

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingenierías**

**Análisis tecno-económico de una planta de producción de  
vitamina B12**

**Christopher Augusto Racines Guerra**

**Ingeniería Química**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Ingeniero Químico

Quito, 20 de mayo de 2022

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingenierías**

**HOJA DE CALIFICACIÓN  
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Análisis tecno-económico de una planta de producción de vitamina B12**

**Christopher Augusto Racines Guerra**

Nombre del profesor, Título académico

**Fernando Nicolás Vela García, PhD**

Quito, 20 de mayo de 2022

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Christopher Augusto Racines Guerra

Código: 00138257

Cédula de identidad: 1727160705

Lugar y fecha: Quito, 13 de mayo de 2022

## ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por *Barbour et al. (2017)* Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## UNPUBLISHED DOCUMENT

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by *Barbour et al. (2017)* Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## RESUMEN

La vitamina B12 es un compuesto esencial para el cuerpo humano. Está envuelto en diversos procesos metabólicos mitocondriales y citosólicos como el ciclo de Krebs cuyo resultado es la producción de energía disponible para las células. Además, hay estudios que muestran que en dosis altas puede prevenir el síndrome de dificultad respiratoria aguda producido por la infección de COVID-19 debido a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que posee.

En este sentido, la vitamina B12 se encuentra principalmente en productos cárnicos y sus derivados. Existen ciertos grupos poblacionales que no tienen acceso a este tipo de alimentos debido a factores socioeconómicos, malos hábitos de alimentación y aquellos grupos que optan por dietas veganas por diversos motivos. En estos casos, es necesario que su organismo ingiera la vitamina B12 mediante el consumo de alimentos fortificados como cereales o mediante suplementos alimenticios o medicinas como el complejo B; por lo que su producción industrial está destinada a suplir esta demanda.

El proceso estudiado es completamente biotecnológico debido a las dificultades que presenta la vía sintética. Este implica la fermentación de azúcares mediante el uso de microorganismos bacterianos; en este estudio la elegida fue la *Pseudomonas denitrificans* por su alta productividad (181 mg/L) con respecto a otras bacterias. Como fuente de carbono principal se optó por la melaza derivada del procesamiento de la caña de azúcar por su alta disponibilidad en el país y por ser un producto de desecho que implica bajo costo relativo.

El análisis económico se realizó desde la perspectiva de obtener el precio de venta de equilibrio, también conocido como precio de venta mínimo y compararlo con el precio de venta de mercado de la vitamina B12. EL precio de mercado considerado fue de 1250 USD/kg el cual en comparación al precio de venta mínimo obtenido de 1239,66 USD/kg representa un margen mínimo de beneficios, afectando la rentabilidad y viabilidad del proyecto. Por tal motivo, se evaluaron los posibles escenarios en donde el proyecto pudiese ser rentable por lo que finalmente se realizó un análisis de sensibilidad modificando el precio de las materias primas más significativas en el proceso de producción.

**Palabras clave: Vitamina B12, Fermentación industrial, Bioingeniería, Análisis tecno-económico, Melaza, *Pseudomonas Denitrificans*.**

## ABSTRACT

Vitamin B12 is an essential compound for the human body. It is involved in various mitochondrial and cytosolic metabolic processes such as the Krebs cycle, the result of which is the production of energy available to cells. In addition, there are studies that show that in high doses it can prevent acute respiratory distress syndrome caused by COVID-19 infection due to its anti-inflammatory and antioxidant properties.

In this sense, vitamin B12 is found mainly in meat products and their derivatives. There are certain population groups that do not have access to this type of food due to socioeconomic factors, poor eating habits and those groups that opt for vegan diets for various reasons. In these cases, it is necessary to ingest vitamin B12 through the consumption of fortified foods such as cereals or through dietary supplements or medicines such as the B complex; so, its industrial production is destined to meet this demand.

The process studied is completely biotechnological due to the difficulties presented by the synthetic route. This involves the fermentation of sugars using bacterial microorganisms; In this study, *Pseudomonas denitrificans* was chosen due to its high productivity (181 mg/L) compared to other bacteria. Molasses derived from sugar processing was chosen as the main carbon source due to its high availability in the country and because it is a waste product that implies a relatively low cost.

The economic analysis was carried out from the perspective of obtaining the equilibrium sale price, also known as the minimum sale price, and comparing it with the market sale price of vitamin B12. The market price considered was 1,250 USD/kg, which, compared to the minimum sale price obtained of 1,239.66 USD/kg, represents a minimum profit margin, affecting the profitability and viability of the project. For this reason, the possible scenarios in which the project could be profitable were evaluated in sensitivity analysis where the price of the most significant raw materials in the production process was modified.

**Key words: Vitamin B12, Industrial Fermentation, Biotechnology, Techno-economic analysis, Molasses, *Pseudomonas Denitrificans*.**

## TABLA DE CONTENIDO

1. Bases del diseño del proyecto.....	14
1.1. Antecedentes.....	14
1.2 Descripción del producto.....	15
1.3 Tipos de materias primas.....	18
1.4 Descripción del proceso.....	21
1.5 Justificación del proyecto.....	26
1.6 Limitaciones.....	27
1.7 Terminología especializada.....	32
2. Objetivos y metodología del proyecto.....	34
2.1. Objetivo general.....	34
2.2. Objetivos específicos, actividades y metodología de investigación.....	34
3. Ingeniería del proceso.....	36
3.1. Etapa de producción del proceso.....	36
3.1.1. Medios de cultivo semilla.....	36
3.1.1. Preparación del inóculo.....	37
3.1.3. Pretratamiento.....	37
3.1.4. Etapa de fermentación.....	38
3.1.5. Etapa de purificación.....	38
3.1.6. Cristalización.....	39
3.2. Diseño de la simulación y supuestos asumidos.....	40
3.3. Análisis técnico-económico.....	42
4. Resultados y Discusiones.....	46
4.1. Resultados obtenidos de la simulación del proceso.....	46
4.1.1. Simulación del fermentador.....	46
4.1.2. Balance de masa del proceso.....	48
4.1.3. Diagrama de flujo y dimensionamiento de los equipos.....	50
4.2. Resultados del análisis económico.....	53
4.2.1. Costos fijos.....	53
4.2.1.1. Método de Lang y Miller.....	53
4.2.2. Costos operativos.....	58
4.2.3. Costos variables.....	61
4.2.4. Flujo de caja.....	64
4.2.5. Análisis de sensibilidad.....	69
5. Conclusiones y recomendaciones.....	74
6. Referencias bibliográficas.....	76

Anexo A: Concentración de microorganismo, vitamina B12 y medio de cultivo.....	80
Anexo B: Flujo de caja del proyecto .....	81
Anexo C: Payback del proyecto .....	89
Anexo D: Flujo de caja comercial de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad .....	91
Anexo E: Payback comercial de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad .....	100

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la melaza.....	19
Tabla 2. Matriz de comparación de bacterias para el proceso.....	25
Tabla 3. Tabla de objetivos específicos, actividades y metodología de investigación....	35
Tabla 4. Supuestos asumidos para flujo de caja.....	44
Tabla 5. Flujo de materia prima.....	48
Tabla 6. Balance de masa del proceso.....	49
Tabla 7. Resultados del dimensionamiento de los equipos.....	52
Tabla 8. Indicadores económicos objetivo para el proyecto.....	53
Tabla 9. Costo de adquisición de los equipos en euros y dólares y costo de instalación total.....	55
Tabla 10. Costo de inversión total de los equipos detallado por cada componente de la inversión.....	57
Tabla 11. Costo de inversión total.....	58
Tabla 12. Plantilla de trabajadores.....	60
Tabla 13. Costos variables.....	61
Tabla 14. Costos de materia prima por kilogramo de producto.....	62
Tabla 15. Margen de precio de mercado y costo de materias primas.....	63
Tabla 16. Resumen de costos de la planta.....	64
Tabla 17. Flujo de caja del año 0 y del año 1.....	65
Tabla 18. Tiempo de recuperación de inversión.....	66
Tabla 19. Precio de venta mínimo del producto.....	66
Tabla 20. Resultados del primer escenario del análisis de sensibilidad.....	69
Tabla 21. Resultados del segundo escenario del análisis de sensibilidad.....	70
Tabla 22. Resultados del tercer escenario del análisis de sensibilidad.....	70
Tabla 23. Resultados de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad.....	71
Tabla 24. Precio de venta al público dados los resultados de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad.....	71
Tabla 25. Tiempo de retorno de inversión de la planta.....	72
Tabla 26. Concentración de microorganismo, vitamina B12 y medio de cultivo.....	80
Tabla 27. Flujo de caja años 0-3.....	81
Tabla 28. Flujo de caja años 4-6.....	82
Tabla 29. Flujo de caja años 7-9.....	83
Tabla 30. Flujo de caja años 10-12.....	84

Tabla 31. Flujo de caja años 13-15.....	85
Tabla 32. Flujo de caja años 16-18.....	86
Tabla 33. Flujo de caja años 19-21.....	87
Tabla 34. Flujo de caja años 22-25.....	88
Tabla 35. Payback años 0-2.....	89
Tabla 36. Payback años 3-5.....	89
Tabla 37. Payback años 6-8.....	89
Tabla 38. Payback años 9-11.....	89
Tabla 49. Payback años 12-14.....	89
Tabla 40. Payback años 15-17.....	90
Tabla 41. Payback años 18-20.....	90
Tabla 42. Payback años 21-23.....	90
Tabla 43. Payback años 24-25.....	90
Tabla 44. Flujo de caja comercial años 0-2.....	91
Tabla 45. Flujo de caja comercial años 3-5.....	92
Tabla 46. Flujo de caja comercial años 6-8.....	93
Tabla 47. Flujo de caja comercial años 9-11.....	94
Tabla 48. Flujo de caja comercial años 12-14.....	95
Tabla 49. Flujo de caja comercial años 15-17.....	96
Tabla 50. Flujo de caja comercial años 18-20.....	97
Tabla 51. Flujo de caja comercial años 21-23.....	98
Tabla 52. Flujo de caja comercial años 24-24.....	99
Tabla 53. Payback comercial años 0-2.....	100
Tabla 54. Payback comercial años 3-5.....	100
Tabla 55. Payback comercial años 6-8.....	100
Tabla 56. Payback comercial años 9-11.....	100
Tabla 57. Payback comercial años 12-14.....	100
Tabla 58. Payback comercial años 15-17.....	100
Tabla 59. Payback comercial años 18-20.....	101
Tabla 60. Payback comercial años 21-23.....	101
Tabla 61. Payback comercial años 24-25.....	101

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la vitamina B12.....	16
Figura 2. Diagrama de bloque del proceso de fermentación con <i>Bacillus badius</i> .....	22
Figura 3. Diagrama de bloque del proceso de producción con <i>Pseudomonas shermanii</i> .....	23
Figura 4. Diagrama de bloque del proceso de producción con <i>Pseudomonas denitrificans</i> .....	24
Figura 5. Interfaz del registro de compuestos para el modelo simulado en SuperPro Designer®.....	40
Figura 6. Interfaz del registro de componentes para el modelo cinético modelo simulado en SuperPro Designer®.....	41
Figura 7. Interfaz de registro de pasos de funcionamiento del fermentador modelo simulado en SuperPro Designer®.....	42
Figura 8. Concentración de biomasa, vitamina B12 y medio de cultivo en el fermentador simulado en SuperPro Designer®.....	47
Figura 9. Diagrama de flujo del proceso.....	50
Figura 10. Modelo simulado en SuperPro Designer®.....	51

## 1. BASES DEL DISEÑO DEL PROYECTO

### 1.1. Antecedentes

La vitamina B12 es un producto con una considerable presencia en el mercado ecuatoriano ya que durante el 2019 se consumió un total de 11.781,00 kilogramos de producto. Además, es un producto atractivo comercialmente, teniendo una demanda que incrementa constantemente; en varios países su importación es necesaria para satisfacer la demanda de su respectivo mercado. Por ejemplo, países como Argentina han aumentado sus importaciones desde el año 2014 hasta el año 2018, pasando de 2'238,551 USD en 2014 hasta los USD 5'438,319 en 2018 (*Veritrade, 2018*). Mientras tanto, Chile en 2014 importó Vitamina B12 por un valor de USD 636,309 en 2014, experimentando un incremento hasta los 1'028,319.20 USD en 2018 (*Veritrade, 2018*).

Es desconocido si la cantidad de vitamina B12 consumida en el país ha aumentado pues es el dato de 2019 es el último dato disponible. Sin embargo, se puede estimar si ha existido un incremento en su demanda considerando un producto complementario a este como lo es el complejo B. El complejo B es un conjunto de vitaminas que está compuesto por las vitaminas: B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B5 (ácido pantoténico), B6, B7 (biotina), B12 y ácido fólico. En este producto se ha experimentado un aumento de la demanda de la misma forma que el resto de los países de la región en los últimos años. En 2020 Laboratorios Life<sup>®</sup> reporta que su producción pasó de 60,000 unidades mensuales de complejo B durante el anterior año hasta las 180 mil unidades mensuales durante 2020 (*El Universo, 2020*).

La demanda del mercado de vitamina B12 viene asociada a los precios manejados para su intercambio. Es un producto atractivo con un valor de mercado significativo; así pues, en un mediano periodo de tiempo se podría recuperar la inversión de capital. Hay que considerar que es un producto con un precio variable dependiendo del mercado en el que se lo desee adquirir.

La producción de Vitamina B12 a través de bioprocesos requiere materias primas ricas en azúcares de 6 carbonos (hexosas). La disponibilidad agrícola de estas materias primas como la remolacha, maíz o caña de azúcar en el Ecuador es alta. En este sentido, el país produce aproximadamente 50,000 toneladas de remolacha (*Universidad Técnica Babahoyo, 2014*), 1'358,626 toneladas de maíz (*CFN, 2021*) y 560,000 toneladas de caña de azúcar (*Sánchez, 2020*).

