

06-021

A BIOREACTOR DESIGN AND CONSTRUCTION FOR PROPAGATION OF BEAUVERIA BASSIANA AND METARHIZIUM ANISOPLIAE, IN RICE GRAINS.

Hidalgo Reyes, Martin⁽¹⁾; Morales Vidal, Joaquín⁽¹⁾; Grande Martínez, Gaudencio⁽¹⁾; Vega Sanatiago, Rodrigo⁽¹⁾

⁽¹⁾UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

Agriculture has the purpose of supplying food for the human being; However, there are pests and diseases that directly or indirectly damage crops. Therefore, the control of these organisms is indispensable. The use of entomopathogenic fungi, in bioinsecticides, is a biological control mechanism of great importance in agriculture. In this sense, a bioreactor design was proposed for the propagation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, using rice grains as a solid culture medium. The design methodology was based on different design process models, the objectives of each function-component of the bioreactor from dimensioning to energy demand (calories) were met, considering: feeding system, mixing system, steam boiler, heater and structure. The process involved conceptual design, detail design and construction of a prototype. In manufacturing, AISI 304 steel was used to ensure the innocuousness of the prototype. At the end, the hermeticity of the prototype, the rotation functionality of the mixing system and the control of the variables involved were validated. The next phase of the project will be to test and evaluate the prototype to guarantee the production of these entomopathogenic fungi.

Keywords: *Substrate; Ribbon blender; energy; steam boiler*

DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN BIORREACTOR PARA PROPAGACIÓN DE BEAUVERIA BASSIANA Y METARHIZIUM ANISOPLIAE, EN GRANOS DE ARROZ.

La agricultura tiene como propósito abastecer los alimentos para el ser humano; sin embargo, existen plagas y enfermedades que dañan de manera directa o indirecta a los cultivos. Por ello, el control de estos organismos es indispensable. El uso de hongos entomopatógenos, en bioinsecticidas, es un mecanismo de control biológico de gran importancia en la agricultura. En este sentido, se planteó el diseño de un biorreactor para la propagación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, utilizando un medio de cultivo sólido (granos de arroz). La metodología se basó en diferentes modelos de proceso de diseño, se cumplió con los objetivos de cada función-componente del biorreactor desde el dimensionamiento hasta la demanda de energía (calorías), considerando: sistema de alimentación, sistema de mezclado, caldera de vapor, calentador y estructura. El proceso involucró diseño conceptual, diseño de detalle y construcción de un prototipo. En la fabricación se utilizó acero AISI 304 para asegurar la inocuidad del prototipo. Al final se validó la hermeticidad del prototipo, la funcionalidad de rotación del sistema de mezclado y el control de las variables involucradas. La siguiente fase del proyecto será realizar la prueba y evaluación del prototipo para garantizar la producción de estos hongos entomopatógenos.

Palabras clave: *Sustrato; mezclador Ribbon blender; energía; caldera de vapor*

Correspondencia: Martin Hidalgo Reyes; hogladi@hotmail.com



©2018 by the authors. Licensee AEIPRO, Spain. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

En México, la producción de bioinsecticidas se ha desarrollado de manera continua desde los años 50 (Tamez Guerra et al., 2001). La ventaja de utilizar hongos entomopatógenos dentro del control biológico es su alto espectro de hospedantes; dentro de esta clasificación están los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Con su utilización, toma importancia el método de propagación. De manera tradicional, su producción se basa en pequeñas dosis (Ramírez et al., 2014), que ligeramente supera un kilogramo. Por ello, la importancia de diseñar un biorreactor para producir en cantidades superiores. Esta clase de máquinas son utilizadas en medianas y grandes empresas dedicadas a la producción de bioinsecticidas (Ruíz-Leza et al., 2007). El problema fundamental es garantizar la esterilización uniforme del sustrato en el contenedor, calculando la demanda energética de la caldera para producir vapor de agua a 120°C, de tal forma que se garantice la propagación del hongo en el biorreactor de manera homogénea con la utilización de un mezclador óptimo. Para el mezclado óptimo diferentes autores han hecho estudios de los sistemas de mezclado en biorreactores con medios de propagación líquidos (Mitchell et al., 2006). Por ello, la aplicación de otros tipos de mezcladores a medios sólidos en biorreactores pueden ser motivos para un nuevo estudio. Así, con los métodos de diseño (Norton et al., 2013) se ha adaptado un nuevo sistema de mezclado llamado Ribbon blender, el cual se ha probado su utilización en la empresa química, así como productos granulados y polvos tanto en alimentos para animales como para el hombre; sin embargo esto no quita el hecho de que pueda ser utilizado en medios húmedos (Banaszek, 2001).

