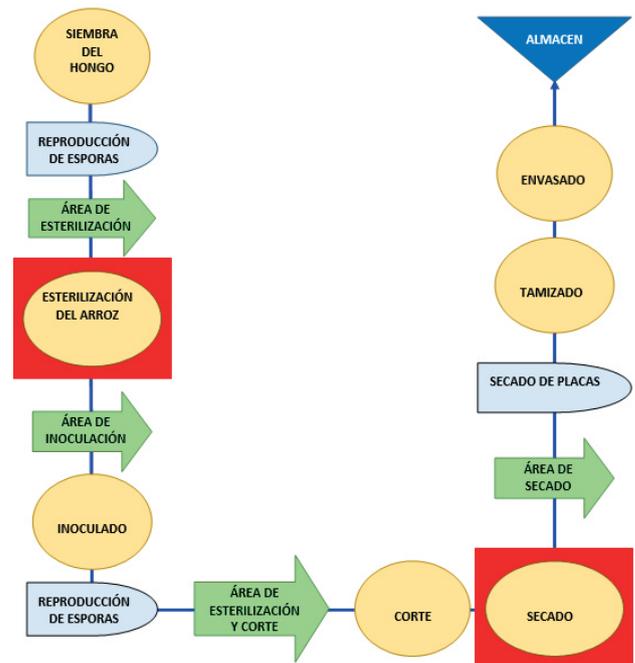


Figura 6. Diagrama de operaciones a nivel planta piloto para la producción de del hongo *Beauveria bassiana*

La figura 7. Muestra el balance de masa a nivel planta piloto para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*.

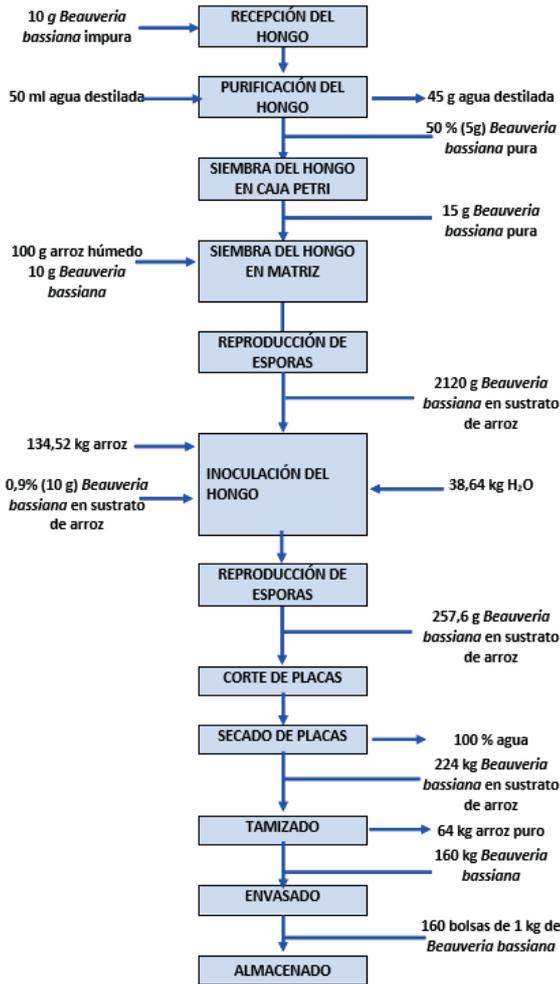


Figura 7. Balance de masa a nivel planta piloto para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*

La inoculación del hongo es el punto crítico de la producción, en el cual se depositó una determinada cantidad de esporas dentro del sustrato de 300 g de arroz, húmedo ya esterilizado en bolsas de polipapel, para poder masificar su producción. Una vez que hongo fue inoculado en las bolsas de polipapel y se comprobó que no hubo ningún tipo de contaminación por parte de bacterias o cualquier sustancia ajena al hongo *Beauveria bassiana* y al arroz, comenzó la incubación de este, donde ya las esporas comienzan a multiplicarse en un tiempo aproximado de 2 semanas.

Se realizaron cortes sobre la superficie del molde para acelerar el proceso de secado, además de facilitar su entrada a la tolva de tamizado.

En el proceso de secado se eliminó toda la humedad del arroz impregnado del hongo, manteniéndolo en un cuarto de secado donde se extrajo la humedad del ambiente y que es regulado a 30 g/cm³ acelerando el proceso de secado.

En el proceso de tamizado el objetivo principal fue separar el arroz del hongo *Beauveria bassiana* para ya poder envasar y almacenar el producto final, manteniendo la pureza de este, gracias a la máquina tamizadora, que con movimientos repetitivos separó el arroz del polvo del hongo *Beauveria bassiana*, gracias a una red de tamiz interna que atrapó el mismo. Este es un proceso demorado y actual cuello de botella en la producción del hongo *Beauveria bassiana*.

El envasado fue realizado en bolsas de polipapel, material que puede conservar el hongo en condiciones óptimas de temperatura hasta por 1 año, con su respectiva ficha técnica. La capacidad de la bolsa puede ser de 50, 100, 200, 500 y 1000 g. Para almacenar el hongo sin causar alteraciones en la efectividad se mantiene la temperatura entre 1 y 5 grados centígrados.

En el layout de la figura 8 se muestra el diseño y distribución de la planta piloto y en la figura 9 se revelan los tiempos de recorrido para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*.