## **1.2. Descripción del producto**

La vitamina B12 o cobalamina es una de las ocho vitaminas del grupo B y normalmente participa en el metabolismo de las células humanas, especialmente en la síntesis y regulación del ADN, metabolización de aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos. Estructuralmente es una de las vitaminas más complejas. Está compuesta por un anillo de corrin o anillo corrinóide el cual es un compuesto heterocíclico con un ion de cobalto (I) en su centro coordinado con cuatro átomos de nitrógeno pertenecientes a cuatro pirroles. La estructura además está unida al 5,6-dimetilbencenoimidazol (DMB) como un ligando axial con el cobalto, pero también mediante una cadena lateral de forma covalente (*Marie Sych et al., 2016*). En la parte superior del cobalto se encuentra una estructura la cual es un grupo funcional que se coordina con el ion de cobalto y puede ser un grupo adenino, metilo, hidroxilo o cianuro. La cobalamina también puede tener en su centro un ion de cobalto (II) o cobalto (III) los cuales difieren geoméricamente de la estructura planar de la cobalamina con un ion de cobalto (I) siendo octaédrico en el caso del cobalto (III) (*Balabanova et al., 2021*).

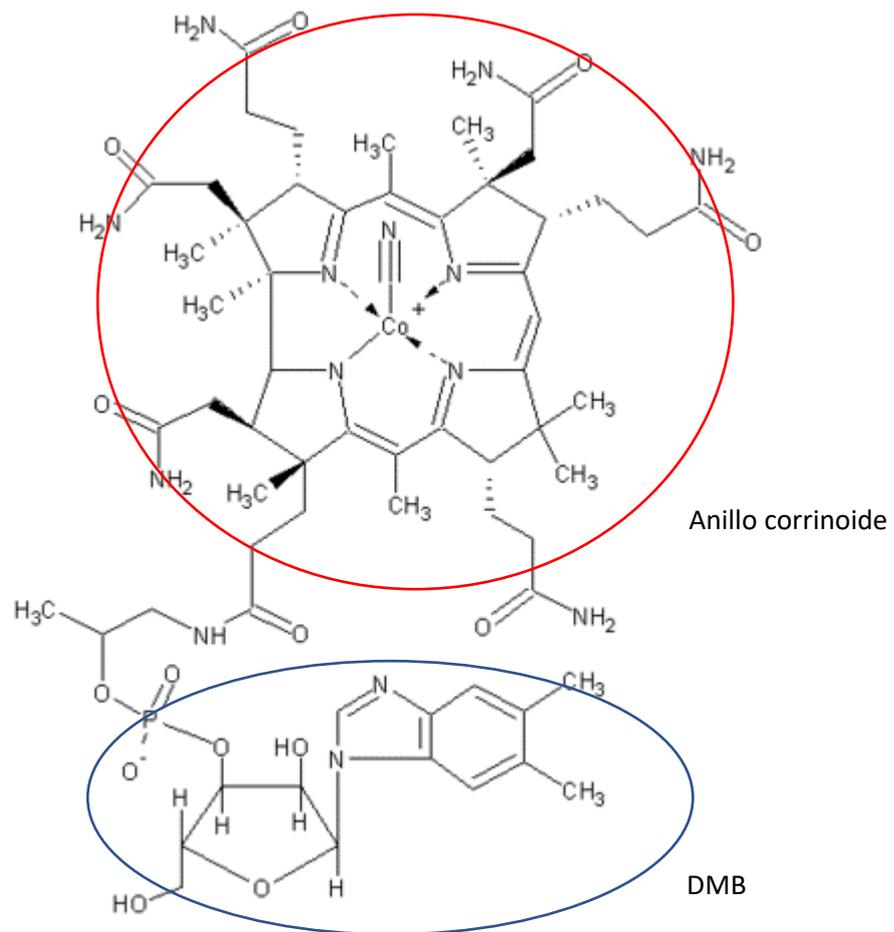


Figura 1. Estructura química de la vitamina B12.

Las formas naturales de la cobalamina son la MeCbl (metilcobalamina) y la AdoCbl (adenosilcobalamina) las cuales debido a su inestabilidad se convierten en OHCbl (hidroxicobalamina) en solución acuosa y a temperatura ambiente perdiendo su actividad. Para evitar que esto suceda, industrialmente se produce una forma estable de la vitamina B12 llamada CNCbl (cianocobalamina) la cual es apta para ser vendida durante largos periodos de tiempo (*Balabanova et al., 2021*). La CNCbl es estable a temperatura ambiente con una mayor estabilidad entre los 4.5-5 °C y a 100 °C por unas cuantas horas. Se descompone lentamente por luz UV o por una fuerte luz visible. La actividad de la vitamina se puede perder debido a tratamientos de calor bajo ácidos débiles, condiciones alcalinas o con agentes reductores como el ácido ascórbico por lo que el contacto con este último ácido puede provocar grandes pérdidas de vitamina (*Marie Sych et al., 2016*).

El producto obtenido una vez finalizada la biosíntesis puede seguir dos caminos dependiendo de su uso, alimenticio para ganado o farmacéutico. En el caso del uso alimenticio, la pureza de la vitamina B12 es del 80% sin embargo para el uso farmacéutico se requiere un mayor uso de solventes con el fin de obtener un producto cristalizado con una pureza mayor al 95%. La cobalamina se vende como un polvo cuya coloración es rojiza (*Marie Sych et al., 2016*).

La producción de vitamina B12 dentro del país busca abastecer a las compañías farmacéuticas que han visto un aumento de la demanda de complejo B ofreciendo un producto de buena calidad evitando los costos de importación. También busca generar un producto que pueda ser utilizado como un nutriente para la fortificación de alimentos de origen vegetal como los cereales con el propósito de aumentar su valor nutricional a un bajo costo beneficiando a gente que no puede acceder a productos cárnicos. También se busca la exportación del producto siendo que es demandado en otros países de la región para ser utilizado por sus respectivas industrias farmacéuticas y alimenticias.

La cantidad objetivo de vitamina B12 a producir es el 10% del total de la demanda en el país, esto considerando las limitaciones de monopolio reguladas por el Estado y debido a la posible gran inversión que se deba realizar dado el precio de mercado establecido. La característica de la vitamina B12 que se desea producir es su pureza del 98%.

En cuanto a la competencia, las compañías dominantes del mercado de vitamina B12 se encuentran en su mayoría en China y son CSPC Huarong Pharmaceutical Company, North China Pharmaceutical Company, Hebei Yuxing Bio-Engineering Company, Ningxia Kingvit Pharmaceutical Company, Henan Lvyuan Pharmaceutical Company y la compañía francesa Sanofi-Aventis (*Balabanova et al., 2021*).

La medición de la producción de vitamina B12 viene dado por kg/h y para la venta por USD/kg.

### **1.3. Tipos de materias primas**

La fuente de carbono principal del proceso es la melaza obtenida de la caña de azúcar debido a su disponibilidad en el país. La melaza o miel final es un subproducto de desecho obtenido del procesamiento de la caña de azúcar y de la cual no se puede obtener más producto mediante el uso de medios físicos de separación. Esta materia prima contiene una mezcla de diversas sustancias nutritivas útiles para el cultivo del microorganismo caracterizándose por sustancias fermentables como la glucosa, sacarosa y fructosa que contiene. Se requiere DMB y también trazas de distintos minerales como manganeso, azufre, fósforo, cobalto, zinc y magnesio los cuales pueden ser obtenidos mediante su importación de países como China (*Li et al., 2013*). La siguiente tabla detalla la composición química de la melaza.

Tabla 1. Composición de la melaza.

<i>Componentes</i>	<i>Compuestos</i>	<i>Concentración (p/p)</i>
<i>Componentes</i>	<i>Materia Seca</i>	78%
	<i>Proteínas</i>	3%
	<i>Sacarosa</i>	60-63%
	<i>Azúcares reductores</i>	3-5%
	<i>Sustancias disueltas</i>	4-8%
	<i>Agua</i>	16%
	<i>Grasa</i>	0,40%
	<i>Cenizas</i>	9%
<i>Contenido de minerales</i>	<i>Calcio</i>	0,74%
	<i>Magnesio</i>	0,35%
	<i>Fósforo</i>	0,08%
	<i>Potasio</i>	3,67%
<i>Contenido de aminoácidos</i>	<i>Glicina</i>	0,10%
	<i>Leucina</i>	0,01%
	<i>Lisina</i>	0,01%
	<i>Treonina</i>	0,06%
	<i>Valina</i>	0,02%
<i>Contenido de vitaminas</i>	<i>Colina</i>	600 ppm
	<i>Niacina</i>	48,86 ppm
	<i>Ácido Pantoténico</i>	42,90 ppm
	<i>Piridoxina</i>	44 ppm
	<i>Riboflavina</i>	4,40 ppm
	<i>Tiamina</i>	0,88 ppm

Al ser la melaza un subproducto del procesamiento de la caña de azúcar, se considera su disponibilidad tomando en cuenta la producción de azúcar en el país. En 2020 se cosecharon 139.4 miles de hectáreas de azúcar de los cuales el 77% se encontraba en la provincia del Guayas, siendo su producción de 11.0 millones de toneladas. Los mayores ingenios azucareros son: San Carlos y Valdez en la provincia del Guayas, La Troncal en Cañar, Isabel María en Los Ríos, Monterrey en Loja e IACEM en Imbabura (INEC, 2021). Estos ingenios azucareros obtienen entre 29 y 41.6 Litros de melaza/ton de caña (7.6 gal/ton) dependiendo del Brix final de la melaza. (Gilces & Veloz, 2006) Es un desperdicio de alta disponibilidad que tiene usos ganaderos como complemento para la alimentación de ganado vacuno. El precio estimado por tonelada métrica es de 291,67 USD lo que la hace un producto muy atractivo para la producción (Alibaba, 2021). Otras materias primas indispensables como el DMB tienen un costo de aproximadamente 97 USD/100 mg lo que lo hace la materia prima más cara del proceso (Selleckchem, 2022). El resto de los minerales requeridos tienen precios entre los 200-300 USD por cada tonelada métrica. La mayoría de los proveedores del resto de materias primas se encuentran en China, sin embargo, el DMB es producido en Estados Unidos por la empresa Selleckchem.

#### 1.4. Descripción del proceso

En 1973 se definió el proceso para sintetizar vitamina B12; al contar con 70 pasos de síntesis con diferentes condiciones operativas, el proceso era difícil de llevar a cabo técnica y económicamente. Sin embargo, hoy en día es un proceso bien entendido e implementado a escala industrial. La vitamina B12 es una vitamina de origen bacteriano ya que ni los hongos, plantas y animales pueden producirla al no contar con las enzimas necesarias para su síntesis. En la actualidad, su procesamiento es exclusivamente biosintético; si bien es cierto que muchos alimentos son una fuente natural de vitamina B12 debido a la simbiosis bacteriana, el nivel de producción no se compara al microbiano. El proceso consiste en la fermentación (aeróbica o anaeróbica) empleando procariontes (bacterias o Archeas), complementado por las etapas *upstreaming* y *downstreaming*.

La fermentación es un proceso metabólico donde los compuestos que donan electrones como los que los reciben son compuestos orgánicos. Se requiere de un sustrato que debido a la acción de bacterias (en este caso) genere una mezcla de productos finales que están oxidados o reducidos. Una característica del sustrato es que no puede estar ni tan oxidado ni tan reducido pues podría generar dificultades en el metabolismo. Por esta razón los carbohidratos son compuestos apropiados para la fermentación en comparación a otros compuestos orgánicos como ácidos, aminoácidos o hidrocarburos (Carbonero, 1975).

Existen diversos microorganismos que pueden ser utilizados para la obtención de vitamina B12 los cuales requieren diversas condiciones de fermentación y medios de cultivo. Para la producción industrial se utilizan cepas de *Pseudomonas denitrificans* y *Propionibacterium shermanii*, ya que son capaces de alcanzar una productividad de 300 mg/L, según la firma farmacéutica francesa Sanofi-Aventis (Martens, 2002). A continuación, se describen los procesos para la obtención de vitamina B12.

### Obtención de vitamina B12 mediante hidrocarburos.

Desarrollado durante los inicios de la búsqueda de una metodología útil para la producción de vitamina B12, este método utiliza la bacteria *Bacillus badius* cuya principal característica es el aprovechamiento de hidrocarburos en forma de parafinas para llevar a cabo la síntesis sin importar si el medio es aerobio o anaerobio. Las variables de operación de este proceso para asegurar la máxima obtención de vitamina B12 consisten en una fuente de carbono rica en *n*-alcanos C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub>. Se ha estudiado el uso de otras fuentes de carbono o la mezcla con compuestos como sucralosa, propionato, oxaloacetato o metanol, pero estas mezclas no presentan una mayor producción de vitamina B12. El pH inicial del medio de cultivo debe ser mayor a 8 para maximizar el crecimiento celular. La fuente de nitrógeno más apropiada para el proceso es el dihidrógeno fosfato de amonio. Dentro del reactor se debe mantener una temperatura de 28-30 °C con una agitación de 118 rpm. (Nishio et al., 1976)

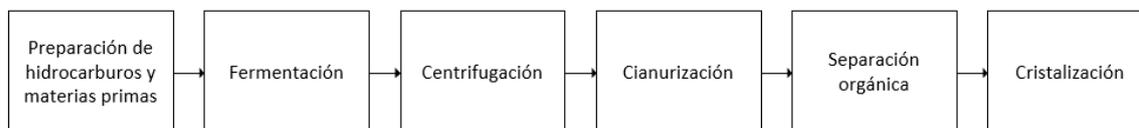


Figura 2. Diagrama de bloque del proceso de fermentación con *Bacillus badius*.

El proceso de síntesis posteriormente requiere un proceso de extracción que consiste en la centrifugación del producto obtenido una vez alcanzada la fase estacionaria. Luego, concentrar la mezcla con KCN en una autoclave por al menos 10 minutos. Se procede posteriormente a purificarlo mediante el uso del método de p-clorofenol-cloroformo y finalmente a separarlo. La máxima productividad de este proceso es de 136.4 µg/l (Nishio et al., 1976).