Los resultados obtenidos de los cálculos son utilizados en el diseño del sistema de mezclado, como en los recubrimientos y aislantes de la caldera de vapor. El diseño del biorreactor se basa en una metodología de diseño de modelos ya establecidos, así como los procedimientos que utilizan. El diseño de detalle se desarrolla utilizando un software CAD, SolidWorks 2015, también se realizó un análisis estático por elementos finitos de la estructura con el toolbox integrado en el software.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Diseñar un biorreactor de sólidos para cultivar *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en arroz.

2.2. Objetivos específicos

Aplicar la metodología del proceso de diseño para los subsistemas requeridos en el cultivo de hongos entomopatógenos.

3. Metodología

El proceso de diseño se conforma en varias etapas de los cuales se tomaron ideas de autores como Norton et al. (2013), Krick (2010) y Cross (2012), así mismo se siguió la metodología para los cálculos por Paul et al. (2004), manual de calderas SELME (Cleaver Brooks, 1976) y por Severns et al. (2007). Para realizar el cálculo de transferencia de calor se utilizó lo establecido por Cengel (2007).

El proceso de diseño se describe de la siguiente forma: Determinación de las especificaciones requeridas para el prototipo. Elaboración del diseño conceptual para el prototipo; Realización de la ingeniería de detalle basándose de varios autores y empleando herramientas CAD. Construcción del prototipo.

4. Resultados

4.1. Identificación de la necesidad

En la actualidad, existen una gran variedad de plagas que afectan los cultivos a cielo abierto, pero hay plagas que pueden controlarse a través medios biológicos, un método de control es por medio de hongos entomopatógenos, de ahí la necesidad de propagar su población de forma eficaz en un medio óptimo. Los hongos *Beuveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* pueden ser propagados, para ello se utilizan métodos de cultivos de hongos y esto lleva a utilizar alimento para la propagación de su población, según fuentes anteriormente investigadas, estos microorganismos se alimentan de arroz, el cuál debe estar esterilizado y por ello, se requiere una máquina que pueda cultivar dichos hongos.

4.2. Análisis del problema

Existen varios diseños de biorreactores de sólidos, la mayoría de ellos tienen costos muy elevados y con una geometría vertical, algunos no cuentan con la función de un mezclador que garantice la esterilización del medio de cultivo de forma eficaz. Para ello, se requiere diseñar un biorreactor de sólidos que maneje las condiciones óptimas (24-28°C) en las que se desarrollan los hongos entomopatógenos. El arroz se debe esterilizar a una temperatura de 120 °C, con una humedad del 5% y a una presión de 1 atm por aproximadamente 1 hora. Enseguida se inyectará una población de hongos por una de las tuberías del prototipo. Durante 7 días, el prototipo deberá estar funcionando de manera continua y deberá mantener la temperatura entre 24-28°C para la sobrevivencia de estos, se deberá controlar la humedad y la presión, activar el mezclador en un cierto lapso de tiempo para asegurar la homogeneidad y el aumento de la población de los microorganismos.

4.3. Especificaciones del prototipo

El prototipo tiene una capacidad de 60 kilogramos de arroz, adicionalmente soporta la población de hongos, proporciona facilidad de control de los parámetros requeridos, y los sensores tienen gran exactitud, repetitividad, resolución y con margen de error mínimo. El biorreactor de sólidos se trabajará en un ambiente muy corrosivo a causa de la humedad y aire caliente, esto lleva a tener cambios de temperatura y por lo mismo debe soportar los cambios para que no afecte la población de hongos que se cultivarán. Se ocupará el acero inoxidable AISI 304 como material para la construcción de las piezas del biorreactor.

El prototipo tiene una fiabilidad de al menos 90%, por ello se debe buscar un sensor de humedad que tenga rangos de temperatura amplio y pueda tomar muchas lecturas en un segundo, así mismo para la temperatura dentro de la tolva donde se esterilizará el arroz y sucesivamente el cultivo de los hongos. La forma de la máquina será según realice un mezclado con alta eficiencia de homogeneidad, el biorreactor se pretende que sea una máquina estacionaria, ya que tendrá un peso considerable. El color de la máquina se dejará según la apariencia del acero AISI 304 con acabado espejo en las partes visibles y la parte interior donde se realizará el mezclado. Las piezas serán de geometría sencilla para la facilidad de fabricación.