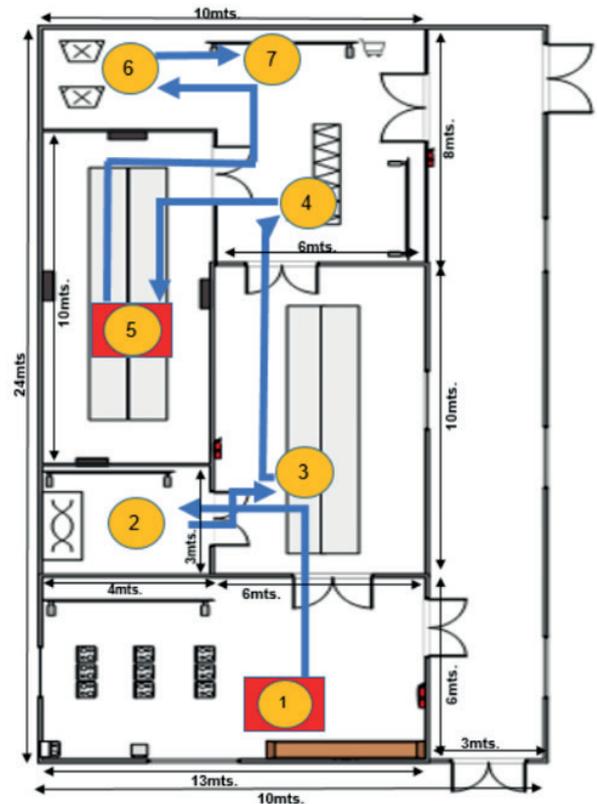


Figura 8. Distribución y diseño interno de la planta piloto para la producción del hongo *Beauveria bassiana*

SIMBOLOGÍA	TIEMPO, min	
1	ESTERILIZACIÓN	30
2	INOCULACIÓN	30
3	INCUBACIÓN	120
4	CORTE	40
5	SECADO	600
6	TAMIZADO	72
7	ENVAZADO	24
TOTAL, Minutos		916
TOTAL, Horas		15
TOTAL, Días		1

Figura 9. Tiempos de recorrido para la obtención del hongo *Beauveria bassiana*

DISCUSIÓN

Los equipos seleccionados para la planta piloto fueron:

Campanas de flujo laminar vertical Dobles de velocidad estable de entre 0.3 a 0.4 m/s, filtro HEPA y la lámpara UV para obtener un área completamente estéril.

Autoclave Modelo MC18-HDD de 100 litros de capacidad.

Cocina industrial de 9 hornillas.

Tamizadora de capacidad de 80 Kg/h, Potencia de 20 KW

La máquina de corte de placas KUJ V de KRONEN

Humidificador CD30 de KRONEN 48 KW de Potencia y flujo de aire de 0.08 m³/s.

La caracterización de clase *Deutoromycetes* del hongo, el proceso de desarrollo de contagio y sus características técnicas de la materia prima con respecto a la concentración, porcentaje de germinación y porcentaje de pureza. En la purificación del hongo *Beauveria bassiana* para la línea de producción de insecticida se identificó la necesidad de contar con esporas totalmente puras para detener la disolución, esto considerando un proceso de disolución en probetas de agua destilada.

Se realizó el diseño de una planta piloto para la línea de producción de un insecticida biológico a partir del hongo *Beauveria bassiana* con un diagrama de operación a nivel de planta piloto, partiendo de la siembra del hongo hasta su depósito en almacén, considerando su respectivo balance de masa en cada bloque.

REFERENCIAS

- BIRTLH. (2015). PP05.- Documentación empleada en programación de la producción. Obtenido de https://ikastaroak.ulhi.net/edu/es/PPFM/PP/PP05/es_PPFM_PP05_Contenido_s/website_211_diagrama_de_operaciones.html
- DIALNEC. (2001). Obtenido de Bases para la utilización del insecticida benzoato de emamectina en cultivos bajo sistemas de manejo integrado de plagas: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=139502>
- EL DEBER. (2021). DINERO. Obtenido de https://eldeber.com.bo/dinero/en-dinerobuen-momento-para-invertir-en-el-agro_33661
- EVALUACION DEL INSECTICIDA. (2012). En I. A. Bonetti, Producción de Cultivos Extensivos (pág. 11). Giraldo, V. (2004). La relación entre la ingeniería y la ciencia. Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia, 20.
- LABOMERSO. (2020). CABINAS DE FLUJO LAMINAR. Obtenido de <https://labomersa.com/2021/02/03/cabinas-de-flujo-laminar-para-que-sirven/>
- laboratorio.info. (2019). instrumentos. Obtenido de <https://www.instrumentodelaboratorio.info/mechero-bunsen/89-90>
- López, B. S. (2021). ingeniería industrial online.
- LURCIA, M. (2013). LAYOUT O DISTRIBUCIÓN DE PLANTA POR PROCESOS. Obtenido de <http://manuelurcia.blogspot.com/2013/02/layout-o-distribucion-deplanta-por.html>
- CASTRO LÓPEZ. (2019). Contabilidad de Beauveria bassiana Y Metarhizium anisopliae .
- UPL COLOMBIA. (2016). Insecticida- acaricida agrícola. Obtenido de http://www.ghcia.com.co/plm/source/productos/3141_72_315.htm
- VECOL. (2019). Agrícola y fertilizantes. Obtenido de <https://vecol.com.co/producto/thiamethoxam/>
- Vera., L. M. (2010).

CITA