### Obtención anaerobia de vitamina B12.

Este método de obtención consiste en el uso de una bacteria anaerobia como lo es la *Pseudomonas shermanii* la cual es una subespecie de *Pseudomonas freudenreichii*. Esta bacteria está caracterizada por las modificaciones genéticas que posee para beneficiar la producción de vitamina B12.

Las características de operación del proceso consisten en un medio de cultivo rico en DMB y glucosa.  $\text{NH}_4$  como medio de nitrógeno y vitaminas y minerales como pantotenato, biotina y tiamina. Generalmente la temperatura dentro del reactor se encuentra a 30 °C y el pH se controla en el rango de 6.5-7 (Marie Sych et al., 2016).



Figura 3. Diagrama de bloque del proceso de producción con *Pseudomonas shermanii*.

Posteriormente se requiere centrifugación para la separación de la biomasa obteniendo un concentrado celular. La vitamina B12 es luego convertida a CNCbl mediante la añadidura de cianuro de potasio en la presencia de nitrito de sodio y calor. La solución de CNCbl luego es clarificada mediante la filtración. Se utiliza un tratamiento de clorito de zinc y precipitado en adición de ácido tánico con el fin de obtener el producto (Zhang et al., 2010). La máxima productividad de este proceso es de 2.8 mg/l (Zhang et al., 2010).

### Obtención aerobia de vitamina B12.

Dentro de todas las bacterias, la *Pseudomonas denitrificans* destaca como la más utilizada. Esta es una bacteria modificada genéticamente que requiere de condiciones aerobias para la producción de vitamina B12. Las características de operación del proceso consisten en un medio de cultivo rico en DMB, betaína y sacarosa. Además de, vitaminas y minerales como biotina, tiamina, entre otros. Dependiendo de la materia prima, se puede requerir una fuente de nitrógeno. La temperatura dentro del reactor varía entre los 28-30 °C y el pH se controla entre el rango de 7.0-7.2 durante todo el proceso de producción (Li et al., 2013).

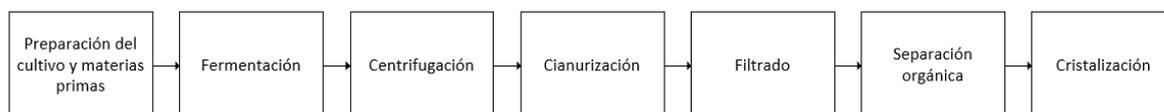


Figura 4. Diagrama de bloque del proceso de producción con *Pseudomonas denitrificans*.

El método de procesamiento posterior a la etapa de biosíntesis es esencialmente el mismo que el utilizado para la obtención anaerobia de vitamina B12 con *Pseudomonas shermanii*. Este de hecho es un proceso de obtención estándar muchas veces independientemente de la bacteria con excepciones como en el método de obtención por hidrocarburos descrito anteriormente. La máxima productividad de este proceso por lo general es de 181.75 mg/l(Li et al., 2013).

Para seleccionar el proceso a utilizar se va a tomar en cuenta ciertos parámetros donde 1 es no aceptable y 5 es muy aceptable. Se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Matriz de comparación de bacterias para el proceso.

<i>Crterios</i>	<i>Puntuación</i>		
	<i>Bacillus badius</i>	<i>P. shermanii</i>	<i>P. denitrificans</i>
<i>Productividad</i>	1	2	5
<i>Costo de materias primas</i>	1	4	5
<i>Costo de producción</i>	1	4	4
<i>Disponibilidad de materia prima</i>	2	5	5
<i>Disponibilidad de información sobre el proceso</i>	2	4	5
<i>Complejidad del proceso</i>	1	3	3
<i>Seguridad</i>	2	4	4
<i>Total</i>	10	26	31

Los procesos anaerobio y aerobio representados por las bacterias *P. shermanii* y *P. denitrificans* respectivamente guardan muchas similitudes en cuanto a las etapas de separación y procesamiento posteriores a la producción, y de las condiciones de operación (a excepción de control para evitar la presencia de oxígeno en el proceso anaerobio); sin embargo, los factores decisivos para optar por el proceso aerobio son a la productividad que es superior a la del proceso anaerobio y el costo de materia prima pues la sacarosa necesaria para el proceso aerobio puede ser encontrada en los desechos de la producción de maíz o azúcar. Por otro lado, el proceso de producción mediante hidrocarburos representado por la bacteria *Bacillus badius* no representa ningún beneficio con respecto a las otras opciones comparadas y sobre todo en la productividad que es muy reducida.

### 1.5. Justificación del proyecto

La vitamina B12 es un nutriente fundamental para la salud humana pues es una coenzima implicada en diversos procesos mitocondriales y citosólicos como el ciclo del ácido tricarbóxico mejor conocido como ciclo de Krebs usado para generar energía tanto para animales como humanos. También se ve implicada en otros ciclos como los de un carbono incluyendo los ciclos del folato donde se obtienen diferentes enzimas indispensables para la biología celular y el ciclo de la metionina (*Balabanova et al., 2021*).

El cuerpo no produce vitamina B12, esta es obtenida mediante la dieta y se encuentra en alimentos de origen animal como carne, pescado, leche, huevos, etc. Este es un problema fundamental para personas con deficiencias alimentarias como para personas que realizan dietas veganas. La mejor forma de que obtengan la cantidad necesaria de vitamina B12 es mediante la fortificación a ciertos alimentos como los cereales (*Litwack, 2018*). Considerando la baja producción industrial dentro del país, estas personas están más expuestas a consumir alimentos cuyo precio podría ser mayor al esperado si existiera suficiente producción, tal vez incluso restringiendo su acceso a dichos productos fortificados. Este es un problema aún más grave para la población que tiene deficiencias en su dieta que en Ecuador representa 1 de cada 4 niños con desnutrición crónica y 1 de cada 2 niños indígenas quienes ven afectada su salud y limitado su crecimiento (*UNICEF, 2014*).

Se ha encontrado en estudios recientes que la vitamina B12 parenteral en dosis altas puede ser utilizado como terapia para aquellos pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) por sepsis/choque séptico producto de haber sido infectados por el virus COVID-19. Esto se debe a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que posee la vitamina B12. La vitamina B12 ayuda a la regulación de la respuesta inflamatoria que ocurre debido a la cascada de citosinas que se liberan en el cuerpo. La regulación del proceso inflamatorio evita o disminuye la gravedad del síndrome de dificultad respiratoria, evitando que los pacientes requieran ingresar a una unidad de cuidados intensivos (UCI) (*Manzanares & Hardy, 2021*).

Para el diseño del proyecto se ha optado por el uso de la melaza de caña de azúcar tanto por la disponibilidad cuanto por que al ser un producto de desecho ayuda a reducir la dependencia de monocultivos por evitar el uso de otros productos como el jarabe de maíz.

### **1.6. Limitaciones**

Entre las principales limitaciones del proyecto están, la exposición de ciertas materias primas e incluso del producto a las sensibilidades del mercado nacional e internacional dependiendo de distintos conflictos que pueden impactar de manera transitoria o duradera al precio de estas materias primas o del producto provocando que análisis económico pueda no ser coherente dentro de cierto tiempo desde la publicación del proyecto. Dentro del impacto está también la demanda del mercado siendo esta uno de los antecedentes para llevar adelante el proyecto la cual puede variar por factores como el fin del estado de emergencia por la pandemia del COVID-19.

En cuanto a limitaciones técnicas se encuentra la imposibilidad de diseñar ciertos servicios como los sistemas de control, el sistema eléctrico de la planta, la estructura donde se va a asentar la planta de producción o los servicios auxiliares que se requieran para el proceso por lo que se van a usar métodos de estimación que van a provocar una disminución en la precisión de la estimación preliminar. Esta limitación provoca que los costos finales del proyecto puedan incrementarse en un porcentaje desconocido, sin embargo, eso no quita el hecho de que el análisis permitiría tomar una decisión informada si es que finalmente se optara por construir la planta utilizando el diseño propuesto.

Las leyes y regulaciones más importantes que alcanzan al proyecto son las leyes de gestión ambiental, ley de compañías, ley orgánica de regulación y control del poder de mercado, el código laboral, el código tributario; el código orgánico de la producción, comercio e inversiones, la normativa sanitaria para el control de suplementos alimenticios, la norma técnica para las emisiones a la atmósfera de las fuentes fijas y la norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes.

En cuanto a la ley de gestión ambiental, en el artículo 19 establece que las actividades públicas o privadas que puedan generar impactos ambientales serán supervisadas por los organismos descentralizados de control que tengan jurisdicción dentro del área de construcción del proyecto. El artículo 23 establece que la evaluación de los impactos ambientales comprende la valoración de los impactos que pueda tener los productos o subproductos derivados del proyecto en cuanto a la salud humana, biodiversidad, agua, suelo, paisaje; además de las condiciones de tranquilidad pública y los cambios que pueda tener el proyecto en cuanto al patrimonio histórico y cultural (*Ministerio del Ambiente , 2004*).

La ley de compañías en su artículo 3 prohíbe las compañías contrarias a la constitución y a la ley que no tienen una esencia económica y que tienden al monopolio o al oligopolio, así como a otras prácticas de competencia desleal. Esto limita el objetivo de la producción hasta niveles inferiores a los producidos dentro del país. Esta ley también establece los alcances legales que tiene el Estado sobre la administración de la empresa e influye en la organización de los cargos y el tipo de información de la que son responsables y a la que poseen acceso. El órgano rector de la actividad empresarial es la Superintendencia de Compañías, Valores y Seguros (*Superintendencia de Compañías*, 1999).

La ley orgánica de regulación y control del poder de mercado, en su artículo 1 presenta que su objetivo es el de evitar, prevenir, corregir, eliminar y sancionar el abuso de operadores con poder de mercado; la prevención de acuerdos colusorios y prácticas restrictivas o desleales con el fin de buscar la eficiencia en los mercados, el comercio justo y el bienestar general de consumidores y usuarios. En el artículo 5 y en el artículo 42 considera que la entidad rectora que es la Superintendencia de Control del Poder de Mercado es la que determinará para cada caso el mercado relevante con el fin de regular la actividad económica de una empresa o industria la cual además tiene una serie de atribuciones legales con el fin de hacer cumplir la ley (*Superintendencia de Poder del Mercado*, 2012).

El código laboral regula las relaciones entre el trabajador y sus empleadores para diversas modalidades y condiciones de trabajo. Informa sobre los requisitos para contratar trabajadores y de los beneficios sociales que a estos les corresponde, por ejemplo, la afiliación al Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS), el pago de obligaciones patronales y la información requerida para registrar al empleado en el Ministerio del Trabajo. Regula los tipos de contratos que puede ofertar el empleador y las cláusulas para poder terminarlos. También sobre que se debe hacer ante enfermedades profesionales (*Ministerio del Trabajo , 2005*).

El código tributario de acuerdo con su artículo 1 regula las relaciones jurídicas de tributos provenientes de sujetos activos y contribuyentes o responsables. Entre los impuestos más importantes están el del Impuesto al Valor Agregado (IVA), Impuesto a Consumos Especiales (ICE), Impuesto a la Salida de Divisas (ISD), Impuesto a la Renta (IR). Se especifica los documentos importantes para tener registrada la actividad empresarial como el RUC (*Asamblea Nacional, 2005*).

El código orgánico de la producción, comercio e inversiones alcanza a todas las personas naturales y jurídicas que realicen una actividad productiva en el territorio nacional según su artículo 1. El código regula el proceso de producción en sus etapas de elaboración, distribución, intercambio, consumo, manejo de externalidades e inversiones para que estén orientadas al Buen Vivir. Refuerza las regulaciones de los anteriores códigos y añade otras relacionadas a la tributación y a sanciones por cierto comportamiento en la comercialización del producto (*Superintendencia de Compañías , 2010*).

La norma sanitaria de control de suplementos alimenticios en su artículo 1 estipula que establece los requisitos bajo los que se otorgará la notificación sanitaria a los suplementos alimenticios y en su artículo 2 habla sobre la obligatoriedad para las personas jurídicas o naturales que estén relacionados con suplementos alimenticios en todo el territorio nacional. El organismo encargado de que se cumpla la reglamentación de la norma es la Agencia Sanitaria de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) (ARCSA, 2017).

Finalmente, la norma técnica para las emisiones a la atmósfera de las fuentes fijas establece los valores permitidos para emisiones de fuentes fijas de combustión y de procesos, y los métodos para determinar dichas emisiones. Muchos de los gases que puedan proceder del proceso deben ser analizados antes de que sean liberado a la atmósfera y la norma entrega los valores máximos permitidos (CIP, 2003). Por otro lado, la norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes regula las descargas de contenidos contaminados hacia el agua. Se requieren gestores ambientales para poder tratar los desperdicios o que la planta de producción tenga un sistema de tratamiento para los recursos contaminantes antes de descargarlos a las fuentes de agua cercanas (INEN, 2008).

### 1.7. Terminología especializada

**Fermentación:** Es un proceso de naturaleza bioquímica en la que cierta materia orgánica es transformada mediante la acción catalizadora de enzimas segregadas por ciertos microorganismos (*CEUPE, 2018*).

**Fed-Batch:** También llamado fermentación alimentada discontinua, es un proceso de producción que se basa en administrar discontinuamente nutrientes al cultivo dependiendo de la etapa de crecimiento en la que se encuentre. Este método permite controlar la concentración del sustrato evitando altas tasas de crecimiento del cultivo (*Doran, 2013*).

**Velocidad específica de crecimiento:** Es la capacidad de generación de biomasa que tiene una unidad de biomasa sobre unidad de tiempo. La velocidad específica de biomasa es máxima cuando el cultivo está en un sustrato saturado (*Fernandez, 2014*).

**Productividad volumétrica:** Es la cantidad de biomasa generada en una unidad de volumen por unidad de tiempo (*Fernandez, 2014*).

**Inhibidor enzimático:** Es una molécula que se une a una enzima y disminuye la actividad que esta posee (*Eugenomic, 2020*).

**Rendimiento microbiano:** Es la masa de microorganismos formadas por la cantidad de sustrato consumido (*Brock et al., 2017*).

**Riboswitches:** Son grupos de ARN que regulan la expresión de los genes permitiendo el reconocimiento de moléculas con gran afinidad y especificidad (*Morales, 2020*).