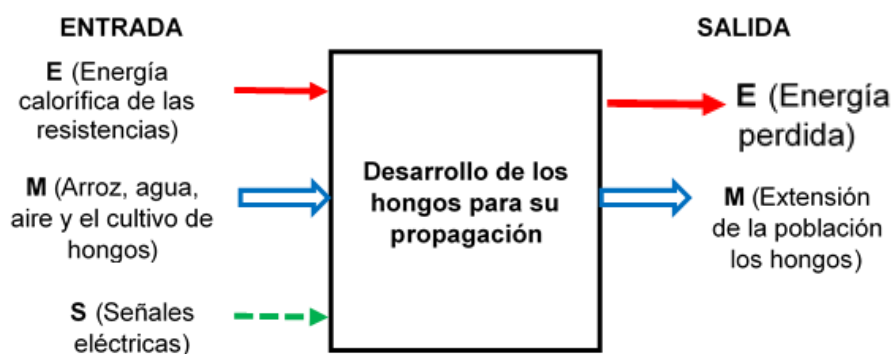
4.4. Diseño conceptual

4.4.1. Función global del biorreactor de sólidos

La función global del biorreactor consiste en entradas, la función global y las salidas mostradas en la Figura 1. Las entradas se distribuyen en: energía (E) lo conforman la

energía calorífica de las resistencias, material (M) lo conforman el arroz, agua, aire y el cultivo de hongos, las señales (S) que recibirán la máquina serán eléctricas que se encargarán de activar todo el control que se encuentra en el gabinete. La función global será el desarrollo de los hongos para su propagación. La salida será conformada por el resultado de la extensión de la población de los hongos.

Figura 2 Diagrama de la función global del biorreactor de sólidos.



4.4.2. Subfunciones del biorreactor de sólidos

El proceso que lleva a cabo el biorreactor de sólidos se divide en dos etapas: la esterilización del arroz y el cultivo de los hongos. El biorreactor de sólidos se divide en subfunciones, conformada en entradas, el proceso que realiza el biorreactor de sólidos y las salidas.

Cabe resaltar que los parámetros de humedad y temperatura deben ser monitoreados por sensores para obtener datos con errores casi nulas y estas señales los reciba un controlador (PLC) y accione la operación según la etapa del proceso. El gabinete de control está conectado a cada sensor que se utiliza en el biorreactor de sólidos según los datos que éste reciba de los sensores realizará lo más adecuado, aumentar la intensidad de las resistencias o disminuirla, así como al motor para el control de las revoluciones para la esterilización del arroz y durante el cultivo de los hongos ya que, en esta última etapa, el mezclador solo se accionará por tiempos intermitentes.

4.4.3. Alternativas de solución

Las alternativas de solución planteadas se muestran en la tabla (Tabla 1) para las partes principales del biorreactor de sólidos, los cuales se compararon y evaluaron según los criterios que necesita el cultivo de hongos.

Tabla 1. Alternativas de solución para los sistemas y las subfunciones.

Sistema / Subfunción	Alternativa 1	Alternativa 2	Alternativa 3
Sistema de mezclado	La tolva tiene una forma vertical, en sus extremos inferior y superior de forma cónica. El mecanismo de mezclado se compone de un eje central, barras cilíndricas como soportes horizontales soldados al eje central y en los extremos de los soportes, cintas soldadas.	El sistema de mezclado tiene una tolva en forma de “U” comúnmente conocido como canal-U. El mezclador será un ribbon blender conformado de cuatro cintas helicoidales, dos de ellos tendrán un diámetro menor y los otros dos de un diámetro mayor, tendrán barras cilíndricas para el soporte de las cintas.	La forma de la tolva es un canal con forma de “V”. El sistema de mezclado es de cuchilla en Z constituido por una cinta.
Temperatura	Resistencias calefactoras para la evaporación del agua y el calentamiento del aire y para la toma de datos de la temperatura se usarán termopares	Implementación de resistencias calefactoras para la evaporación del agua y el calentamiento del aire. La toma de datos de la temperatura se utilizarán termopares	Uso de resistencias calefactoras para la evaporación del agua y el calentamiento del aire. La toma de datos de la temperatura se realizará por medio de termopares
Humedad	Medición de la humedad por medio del sensor “Hydro-Probe Orbiter”	Medición de la humedad en la tolva por medio del sensor “Hydro-Mix-HT”	Medición de la humedad en la tolva con el sensor por microondas “Hydro-Mix”
Transmisión	Cuenta con motor eléctrico y se transmite la fuerza y movimiento mediante reductor de poleas hacia el eje principal	La transmisión lo otorga un motor eléctrico que cuenta con un motorreductor para la reducción de las revoluciones y transmite la fuerza y el movimiento al eje principal.	La transmisión lo otorga un motor eléctrico y se transmite la fuerza y el movimiento mediante reductor de cadenas hacia el eje principal.
Monitoreo	Control y monitoreo del proceso mediante Arduino	Monitoreo y control del proceso mediante Raspberry Pi	Monitoreo y control del proceso mediante PLC y componentes del gabinete de control
Alimentación energética del biorreactor	Eléctrica	Eléctrica	Eléctrica