**Afinidad:** Capacidad de una molécula de unirse a una encima y formar un complejo (*Cazares, 2016*).

**Especificidad:** La capacidad de una enzima para permitir el acoplamiento de una molécula y no de otra (*Cazares, 2016*).

**Químico fino:** Son sustancias complejas, que no están mezcladas, producidas en cantidades limitadas para diferentes aplicaciones químicas o bioquímicas (*Pollak, 2011*).

**Biosíntesis:** Es un proceso en el que ocurren múltiples pasos catalizados por enzimas. Aquí los sustratos se convierten en productos más complejos mediante microorganismos (*Mediline, 2017*).

**Cultivo celular:** Un proceso en el que se hacen crecer células bajo un ambiente controlado fuera de un entorno natural (*Segeertz, 2017*).

**Metabolito:** Cualquier sustancia que es producida mediante el metabolismo de una célula. (*Mediline, 2017*).

**Precursor químico:** Sustancia indispensable para la producción de otro compuesto químico (*Secretaría de Seguridad Argentina, 2016*).

## **2. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA DEL PROCESO**

### **2.1. Objetivo general**

Diseñar una planta industrial para el bioprocesamiento de vitamina B12, evaluando su viabilidad técnico-económica.

### **2.2. Objetivos específicos, actividades y metodología de investigación.**

A continuación, en la Tabla 3, se describen los objetivos específicos planteados en este estudio.

Tabla 3. Tabla de objetivos específicos, actividades y metodología de investigación.

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Actividades</b>	<b>Metodología</b>
<i>Determinar el proceso apropiado para la producción de vitamina B12.</i>	<i>Investigación de mercado interno y externo para dimensionar la demanda del producto y sus perspectivas de producción.</i>	<i>Búsqueda en fuentes bibliográficas de datos económicos acerca del proceso (materias primas, precio de venta del producto, precio del producto)</i>
	<i>Búsqueda en literatura acerca de las operaciones utilizadas en el proceso producción de vitamina B12.</i>	<i>Utilización de referencias virtuales con artículos científicos importantes como NIH o SCOPUS</i>
	<i>Descripción de los procesos investigados para elegir el más apropiado</i>	<i>Comparación de la información obtenida para justificar al proceso más apto</i>
<i>Diseñar el bioproceso para la planta de producción de vitamina B12.</i>	<i>Definir los flujos de producción, diagramas de bloque y flujo del proceso.</i>	<i>Mediante el procesamiento de la información obtenida anteriormente</i>
	<i>Realización de una simulación en SuperPro designer ®</i>	<i>Definir de las reacciones requeridas para la obtención del producto, y utilización de la interfaz gráfica para simular el proceso</i>
	<i>Dimensionamiento de equipos principales y auxiliares del proceso.</i>	<i>Uso de información en referencias bibliográficas, apuntes y el modelo simulado para el dimensionamiento en detalle de los equipos incluidos en las distintas operaciones unitarias del proceso</i>
<i>Determinar la factibilidad económica del proceso de producción.</i>	<i>Realización de un análisis económico del proceso de producción.</i>	<i>Definir el costo de operación del proceso además de otros indicadores como TIR, VAN, tiempo de recuperación y precio de venta mínimo.</i>
	<i>Realización de análisis de sensibilidad del proyecto.</i>	<i>Con los datos obtenidos del análisis concluir bajo que escenario el proceso es factible si no lo fue en el análisis económico.</i>

### 3. INGENIERÍA DEL PROCESO

En esta sección se abordará la descripción del proceso investigado para la producción de vitamina B12, además, el diseño para el modelo simulado de la planta. Finalmente, el análisis tecno-económico será descrito, incluyendo el análisis de sensibilidad realizado.

#### 3.1. Etapa de producción del proceso

El proceso está dividido en cinco etapas fundamentales; estas son el cultivo del microorganismo, el pretratamiento donde se homogenizan las materias primas, la biotransformación (fermentación) y las etapas extracción y recuperación del producto, también conocidas como 'downstreaming'.

##### 3.1.1. Medios de cultivo semilla

Los medios de cultivo semilla y fermentación son formulados para satisfacer las demandas nutricionales de la bacteria y asegurar un óptimo crecimiento y producción del metabolito que se desea obtener. El medio de cultivo semilla es utilizado para la primera etapa del crecimiento de las células, está compuesto por: sacarosa 35 g/L, peptona 30 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.8 g/L,  $\text{MnSO}_4$  0.2 g/L,  $\text{MgSO}_4$  1.5 g/L,  $\text{ZnSO}_4$  0.02,  $\text{CoCl}_2$  0.02, DMB 0.0045. El pH de la mezcla requiere ser ajustado a los 7.0-7.2 usando NaOH 1 mol/L (*Li et al., 2013*).

### 3.1.2. Preparación del inóculo

Las células para utilizar deben ser lavadas con agua destilada formando una suspensión. La etapa de cultivo se realiza en dos pasos. En el primer paso se utiliza un Erlenmeyer de 250 mL en el cual se coloca 2 mL de la suspensión de células y 40 mL del medio de cultivo. La temperatura debe ser mantenida en 30 °C y se deja en agitación durante 20 horas. En el segundo paso, se utiliza otro Erlenmeyer de 250 mL donde se coloca 30 mL de medio de fermentación y el contenido del primer Erlenmeyer. Esta mezcla se deja en agitación a 32 °C y durante 168 horas (*Li et al., 2013*).

### 3.1.3. Pretratamiento

Esta etapa comienza con el mezclado de los componentes del medio de fermentación en tanques de mezcla. El fin de mezclar la materia prima antes de la etapa de fermentación es de evitar la degradación de los componentes y evitar la pérdida de materia prima de acuerdo con la formulación establecida para el medio fermentación.

La melaza se disuelve en agua juntamente con la sacarosa y la betaína. Se mezcla hasta que se homogenice por completo. En otro tanque se disuelve las sales minerales juntamente con el DMB en agua y se mezcla hasta que se homogenice de la misma forma (*Shrikant & et. al., 2006*).

Posteriormente al mezclado de la materia prima, se requiere la esterilización del medio para evitar la contaminación en la etapa de fermentación. El proceso es idéntico para cada corriente descritas anteriormente. Las corrientes pasan por un intercambiador de calor que aumenta su temperatura hasta los 121 °C durante al menos 30 segundos bajo condiciones de presión elevadas con el fin de evitar que la mezcla se evapore. Luego se utiliza otro intercambiador para reducir la temperatura de la mezcla hasta los 50 °C (*Marie Sych et al., 2016*). Finalmente, las mezclas son enviadas a depósitos para almacenar la mezcla y utilizarla de acuerdo con el lote a fabricar.

### 3.1.4. Etapa de fermentación

En esta etapa se requiere un medio de fermentación compuesto de: melaza 112.38 g/L, sacarosa 21.39 g/L, betaína 9.53 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2 g/L,  $\text{MgSO}_4$  1.5 g/L,  $\text{ZnSO}_4$  0.08 g/L,  $\text{CoCl}_2$  0.14 g/L, DMB 0.075 g/L (*Li et al., 2013*).

El proceso de fermentación no se lleva a cabo de manera continua. Se utiliza un fermentador batch con agitación para procesar la materia prima por lotes. El cultivo del microorganismo se realiza en dos etapas. En la primera fase se coloca el producto de la etapa de cultivo en un fermentador de 150 litros que contiene 100 litros del medio de fermentación estéril. Se lo mantiene a 28 °C durante 40 horas y con un flujo de aire de 3 m<sup>3</sup>/h. El producto de la fermentación posteriormente es transferido al reactor de fermentación de 120 m<sup>3</sup> el cual está equipado con un agitador de tres paletas a 130 rpm. Se controla el proceso mediante sensores de temperatura, pH y oxígeno disuelto (OD). El pH del reactor de fermentación es ajustado entre los 7.0-7.2, la temperatura es controlada a los 32 °C y el OD a 2% (*Li et al., 2013*).

Una vez completada la fermentación, se obtiene una mezcla compuesta por el medio de cultivo que no se metabolizó con otros subproductos de la fermentación. También se encuentra la cobalamina y la masa celular resultante del proceso de fermentación. Se vacía el reactor y su contenido se almacena en un tanque de almacenamiento.

### 3.1.5. Etapa de purificación

En esta etapa se busca recuperar de la mezcla la cobalamina producida durante la fermentación. La mezcla de la fermentación coloca en una centrífuga y se mezcla de forma continua. Después de la centrifugación se forma un sobrenadante que será enviado a un molino de bolas y una disolución acuosa que será desechada.

En el molino de bolas se rompe la pared celular de la bacteria obteniendo los productos de su metabolismo generados durante el proceso de fermentación. Posteriormente a la molienda del material celular, se lleva la mezcla hacia una segunda centrífuga en la cual se separa el material sólido de una solución acuosa que contiene la cobalamina. El sobrenadante obtenido de la centrifugación se desecha y a la solución acuosa se le agrega KCN al 0.1 M durante 16 horas a 25 °C para evitar la degradación de la cobalamina produciendo cianocobalamina (*Shrikant & et. al., 2006*).

Posteriormente, la mezcla cianurada se envía a una torre de absorción rellena de un adsorbente polimérico no iónico. El lecho de la torre adsorbe la cianocobalamina hasta su saturación mientras sale de la torre un flujo libre de cianocobalamina pues esta se ha quedado atrapada en los empaques. Para recuperar la cianocobalamina es necesario un proceso de desorción en el que se utiliza metanol al 40% que al salir de la torre tendrá toda la cianocobalamina adsorbida en la torre de destilación. Este proceso ocurre a 25 °C y a un pH de 4.8-5 (*Shrikant & et. al., 2006*).

### **3.1.6. Cristalización**

Para la cristalización se requiere evaporar el solvente para lo cual se mantiene una presión de 0.15 atm y una temperatura de 50 °C en el tanque de cristalización. A medida que el solvente se evapora de la mezcla, la disolución se concentra progresivamente y se cristaliza la cianocobalamina la cual finalmente precipita. El solvente se puede recircular para aprovecharlo de nuevo en la etapa de adsorción (*Balabanova et al., 2021*).

El precipitado se separa de la solución acuosa la cual está compuesta de metanol y cobalamina residual mediante filtrado. Esta solución acuosa se puede recircular al cristizador para aprovecharla una vez más. El producto cristalizado se almacena en un tanque de almacenamiento y puede ser mantenido a temperatura ambiente para su empaquetamiento.

### 3.2. Diseño de la simulación y supuestos asumidos

El proceso de producción de la vitamina B12 se modeló y simuló en el software de ingeniería química SuperPro Designer® v.10 (Intelligen, Inc., USA) basado en estudios experimentales y metodologías aprobadas para el diseño de bioprocesos, identificando las variables operativas óptimas para las reacciones involucradas y el cálculo preciso de los balances de masa y energía. El modelo de la planta de vitamina B12 a escala industrial ubicada en Ecuador, que utiliza melaza (residuo del refinamiento de azúcar) como materia prima fue diseñada para alcanzar la producción de 1,2 toneladas de vitamina B12 al año. El modo de operación de proceso fue de tipo Batch y para la selección de componentes se usó la herramienta editora/registro de compuestos puros del programa, como se observa a continuación en la Figura 5.

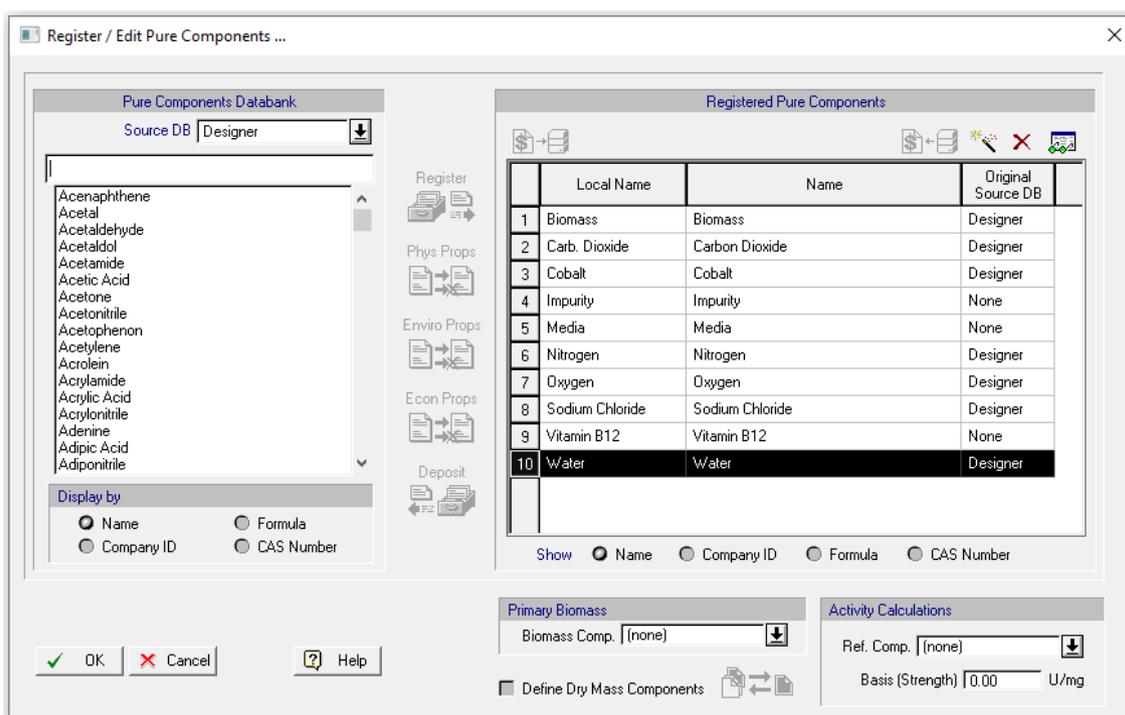


Figura 5. Interfaz del registro de compuestos para el modelo simulado en SuperPro Designer®.

Además, se incluyó la información específica del microorganismo empleado como el modelo cinético de Monod, incluyendo la velocidad específica de crecimiento máximo ( $\mu_{max}$ ) y la constante de saturación ( $K_s$ ), como se muestra a continuación en la Figura 6 (Li *et al.*, 2013).

Figura 6. Interfaz del registro de componentes para el modelo cinético modelo simulado en SuperPro Designer®.

Por otra parte, cuando se diseñó el biorreactor se consideraron como parte de estos dos corrientes de entrada o carga, un calentador, un enfriador, una cuba de fermentación y una corriente de salida o descarga, como se muestra en la Figura 7.

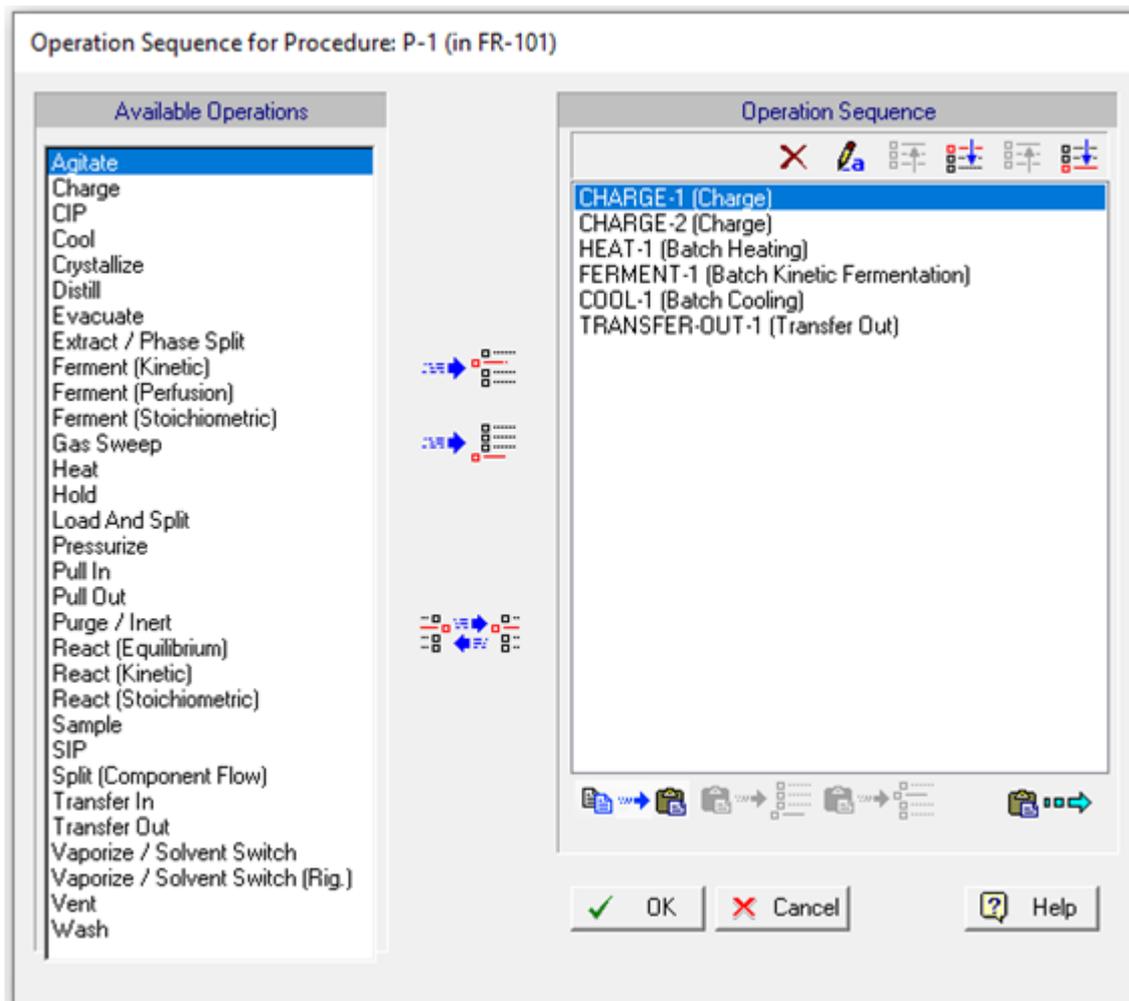


Figura 7. Interfaz de registro de pasos de funcionamiento del fermentador modelo simulado en SuperPro Designer®.

### 3.3. Análisis tecno-económico

El análisis tecno-económico (ATE) es un indicador valioso que determina la viabilidad económica y potencial relativo en el mercado del proceso investigado. El ATE se construyó al integrar los datos técnicos obtenido del modelo simulado en SuperPro designer® y el balance de masa de la planta. Se aplicó la Ecuación 1 para calcular el nuevo costo del equipo considerando su tamaño, y el valor del factor de escala ( $exp$ ) se determinó a partir de fuentes bibliográficas

Como el coste de los equipos se realizó utilizando varias fuentes con base en diferentes años, se utilizó el Índice de Costos de Plantas de Ingeniería Química (CEPCI) para actualizar los costos al año de la evaluación y ajustar el costo de capital.

$$\text{Costo actual} = \text{Costo base} \times (\text{Tamaño})^{\text{exp}} \times \left( \frac{\text{CEPCI 2021}}{\text{CEPCI 1987}} \right) \quad \text{Ecuación 1}$$

Los costos de instalación de equipos se determinaron como el producto del factor de instalación (incluidos los costos de mano de obra de instalación, los costos de equipos auxiliares, los costos de contingencias y los costos de ingeniería) y el costo del equipo adquirido. La inversión de capital total (TCI) y la inversión de capital fijo (FCI) se calcularon a partir de los costos generales de instalación. El FCI se definió como la suma del costo indirecto total (60% de los costos directos totales) y el costo directo total. El costo directo total se calculó sumando el costo de instalación y los costos directos (10% de los costos totales de instalación). Posteriormente, sumando el costo del terreno, el capital de trabajo (10% del FCI) y el FCI, se calculó el TCI (*Vela-García et al., 2021*).

Los costos operativos fijos totales incluyen costos de supervisión y mano de obra, más una carga laboral del 90% (seguridad social y beneficios por ley). Con base en el FCI, se obtuvieron costos operativos fijos adicionales, asumiendo un 3% y un 0,7% del FCI para mantenimiento y seguros patrimoniales y fiscales, respectivamente (*Vela-García et al., 2021*). Finalmente, la evaluación del flujo de efectivo se refiere a examinar o interpretar las diferentes entradas y salidas de efectivo relacionadas con la empresa durante el período considerado para las actividades de inversión, operativas y financieras. Los supuestos económicos se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Supuestos asumidos para flujo de caja.

<i>Descripción</i>	<i>Valor asumido</i>
<i>Año base</i>	<i>2022</i>
<i>Ubicación de la planta</i>	<i>Ecuador</i>
<i>Deuda/capital de financiación de plantas</i>	<i>60% / 40% del total de la inversión de capital</i>
<i>Periodo de construcción</i>	<i>9% 1er año, 60% 2do año, 32% 3er año</i>
<i>Tiempo de inicio</i>	<i>0.5 años</i>
<i>Tiempo de vida útil de la planta</i>	<i>25 años</i>
<i>Tasa de impuesto sobre la renta</i>	<i>35%</i>
<i>CEPCI 1987/2020</i>	<i>323.8 / 639 USD</i>
<i>Factor de Lang</i>	<i>3.5</i>
<i>Capital de trabajo</i>	<i>5%</i>
<i>Tasa interna mínima aceptable</i>	<i>9%</i>
<i>Tasa de interés para el financiamiento de la deuda</i>	<i>9% anual</i>
<i>Factor de flujo</i>	<i>97% (8400 horas operativas al año)</i>
<i>Plazo para la financiación de la deuda</i>	<i>10 años</i>

Adicionalmente, se calculó el precio mínimo de venta (PVM) de la vitamina B12 definido como el valor requerido para alcanzar un valor actual neto (VAN) igual a cero a una tasa interna de retorno (TIR) mínima aceptable. El PVM es útil para determinar la viabilidad económica del proceso investigado en comparación con los precios de mercado de la vitamina B12. Finalmente, se llevó a cabo un análisis de sensibilidad de doble factor para evaluar la incertidumbre que rodea a las estimaciones de costos conceptuales como estos sobre los retornos del PVM. Estos valores se utilizan mejor en comparación relativa con parámetros económicos cambiantes, variaciones tecnológicas o mejoras de procedimientos.

Se consideraron los distintos precios que existen en el mercado de la vitamina B12 para establecer el precio de mercado utilizado en el estudio. Por ejemplo, en India alcanza un valor de 2,259.8 USD/kg, en Estados Unidos 4,916.2 USD/kg, en China 1800 USD/kg y en Alemania 234.0 USD/kg. Tiene un precio promedio mundial de 1000 USD/kg por lo que se podría manejar como precio de mercado un valor de 1250 USD/kg que es inferior al precio de China, el cual es uno de los países con mayor cantidad de proveedores en el mundo (PharmaCompass, 2022).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Resultados obtenidos de la simulación del proceso

Los resultados arrojados por el programa de simulación SuperPro Designer® v.10 fueron el balance de masa del proceso, el dimensionamiento de los equipos relacionados al proceso y los resultados del comportamiento del fermentador durante la etapa de fermentación de las materias primas con el microorganismo.

#### 4.1.1. Simulación del fermentador

El modelo cinético de crecimiento celular usado para el diseño del equipo de fermentación fue el modelo de Monod el cual es una ecuación empírica basada en el modelo de Michaelis-Menten. Esta ecuación considera el crecimiento bacteriano en un medio acuoso y con una concentración de nutrientes limitante (*Torres, 1996*).

$$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde  $\mu$  es la tasa de crecimiento del microorganismo que se está estudiando,  $\mu_{max}$  es la tasa máxima de crecimiento del microorganismo,  $[S]$  es la concentración de sustrato limitante y  $K_s$  es la constante de velocidad media dado por el valor cuando  $\frac{\mu}{\mu_{max}} = 0.5$  (*Torres, 1996*).

Del modelo cinético se obtuvo un tiempo de fermentación de 160 horas con una productividad de vitamina B12 de 0,181 g/L y una concentración máxima de biomasa de 102 g/L. Los parámetros del modelo cinético se ajustaron mediante el modelo experimental obtenido del estudio de Li, et. al. (2013) y la tabla de resultados se encuentra en el Anexo X.

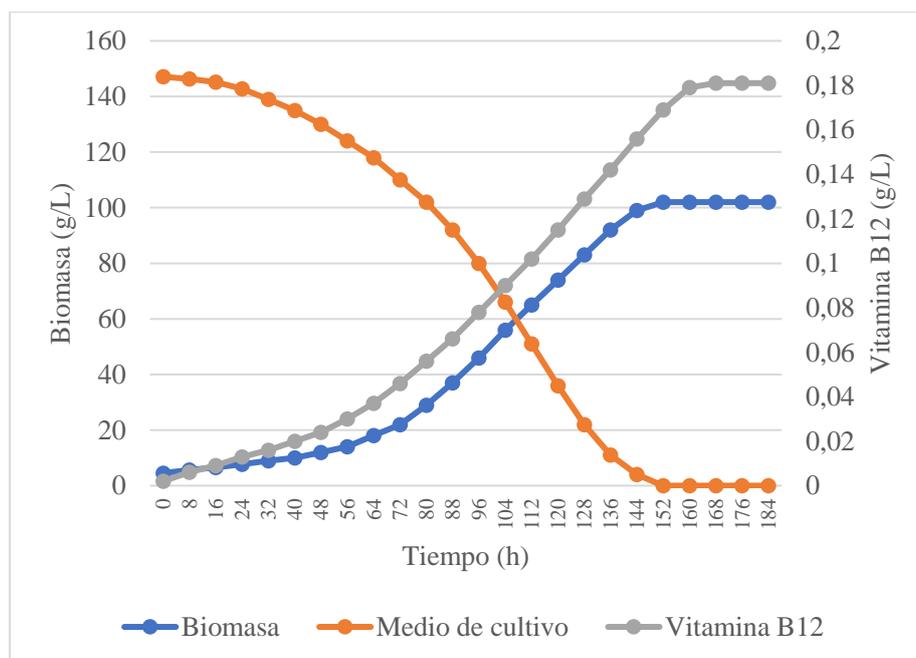


Figura 8. Concentración de biomasa, vitamina B12 y medio de cultivo en el fermentador simulado en SuperPro Designer®.

#### 4.1.2. Balance de masa del proceso.

El balance de las materias primas se obtuvo de los resultados de la simulación

Tabla 5. Flujo de materia prima.

<i>Materias primas</i>	<i>Flujo (kg/h)</i>
<i>Melaza</i>	<i>84,29</i>
<i>Sacarosa</i>	<i>16,04</i>
<i>Oxigeno</i>	<i>0,045</i>
<i>Betaína</i>	<i>7,15</i>
<i>(NH4)2SO4</i>	<i>1,5</i>
<i>MgSO4</i>	<i>1,125</i>
<i>ZnSO4</i>	<i>0,06</i>
<i>CoCl2</i>	<i>0,105</i>
<i>DMB</i>	<i>0,056</i>
<i>Agua</i>	<i>750</i>
<i>KCN</i>	<i>0,65</i>
<i>Metanol</i>	<i>0,42</i>

En la tabla a continuación se muestra el balance de masa del producto principal obtenido a un 98% de pureza y de la sumatoria materia prima requerida para poder obtenerlo. El balance fue obtenido del software de simulación y se consideró la meta de producción anual de 1,2 toneladas/año aproximadamente siendo el 10% del consumo del país en 2019.

Tabla 6. Balance de masa del proceso.

	<i>Cantidad</i>	<i>Unidades</i>
<i>Materia prima</i>	860	kg/h
	20640	kg/día
	20,64	tonelada/día
<i>Producto principal</i>	0,14	kg/h
	3,36	Kg/día
	1,176	tonelada/año

Pese a la alta productividad de la *P. Denitrificans*, en comparación con el flujo acumulado de materias primas, la cantidad de vitamina B12 procesada por hora es muy pequeña, de casi el 0,01% lo cual significa una gran cantidad de desechos. Sin embargo, algunos compuestos como el metanol pueden ser recirculados significando un ahorro en materia prima pese a que este compuesto tiene un peso pequeño dentro del proceso de producción.