Sistema / Subfunción Alternativa 1 Alternativa 2 Alternativa 3

Sistema de mezclado La tolva tiene una forma vertical, en sus extremos inferior y superior de forma cónica (Figura 3). El mecanismo de mezclado se compone de un eje central, barras cilíndricas como soportes horizontales soldados al eje central y en los extremos de los soportes, cintas soldadas. El sistema de mezclado tiene una tolva en forma de “U” comúnmente conocido como canal-U. El mezclador será un ribbon blender conformado de cuatro cintas helicoidales, dos de ellos tendrán un diámetro menor y los otros dos de un diámetro mayor, tendrán barras cilíndricas para el soporte de las cintas (Figura 4).

La forma de la tolva es un canal con forma de “V” como se muestra en la Figura 5. El sistema de mezclado es de cuchilla en Z constituido por una cinta.

Temperatura Resistencias calefactoras para la evaporación del agua y el calentamiento del aire y para la toma de datos de la temperatura se usarán termopares Implementación de resistencias calefactoras para la evaporación del agua y el calentamiento del aire. La toma de datos de la temperatura se utilizarán termopares. Uso de resistencias calefactoras para la

evaporación del agua y el calentamiento del aire. La toma de datos de la temperatura se realizará por medio de termopares

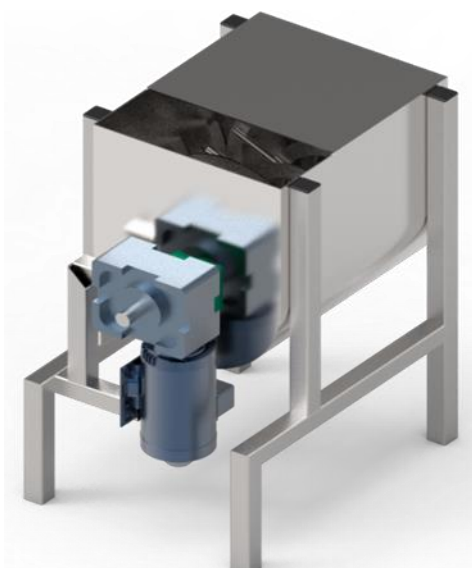
A continuación, se presentan los bocetos de las alternativas de solución citados anteriormente en la Tabla 1. La alternativa 1 tiene varias irregularidades en el diseño, lo más notable es el sistema de mezclado que por la fuerza que tendrá a la hora de trabajar será inestable en la parte inferior (Figura 2).

Figura 2. Alternativa de solución 1.



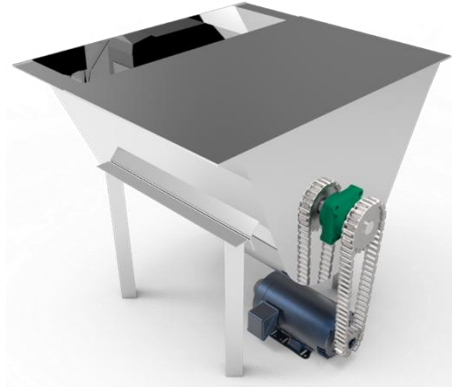
La alternativa de solución 2 (Figura 3) cumple con algunos aspectos a considerar, principalmente por el tipo de sistema de mezclado, la tolva puede llenarse a un 80% y lleva a cabo el mezclado de forma homogénea sin problemas.

Figura 3. Alternativa de solución 2.



La alternativa 3 (Figura 4), mostrada a continuación tiene una eficiencia del 50% aproximadamente ya que, por la forma de la tolva si se llena a un 80% de su capacidad no llevaría a cabo el mezclado de forma homogénea. Por otra parte, en el análisis de la transmisión, encontramos que se tienen varios detalles sobre el mantenimiento como es el engrase, la limpieza y la tensión.

FIGURA 4. Alternativa de solución 3.