### 4.1.3. Diagrama de flujo del proceso y dimensionamiento de los equipos

A continuación, en la Figura X se muestra el diagrama de bloques del modelo simulado para la planta de procesamiento de vitamina B12.

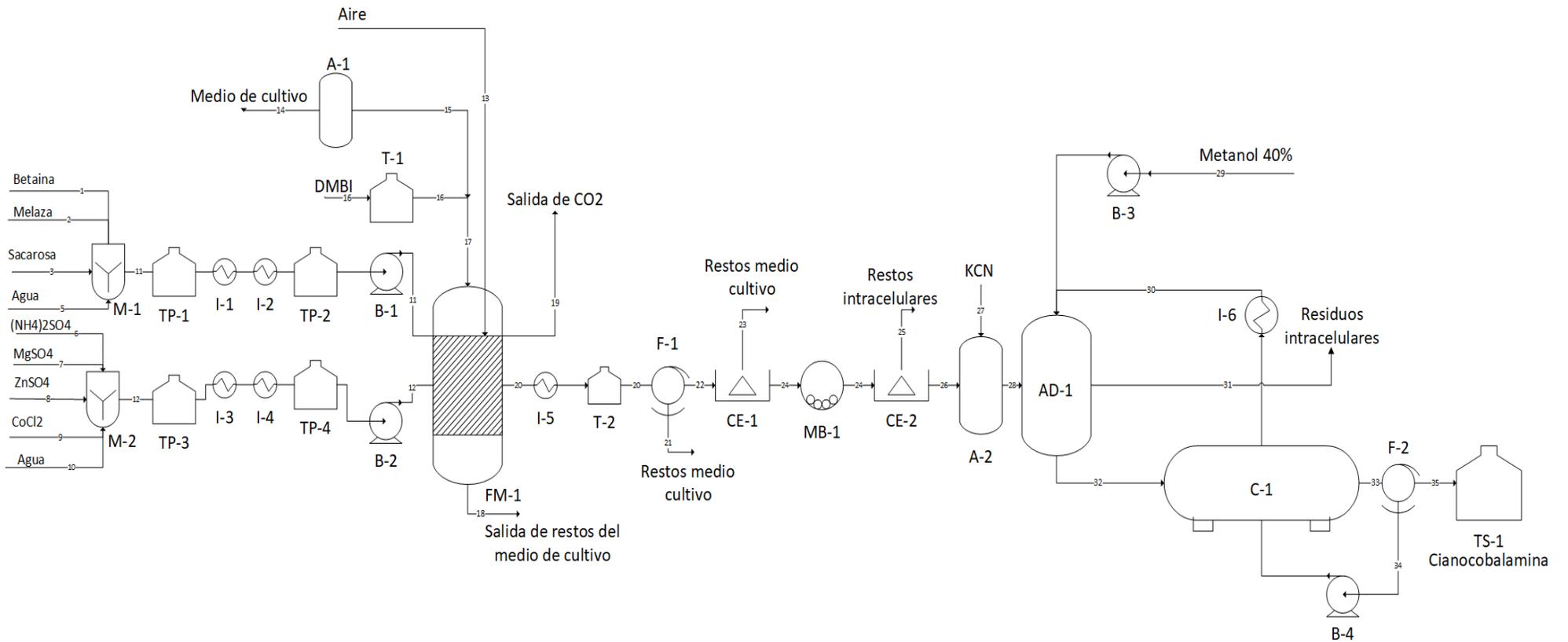


Figura 9. Diagrama de flujo del proceso.

Adicionalmente, en la Figura X se muestra el modelo obtenido del simulador SuperPro Designer®.

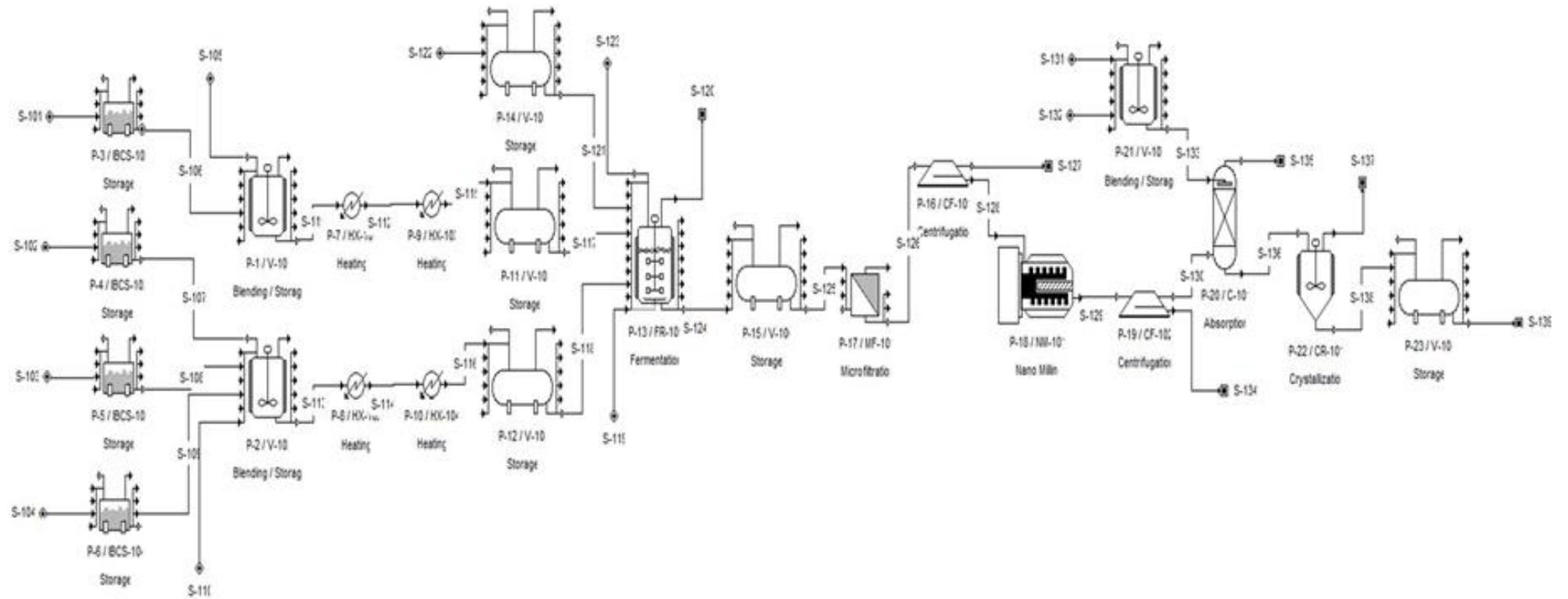


Figura 10. Modelo simulado en SuperPro Designer®

El dimensionamiento de los equipos principales fue obtenido del software de simulación desde los resultados del balance de masa.

Tabla 7. Resultados del dimensionamiento de los equipos.

<i>Equipos</i>	<i>Dimensión</i>	<i>Código</i>	<i>Número</i>	<i>Unidad</i>
<i>Biorreactor 1</i>	<i>31700</i>	<i>FM</i>	<i>1</i>	<i>gal</i>
<i>Agitador biorreactor</i>	<i>10</i>	<i>-</i>	<i>-</i>	<i>hp</i>
<i>Intercambiador de calor (x6)</i>	<i>6,02</i>	<i>I</i>	<i>1-6</i>	<i>pie cuadrado</i>
<i>Molino de bolas</i>	<i>1</i>	<i>MB</i>	<i>1</i>	<i>t/h</i>
<i>Centrifugadora (x2)</i>	<i>7,5</i>	<i>CE</i>	<i>1-2</i>	<i>hp</i>
<i>Tanques de almacenamiento Pretratamiento (x4)</i>	<i>7925</i>	<i>TP</i>	<i>1-4</i>	<i>gal</i>
<i>Tanques mezcladores pre-fermentación (x2)</i>	<i>15850</i>	<i>M</i>	<i>1-2</i>	<i>gal</i>
<i>Agitador tanque mezclado (x2)</i>	<i>3</i>	<i>-</i>	<i>-</i>	<i>hp</i>
<i>Tanque almacenamiento post-fermentación</i>	<i>31700</i>	<i>T</i>	<i>2</i>	<i>gal</i>
<i>Tanque almacenamiento estéril pre-fermentación (x2)</i>	<i>15850</i>	<i>A</i>	<i>1-2</i>	<i>gal</i>
<i>Tanque de almacenamiento DMB</i>	<i>100</i>	<i>T</i>	<i>1</i>	<i>gal</i>
<i>Columna de adsorción</i>	<i>2</i>	<i>AD</i>	<i>1</i>	<i>m</i>
<i>Cristalizador</i>	<i>50</i>	<i>C</i>	<i>1</i>	<i>gal</i>
<i>Bombas del sistema (x4)</i>	<i>3,33</i>	<i>B</i>	<i>1-4</i>	<i>gal/min</i>
<i>Tanque almacenamiento solidos</i>	<i>120</i>	<i>TS</i>	<i>1</i>	<i>gal</i>
<i>Filtro biorreactor</i>	<i>3,25</i>	<i>F</i>	<i>1</i>	<i>pie cuadrado</i>
<i>Filtro cristalizador</i>	<i>3,55</i>	<i>F</i>	<i>2</i>	<i>pie cuadrado</i>

## 4.2. Resultados del análisis económico

El principal indicador económico para analizar la viabilidad del proyecto fue el precio mínimo de venta. Este indicador se compara con el precio de venta de mercado y si existe un margen positivo entre los dos valores a analizar se puede concluir que el producto es económicamente rentable. Como característica de este análisis, se utiliza el precio de venta de equilibrio del producto, es decir, aquel donde el VAN es igual a 0 USD o lo más cercano posible a 0 USD. El precio de venta de equilibrio indica que no se pierde ni se gana al vender el producto a dicho precio siendo además el valor mínimo de venta.

Tabla 8. Indicadores económicos objetivo para el proyecto.

<b><i>VAN</i></b>	<i>9,00%</i>
<b><i>TIR</i></b>	<i>0</i>

### 4.2.1. Costos fijos

Se calculó el costo total de inversión mediante dos métodos, el método de Lang y el método de Miller.

#### 4.2.1.1. Método de Lang y Miller

El método de Lang es por mucho uno de los métodos más sencillos para estimar la inversión de capital fijo. Este método establece que se puede obtener el costo de inversión al multiplicar el costo de adquisición de equipo (CAE) por un factor (*Zugarramurdi & Parín, 1998*).

$$\text{Inversión estimada} = f_L * \text{costo del equipo base} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde  $f_L$  es el factor de Lang.

Además, permite una aproximación preliminar del precio de inversión total entre el 20-30% del valor real de la planta y se considera cuando se tiene poca información sobre distintos parámetros del diseño como es el terreno, servicios auxiliares, tuberías, sistemas de control, instalaciones eléctricas, entre otros. El factor de Lang es diferente dependiendo del tipo de planta que se desea analizar, es decir; si procesa sólidos, sólidos-líquidos o líquidos. El factor utilizado corresponde al tipo de planta que procesa materiales sólidos-líquidos el cual es de 3.5 (*Zugarramurdi & Parín, 1998*). A continuación, se presentan los resultados.

Tabla 9. Costo de adquisición de los equipos en euros y dólares y costo de instalación total.

<i>Equipos</i>	<i>CAE 1987 (\$)</i>	<i>CAE Hoy (\$)</i>	<i>CAE (€)</i>	<i>IT (\$)</i>
<i>Biorreactor 1</i>	26166,40	51637,83	39721,41	180732,42
<i>Agitador biorreactor</i>	3203,64	6322,18	4863,22	22127,64
<i>Intercambiador de calor (x6)</i>	2983,87	5888,49	4529,61	20609,73
<i>Molino de bolas</i>	1600,00	3157,50	2428,85	11051,27
<i>Centrifugadora (x2)</i>	6708,40	13238,63	10183,56	46335,22
<i>Tanques de almacenamiento Pretratamiento (x4)</i>	1758,05	3469,41	2668,77	12142,92
<i>Tanques mezcladores pre-fermentación (x2)</i>	34288,28	67665,88	52050,68	236830,57
<i>Agitador tanque mezclado (x2)</i>	12213,54	24102,69	18540,53	84359,40
<i>Tanque almacenamiento post-fermentación</i>	26166,40	51637,83	39721,41	180732,42
<i>Tanque almacenamiento estéril pre-fermentación (x2)</i>	31159,54	61491,50	47301,16	215220,26
<i>Tanque de almacenamiento DMB</i>	334,84	660,79	508,30	2312,77
<i>Columna de adsorción</i>	0,00	7500,00	5769,23	26250,00
<i>Cristalizador</i>	2998,22	5916,80	4551,39	20708,80
<i>Bombas del sistema (x4)</i>	2928,64	5779,50	4445,77	20228,26
<i>Tanque almacenamiento solidos</i>	417,48	823,86	633,74	2883,53
<i>Filtro biorreactor</i>	1941,42	3831,27	2947,13	13409,44
<i>Filtro cristalizador</i>	1568,53	3095,39	2381,07	10833,88
<i>Total</i>	156437,25	316219,58	243245,83	1106768,53

En tanto que el método de Miller considera el cálculo del precio base de los equipos principales representados por el CAE y a dicho precio posteriormente se lo multiplica por un valor proporcional que se requiera para instalar la planta (*Zugarramurdi & Parín, 1998*). Finalmente, el costo de los equipos base se suma para obtener el costo de inversión total.

$$\text{Inversión estimada} = \sum (f_M \text{ componente} * \text{costo equipo base}) \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde  $f_M$  es el factor de Miller

Se presenta los resultados en la tabla a continuación.

Tabla 10. Costo de inversión total de los equipos detallado por cada componente de la inversión.

<i>Descripción de costes de inversión</i>	<i>Peso</i>	<i>Coste total €</i>
<i>Equipos principales</i>	<i>1</i>	<i>243245,83</i>
<i>Equipos no considerados</i>	<i>0,13</i>	<i>31621,96</i>
<i>Instalaciones de los equipos</i>	<i>0,011</i>	<i>2675,70</i>
<i>Cimientos y estructuras</i>	<i>0,06</i>	<i>14594,75</i>
<i>Tuberías</i>	<i>0,25</i>	<i>60811,46</i>
<i>Aislamiento de equipos</i>	<i>0,02</i>	<i>4864,92</i>
<i>Aislamiento de tuberías</i>	<i>0,015</i>	<i>3648,69</i>
<i>Instalaciones eléctricas</i>	<i>0,05</i>	<i>12162,29</i>
<i>Instrumentación</i>	<i>0,06</i>	<i>14594,75</i>
<i>Construcciones</i>	<i>0,025</i>	<i>6081,15</i>
<i>Almacenes</i>	<i>0,15</i>	<i>36486,87</i>
<i>Utilidades y catalizadores</i>	<i>0,27</i>	<i>65676,37</i>
<i>Servicios</i>	<i>0,17</i>	<i>41351,79</i>
<i>Diversos</i>	<i>0,02</i>	<i>4864,92</i>
<i>Tasas</i>	<i>0,03</i>	<i>8027,11</i>
<b><i>Total</i></b>		<b><i>550708,56</i></b>

A partir del total de los costes directos se puede calcular los costes de inversión directos ajustados, los costes de inversión indirectos y las contingencias. Los costes de inversión directos ajustados son los costes de inversión calculados anteriormente, pero multiplicados por un factor de seguridad considerando cualquier apartado que no se haya tomado en cuenta en la tabla anterior. En este caso el factor es 1.1. Mientras que los costes de inversión directos corresponden a servicios que son instalados o contratados, por ejemplo, de forma temporal para el funcionamiento de la planta como el transporte de los equipos o campamentos para los trabajadores y se obtiene de multiplicar el coste de inversión directo ajustado por 0,6.

Tabla 11. Costo de inversión total.

<i>Concepto</i>	<i>Peso</i>	<i>Coste (\$)</i>
<i>Costes de inversión directos</i>	<i>1,1</i>	<i>605779,42</i>
<i>Costes de inversión indirectos</i>	<i>0,6</i>	<i>363467,65</i>
<i>Contingencias</i>	<i>0,13</i>	<i>78751,32</i>
<b><i>Coste de inversión total (€)</i></b>		<i>1047998,39</i>
<b><i>Coste de inversión total (\$)</i></b>		<i>1362397,91</i>

#### **4.2.2. Costos operativos**

Los costos operativos corresponden a la plantilla de trabajadores cuya función en la planta es mantener el proceso en funcionamiento, asegurarse de la recepción de materias primas, la venta del producto considerando su funcionamiento, entre otros. Trabajan el 97% del año u 8400 horas operativas.

La plantilla consiste en los siguientes cargos:

**Gerente de planta:** responsable del área administrativa de la planta y representante de la empresa. Un solo turno de ocho horas.

**Auxiliares administrativos:** responsables legales de la empresa, encargados de diversas funciones como la secretaría, el control de proveedores, la firma de contratos de venta, entre otros. Se requiere un turno de ocho horas con dos personas.

**Supervisor de mantenimiento y operaciones:** responsable del área de operaciones de la planta y el encargado de supervisar que los mantenimientos programados se lleven a cabo correctamente. Envía reportes del desempeño de los operarios y de las condiciones de operación de la planta. Está dividido en dos turnos de ocho horas por lo que se requiere a dos personas para el puesto.

**Técnico de mantenimiento:** responsable de llevar a cabo los mantenimientos programados, de la inspección de la maquinaria y de la instalación de los repuestos y refacciones necesarios. El puesto es de un solo turno de ocho horas y se requiere a dos personas debido a las necesidades de fuerza física que requiere el puesto.

**Gerente de laboratorio:** responsable del enviar y a realizar los reportes de calidad de cada lote del producto y de los análisis fisicoquímicos de las distintas materias primas. Está pensado en un solo turno de ocho horas.

**Técnico de laboratorio:** encargados de realizar los ensayos de laboratorio mediante el uso de distintos instrumentos de análisis y de reportar sus resultados al gerente de laboratorio. Son tres turnos de ocho horas y se requiere una persona por turno.

**Operadores:** responsables de fabricar el producto. Manejan la maquinaria durante cada etapa de producción y se encargan de su limpieza. Está dividido en tres turnos de ocho horas y de dos personas por cada turno.

Para calcular el costo de los operarios incluyendo los beneficios sociales se utilizó un factor de carga laboral multiplicándolo con el costo base de las ganancias netas.

Tabla 12. Plantilla de trabajadores.

<i>Cargo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Pago neto anual por persona (\$)</i>	<i>Pago neto anual (\$)</i>
<i>Gerente de planta</i>	<i>1,00</i>	<i>54000,00</i>	<i>54000</i>
<i>Supervisor de mantenimiento</i>	<i>2,00</i>	<i>60000,00</i>	<i>30000</i>
<i>Técnico de mantenimiento</i>	<i>2,00</i>	<i>50000,00</i>	<i>25000</i>
<i>Gerente laboratorio</i>	<i>1,00</i>	<i>40000,00</i>	<i>40000</i>
<i>Técnico de laboratorio</i>	<i>3,00</i>	<i>90000,00</i>	<i>30000</i>
<i>Operadores</i>	<i>6,00</i>	<i>90000,00</i>	<i>15000</i>
<i>Auxiliares administrativos</i>	<i>2,00</i>	<i>16800,00</i>	<i>8400</i>
<b><i>Total (\$) Incluye seguridad social (0,236%) y beneficios de ley</i></b>			<i>773220,12</i>

Los costes operativos representan una gran porción del costo de la planta si se compara con otros como el costo de inversión total. La plantilla de trabajadores podría variar dependiendo de los requerimientos finales de la planta después de la instalación de los equipos aumentando el costo operativo de la planta.

### 4.2.3. Costos variables

Los costos operativos variables (que incluyen materias primas, créditos de subproductos, costos de eliminación de desechos y costos recurrentes). La logística de materias primas, así como la agricultura (de donde proviene la melaza), no se han incluido en la evaluación.

Los supuestos para los costos variables se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Costos variables.

<i>Materias primas</i>	<i>\$/ton</i>
<i>Melaza</i>	<i>291,67</i>
<i>Sacarosa</i>	<i>450,00</i>
<i>Oxigeno</i>	<i>1900</i>
<i>Betaína</i>	<i>1800</i>
<i>(NH4)2SO4</i>	<i>139,00</i>
<i>MgSO4</i>	<i>110,00</i>
<i>ZnSO4</i>	<i>400,00</i>
<i>CoCl2</i>	<i>16000,00</i>
<i>DMB</i>	<i>337000,00</i>
<i>Agua</i>	<i>0,72</i>
<i>KCN</i>	<i>1195,70</i>
<i>Metanol</i>	<i>400,00</i>

En la tabla a continuación se presenta el precio de la materia prima requerida para obtener un kilogramo de producto.

Tabla 14. Costos de materia prima por kilogramo de producto.

<i>Materias primas</i>	<i>Unidad</i>	<i>Cantidad</i>
<i>Melaza</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>175,61</i>
<i>Sacarosa</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>51,56</i>
<i>Oxigeno</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>0,61</i>
<i>Betaína</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>91,93</i>
<i>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>1,49</i>
<i>MgSO<sub>4</sub></i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>0,88</i>
<i>ZnSO<sub>4</sub></i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>0,17</i>
<i>CoCl<sub>2</sub></i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>12,00</i>
<i>DMB</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>134,80</i>
<i>Agua</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>3,86</i>
<i>KCN</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>5,55</i>
<i>Metanol</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>1,20</i>
<i>Cepa de microorganismo</i>	<i>(\$/kg)</i>	<i>0,06</i>
<i>Gas natural</i>	<i>(\$/MJ)</i>	<i>0,03</i>
<i>Electricidad</i>	<i>(\$/kWh)</i>	<i>0,05</i>
<i>Mantenimiento</i>	<i>(\$)</i>	<i>0,03</i>
<i>Total</i>	<i>(\$)</i>	<i>479,83</i>

También se presenta la tabla 15 donde se realiza una diferenciación entre el precio de un kilogramo de vitamina B12 con respecto al costo de la materia prima requerida para producir un kg de vitamina B12.

Tabla 15. Margen de precio de mercado y costo de materias primas.

<i>Costo 1 kg vitamina B12 (\$)</i>	<i>1250</i>
<i>Costo materia prima para producir 1 kg de producto (\$)</i>	<i>479,83</i>
<i>Margen (\$)</i>	<i>770,17</i>
<i>Margen porcentual</i>	<i>62%</i>

La diferencia porcentual entre las materias primas y el producto final es de 62% lo que da un gran margen para amortizar los costos operativos, de producción, de maquinaria, entre otros, requeridos para poner en marcha la planta de producción y también para posiblemente generar una ganancia lo que haría a la planta económicamente rentable. Por otro lado, este resultado también plantea la posibilidad de que la materia prima es barata con respecto al producto, pero que los otros procesos implicados en la planta de producción podrían ser caros o requerir una fuerte inversión.

#### 4.2.4. Flujo de caja

El flujo de caja hace referencia a la entrada y salida de dinero que un proyecto tiene durante un tiempo determinado, en este caso, por el tiempo de vida útil de la planta.

La siguiente tabla resume la información relevante para realizar el flujo de caja.

Tabla 16. Resumen de costos de la planta.

<i>Coste variable unitario (\$/kg)</i>	479,83
<i>Ingresos coproductos (\$/kg)</i>	0,00
<i>Costes fijos de operación (\$)</i>	773.220,12
<i>Inversión (\$)</i>	1.106.768,53
<i>Vida útil de la planta (años)</i>	25
<i>Días laborales</i>	350
<i>Tasa de descuento de una planta química</i>	8,84%
<i>Ahorro</i>	0

Para el flujo de caja se calculó el flujo del primer año y se lo extrapoló durante los 25 años del tiempo de funcionamiento de la planta. A continuación, el flujo de caja del primer año y del año 0.

Tabla 17. Flujo de caja del año 0 y del año 1.

<i>Años</i>	<i>0</i>	<i>1</i>
<i>Producción anual (kg/año)</i>		<i>1176,00</i>
<i>Ingresos por coproductos (\$/año)</i>		<i>0,00</i>
<i>Precio de venta mínimo</i>		<i>1239,66</i>
<i>Ingresos anuales producto (\$/año)</i>		<i>1457843,16</i>
<i>Ingresos totales (\$/año)</i>		<i>1457843,16</i>
<i>Costes variables (\$/año)</i>		<i>-564275,20</i>
<i>Costes fijos (\$/año)</i>		<i>-773220,12</i>
<i>Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)</i>		<i>-44270,74</i>
<i>BAIT (\$)</i>		<i>76077,09</i>
<i>Impuestos (IVA 12%) (\$)</i>		<i>-9129,25</i>
<i>BDI (\$)</i>		<i>66947,84</i>
<i>Amortización en positivo (\$)</i>		<i>44270,74</i>
<i>Flujos de caja (\$)</i>	<i>-1106768,53</i>	<i>111218,58</i>

Para calcular el tiempo de retorno de la planta se calcula el payback, el cual es el saldo que queda después de descontar cada ingreso del flujo de caja. Se calcula durante el tiempo de vida de la planta y del resultado se obtiene el último año en negativo.

Tabla 18. Tiempo de recuperación de inversión.

<b><i>Último año en negativo</i></b>	9
<b><i>Valor absoluto del año (\$)</i></b>	105801,29
<b><i>Flujo de caja del siguiente año (\$)</i></b>	111218,58
<b><i>Payback (años)</i></b>	9,95

Para el análisis de equilibrio el último año en negativo siempre es el año 9 y el tiempo de retorno es el año 10. Este tiempo se ajusta al concepto de que un proyecto es rentable si tiene un tiempo de retorno inferior a los 10 años (Zugarramurdi & Parín, 1998). Si el VAN fuese mayor a 0 USD se debería obtener un tiempo de recuperación inferior a 10 años.

Finalmente se calcula el precio de venta mínimo manteniendo el VAN con un resultado de 0 USD mediante el uso de la herramienta análisis de hipótesis de Microsoft Excel.

Tabla 19. Precio de venta mínimo del producto.

<b><i>PVM (\$/kg)</i></b>	1239,66
<b><i>PVM (\$/g)</i></b>	1,24

En comparación al precio de mercado establecido de 1250 USD/kg o de 1.25 USD/g, el precio de venta mínimo tiene un margen insignificante de 0.83% con respecto al precio de mercado volviendo al producto poco competitivo bajo los parámetros de diseño establecidos en el proyecto. Dentro del análisis económico propuesto existen pocos rubros que se puedan disminuir para obtener un margen entre el precio del mercado y el precio de venta mínimo capaz de volver al producto atractivo. Dentro de aquellos que no podrían disminuir más (por el momento) se encuentra el costo base de los equipos. Considerando que estos se calcularon de la estimación más baja posible, el costo real podría incrementarse considerablemente dependiendo de su sitio de procedencia. Para tener una idea de si pudiese aumentar el precio de los equipos principales, se toma el valor estimado del biorreactor y se busca uno de similares características en un catálogo. El biorreactor de 120000 L tiene un costo estimado de 51,637.83 USD mientras que uno de menor capacidad de 100000 L tiene un costo aproximado de 55,000 USD (*Alibaba, 2022*). Se requeriría cotizar con otros proveedores, sin embargo, esta comparación nos hace considerar que el costo final podría ser mayor al estimado.

Otro de los rubros a considerar para recortar el precio es la plantilla de trabajadores. Dada la cantidad de personal que se propone se podría considerar contratar una mayor cantidad si por ejemplo la cantidad propuesta de operarios de la planta no fuesen capaces de mantener en funcionamiento el proceso dado el nivel de producción establecido o si se requiriera en el área administrativa trabajadores especializados que manejen otras áreas importantes de la empresa como relaciones públicas, marketing, asuntos legales, entre otros. Se esperaría que este rubro incremente con el tiempo a menos que exista pérdidas económicas considerables por cuestiones como la reciente pandemia del COVID-19, en tal caso, se tendría que estudiar sobre la marcha la cantidad mínima de trabajadores considerando el trabajo extra que estarían dispuestos a realizar los que se mantengan en plantilla.