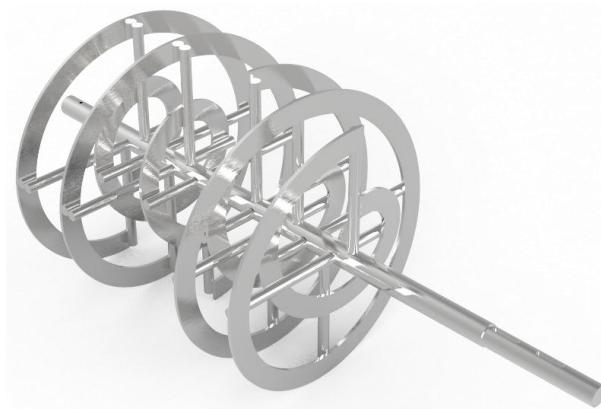


4.5. Resultado de la selección de concepto

Para la selección del prototipo, se tomó como base la alternativa de solución 2, el sistema de mezclado que tiene es el más adecuado para objetos granulares, así mismo se puede justificar que la transmisión que posee es adecuada para el fácil manejo del proceso ya que cuenta un motorreductor. La posición del motor y el motorreductor se modificará a una posición horizontal, de tal forma que estén estables.

Con la elaboración de los cálculos se procedió al diseño de detalle, en la Figura 5 se muestra el diseño del mezclador ribbon blender desarrollado en el software SolidWorks 2015, según el material especificado y datos obtenidos anteriormente, en el cual se muestra el eje principal con las ranuras para las chavetas, las cintas interiores y exteriores, así como los soportes que estas los sostienen.

FIGURA 5. Ribbon blender diseñado.



5. Conclusiones

Se logró aplicar la metodología de diseño para el prototipo del biorreactor de sólidos. Se adaptó una metodología para el cálculo y diseño del sistema de mezclado garantizando la hermeticidad de la tolva. El cálculo de la caldera de vapor se enfocó en las necesidades y pérdidas de energías más que en el dimensionamiento. Se construyó el prototipo diseñado, aplicando los procesos de manufactura con acero inoxidable AISI. El prototipo final servirá para la segunda etapa del proyecto que incluirán las pruebas y evaluaciones que determinarán las mejoras y los cambios en el diseño, así como para la implementación del control automático.

6. Referencias Bibliográficas.

- Barnett, H.L., Hunter, B.B., (1987). Illustrated genera of imperfect fungi. Macmillan Publ. Company, New York London.
- Cengel, Y.A., (2007). Transferencia de calor y masa: un enfoque práctico, 3rd ed. ed, McGraw-Hill series in mechanical engineering. McGraw-Hill, Boston.
- Correa, P., Schwanz da Silva, F., Jaren, C., Afonso, P.C., Arana, I., (2007). Physical and mechanical properties in rice processing. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.037>
- Ertola, R., Yantorno, O., Mignone, C., (2006). Microbiología industrial. OAS, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D. C.
- Mitchell, D.A., Krieger, N., Berovi, M. (Eds.), (2006). Solid state fermentation bioreactors: fundamentals of design and operation ; with 32 tables. Springer, Berlin.
- Mohapatra, D., Bal, S., (2017). Determination of Specific Heat and Gelatinization Temperature of Rice using Differential Scanning Calorimetry. <https://doi.org/10.13031/2013.15335>
- N. Ramesh, M., (2000). Effect of cooking and drying on thermal conductivity of rice. <https://doi.org/10.1080/10942910009524617>
- Norton, R.L., Ríos Sánchez, M.Á., Osornio Correa, C., Acevedo Alvarado, M., (2013). Diseño de maquinaria: síntesis y análisis de máquinas y mecanismos. McGraw-Hill Interamericana, México, D.F.
- Paul, E.L., Atiemo-Obeng, V.A., Kresta, S.M., American Institute of Chemical Engineers (Eds.), (2004). Handbook of industrial mixing: science and practice. Wiley-Interscience, Hoboken, NJ.
- Pedro Fernández Díez, (2000). Diseño de calderas industriales, in: Centrales Térmicas.
- Ramírez, H.G., Granja, A.Z., Del Aguila, E.T., Cantoral, M.T., 2014. Manual De Producción Y Uso De Hongos Entomopatógenos.
- Razavi, S., Farahmandfar, R., (2008). Effect of hulling and milling on the physical properties of rice grains.
- Severns, W.H., Degler, H.E., Miles, J.C., (2007). Energía mediante vapor, aire o gas. Reverté, Barcelona.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.