Finalmente, el último rubro que se podría optimizar para mejorar el margen de venta es el de los costos variables y específicamente con la materia prima. Hay que considerar que el costo obtenido de la melaza proviene de un proveedor que seca y empaqueta la melaza para venderla en pacas. Se podría conseguir un proveedor directo que permita disminuir el costo de dicha materia prima. Existen otras materias primas importadas debido a la inexistencia de producción en el país como son el caso de la betaína y el DMB. Estas provienen de China y su costo podría aumentar incluso por el transporte hacia el país. Se podrían buscar otras alternativas en países cercanos como México u otro de China que venda dicho producto a un precio inferior. Sin embargo, es una interrogante el impacto que podría tener el precio de las materias primas en el precio de venta mínimo por lo que se propone a continuación un análisis de sensibilidad para conocer dicho impacto.

#### 4.2.5. Análisis de sensibilidad

El objetivo del análisis es encontrar un escenario donde el precio de venta mínimo se vuelva competitivo con respecto al precio de mercado establecido. Para este fin se estudia la variación del precio mínimo de venta mediante la variación de las materias primas más significativas, tanto individualmente como de forma combinada. Se crearon escenarios donde se varió el precio de la melaza, el DMB y la betaína. Se modificó el precio de cada materia prima de tal forma que es un 30% inferior al precio utilizado para el análisis económico. Cada uno de los escenarios serán comparados con el costo de mercado de las materias primas, con el precio de venta mínimo del estudio económico base del proceso siendo considerado este el escenario base y con el precio de venta del mercado siendo este considerado el escenario de mercado.

En el primer escenario solo ocurre una variación del precio de la melaza.

Tabla 20. Resultados del primer escenario del análisis de sensibilidad.

<i>Costo real melaza (\$/kg)</i>	0,29
<i>Costo supuesto melaza (\$/kg)</i>	0,20
<i>PVM base (\$/kg)</i>	1239,66
<i>PVM base (\$/g)</i>	1,24
<i>PVM mercado (\$/kg)</i>	1250
<i>PVM mercado (\$/g)</i>	1,25
<i>PVM escenario 1 (\$/kg)</i>	1186,98
<i>PVM escenario 1 (\$/g)</i>	1,19
<i>Margen porcentual base</i>	4,25%
<i>Margen porcentual mercado</i>	5,04%

En el segundo escenario solo ocurre una variación del precio del DMB.

Tabla 21. Resultados del segundo escenario del análisis de sensibilidad.

<i>Costo real DMB (\$/kg)</i>	337,00
<i>Costo supuesto DMB (\$/kg)</i>	235,90
<i>PVM base (\$/kg)</i>	1239,66
<i>PVM base (\$/g)</i>	1,24
<i>PVM mercado (\$/kg)</i>	1250
<i>PVM mercado (\$/g)</i>	1,25
<i>PVM escenario 2 (\$/kg)</i>	1199,22
<i>PVM escenario 2 (\$/g)</i>	1,20
<i>Margen porcentual base</i>	3,26%
<i>Margen porcentual mercado</i>	4,06%

En el tercer escenario solo ocurre una variación en el precio de la betaína.

Tabla 22. Resultados del tercer escenario del análisis de sensibilidad.

<i>Costo real Betaína (\$/kg)</i>	1,80
<i>Costo supuesto Betaína (\$/kg)</i>	1,26
<i>PVM base (\$/kg)</i>	1239,66
<i>PVM base (\$/g)</i>	1,24
<i>PVM mercado (\$/kg)</i>	1250
<i>PVM mercado (\$/g)</i>	1,25
<i>PVM escenario 3 (\$/kg)</i>	1212,08
<i>PVM escenario 3 (\$/g)</i>	1,21
<i>Margen porcentual base</i>	2,22%
<i>Margen porcentual mercado</i>	3,03%

Se modificó el precio de las tres materias primas simultáneamente para estudiar el efecto sobre el precio mínimo de venta.

Tabla 23. Resultados de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad.

<b><i>PVM base (\$/kg)</i></b>	<i>1239,66</i>
<b><i>PVM base (\$/g)</i></b>	<i>1,24</i>
<b><i>PVM mercado (\$/kg)</i></b>	<i>1250</i>
<b><i>PVM mercado (\$/g)</i></b>	<i>1,25</i>
<b><i>PVM combinado (\$/kg)</i></b>	<i>1118,96</i>
<b><i>PVM combinado (\$/g)</i></b>	<i>1,12</i>
<b><i>Margen porcentual base</i></b>	<i>9,74%</i>
<b><i>Margen porcentual mercado</i></b>	<i>10.48%</i>

Finalmente se obtiene un nuevo flujo de caja usando los resultados de la variación combinada de las materias primas. Utilizando como referencia el precio de mercado de la vitamina B12 se establece un precio de venta al público y se calcula un TIR y un VAN para el proyecto.

Tabla 24. Precio de venta al público dados los resultados de la combinación de escenarios del análisis de sensibilidad.

<b><i>PV de mercado (\$/kg)</i></b>	<i>1250</i>
<b><i>PV de mercado (\$/g)</i></b>	<i>1,25</i>
<b><i>PVP (\$/kg)</i></b>	<i>1244</i>
<b><i>PVP (\$/g)</i></b>	<i>1,24</i>
<b><i>VAN (\$)</i></b>	<i>1287682,9</i>
<b><i>TIR</i></b>	<i>21,58%</i>

Además, se obtiene un nuevo tiempo de recuperación de la inversión resumido en la siguiente tabla.

Tabla 25. Tiempo de retorno de inversión de la planta.

<i>Último año en negativo</i>	4
<i>Valor absoluto del año (\$)</i>	144299,92
<i>Flujo de caja del siguiente año (\$)</i>	240617,15
<i>Payback (años)</i>	4,6

La modificación del precio de las materias primas, efectuado en cada escenario, no logra disminuir el precio de venta mínimo de la vitamina B12 lo suficiente al punto de generar un margen significativo con respecto al precio de mercado establecido. Sin embargo, al combinar los tres escenarios analizados, el producto alcanza un margen de 9.74% con respecto al precio base y de 10.48% con respecto al precio de mercado volviendo al producto más competitivo.

El escenario que marca una mayor disminución del precio de venta mínimo es el escenario 1 correspondiente a una disminución del 30% del precio de la melaza teniendo el efecto de disminuir el precio de venta mínimo un 4.25% con respecto al precio base del proyecto y un 5.04% con respecto al precio de mercado. El resto de las materias primas tienen una reducción menor en el precio de venta mínimo siendo la betaína la materia prima significativa que menor impacto tiene en la reducción del precio.

Al encontrar que el producto tiene un margen positivo con respecto al precio de mercado se considera un precio de venta al público ligeramente inferior al precio de mercado y se calculan los indicadores económicos TIR, VAN y tiempo de recuperación dando como resultado un TIR del 21,58%, un VAN de 1'287,682.9 USD y un tiempo de recuperación de 4,6 años demostrando que es este caso el proyecto sería económicamente viable considerando que una planta química se considera rentable con un tiempo de recuperación inferior a 10 años (*Zugarramurdi & Parín, 1998*).

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El presente estudio logró demostrar la viabilidad técnica para la producción de vitamina B12 a partir de melaza residual de la industria azucarera pero no la viabilidad económica considerando el precio de mercado establecido para el análisis debido al minúsculo margen de beneficio entre el precio mínimo de venta (PVM) y el precio de venta de mercado. Como se demostró en el análisis de sensibilidad, para que cambie el escenario propuesto inicialmente se tendría que buscar una forma de abaratar el costo de las materias primas mediante la búsqueda de proveedores que las faciliten a menor precio. Si se lograra una disminución de al menos el 30% en las tres materias primas más significativas, se tendría un margen del 12% aproximadamente obteniendo un proceso con un TIR de 22% y con un VAN de 1'287,682.9 USD para un precio de venta al público (PVP) de 1244 USD/kg volviendo al proyecto más atractivo para la inversión.

Otra forma de aumentar la rentabilidad de la planta sería mediante el desarrollo y mejora de nuevas tecnologías que permitan al proceso volverse económicamente competitivo. Por ejemplo, en cuanto a la productividad de la bacteria a utilizar, es de conocimiento que la farmacéutica francesa Sanofi-Aventis posee una bacteria *P. Denitrificans* modificada genéticamente que presenta una productividad de 300 mg/l de vitamina B12. También se podría intentar reducir los costos fijos de inversión mediante el desarrollo de nuevos métodos de separación post-fermentación que reduzcan la cantidad de equipos requeridos. Se requeriría más investigación para producir una bacteria con alta productividad que pueda ser adquirida fácilmente o distintas formas de separación.

Para mejorar la presión del análisis económico se requeriría el uso de un simulador que permita modificar diversas variables del proceso con el fin de obtener una mayor cantidad de información sobre todo en los balances de masa y energía o mayor precisión en el dimensionamiento de los equipos principales permitiendo la construcción de diagramas mecánicos o de diseñar el sistema de control y obtener mayor precisión en el precio de estos componentes del análisis.

Finalmente, para validar la productividad de la bacteria utilizada en el diseño se podrían realizar ensayos de laboratorio. El fin de esto además es de investigar si se puede mejorar la productividad de la bacteria al utilizar cierta composición del medio de cultivo o si incluso se pudiese mejorar la producción mediante la modificación genética del microorganismo. También para obtener otra información de utilidad como si la melaza a utilizar para el proceso de producción puede servir para alcanzar la productividad estimada en el proyecto.

## 6. BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

- Alibaba. (2022). non lactose fermenters in stool johnson su compost bioreactor starting materials biorreactor 100000 l. *Obtenido de* [https://www.alibaba.com/product-detail/non-lactose-fermenters-in-stool-johnson\\_1600389109830.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_title.e17c5268LKtSc7](https://www.alibaba.com/product-detail/non-lactose-fermenters-in-stool-johnson_1600389109830.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.e17c5268LKtSc7)
- Alibaba. (2021). Magnesium Sulphate Epsom Salt Mgso4 99.5% white crystal. *Obtenido de* [https://www.alibaba.com/product-detail/Mgso4-Magnesium-Sulfat-Magnesium-Sulphate-Epsom\\_743185105.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_title.1ddc2baaeNOGsV&s=p](https://www.alibaba.com/product-detail/Mgso4-Magnesium-Sulfat-Magnesium-Sulphate-Epsom_743185105.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.1ddc2baaeNOGsV&s=p)
- ARCSA. (2017). Norma Sanitaria para el Control de Suplementos Alimenticios. *Obtenido de* [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/02/Resoluci%C3%B3n\\_ARCSA-DE-028-2016-YMIH\\_NTS\\_SUPLEMENTOS\\_ALIMENTICIOS.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/02/Resoluci%C3%B3n_ARCSA-DE-028-2016-YMIH_NTS_SUPLEMENTOS_ALIMENTICIOS.pdf)
- Asamblea Nacional. (2005). Código Tributario. *Obtenido de* [https://www.quito.gob.ec/documents/Portal\\_tributario/Normativa/Ley/CODIGO\\_TRIBUTARIO\\_ACT.pdf](https://www.quito.gob.ec/documents/Portal_tributario/Normativa/Ley/CODIGO_TRIBUTARIO_ACT.pdf)
- Balabanova, L., Averianova, L., Marchenok, M., Son, O., & Tekutyeva, L. (2021). Microbial and Genetic Resources for Cobalamin (Vitamin B12) Biosynthesis: From Ecosystems to Industrial Biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4522. <https://doi.org/10.3390/ijms22094522>
- Brock, A. L., Kästner, M., & Trapp, S. (2017). Microbial growth yield estimates from thermodynamics and its importance for degradation of pesticides and formation of biogenic non-extractable residues. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 28(8), 629–650. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2017.1365762>
- Carbonero, P. (1975). Bioquímica de las fermentaciones . Madrid: E.T.S ingenieros agrónomos de Madrid.
- CIP. (2003). Norma técnica para emisiones a la atmósfera de fuentes fijas . *Obtenido de* <https://www.cip.org.ec/attachments/article/1357/NORMA%20EMISIONES.pdf>
- Cazares, N. (2016). Concepto de afinidad. *Obtenido de SlideShare:* <https://es.slideshare.net/NayeliCazaresEstrada/concepto-de-afinidad-especificidadeficacia-potencia-actividad-intrnsecaclasificacin-de-los-receptores-segn-su-ligandocolinrgicos-adrenrgicos-dopaminrgicos-serotoninrgicos-gabargicos>
- CEUPE. (2018). Fermentación. *Obtenido de* <https://www.ceupe.com/blog/que-es-lafermentacion.html>

- Doran, P. (2013). *Fed-Batch Operation of a Mixed Reactor*. En *Bioprocess Engineering Principles*. Elsevier. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/fed-batch-operation>
- El Universo. (2020). *La demanda de la vitamina C y los complejos B subió en medio de emergencia en Ecuador*. Obtenido de <https://www.eluniverso.com/noticias/2020/06/13/nota/7870683/demanda-vitamina-c-complejos-b-subio-medio-emergencia/>
- Eugenomic. (2020). *Inhibidor enzimático*. Obtenido de <https://eugenomic.com/recursos/glosario/inhibidor/>
- Fernández, J. (2014). *Cuantificación del crecimiento y la productividad*. Obtenido de Universidad de Almería: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1generalidades/1-4-crecimientoyproductividad.html#:~:text=Es%20el%20par%C3%A1metro%20que%20mide,g%20%2D3%20dia%2D1.>
- Gilces, P., & Veloz, P. (2006). *Estudio del uso de nutrientes de la levadura para mejorar la producción de alcohol etílico*. Obtenido de Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.u.gu.edu.ec/bitstream/redug/737/1/975.pdf>
- Godoy, M. (2013). *Patología descriptiva, cambios morfológicos, signos clínicos*. Obtenido de [https://www.marcosgodoy.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=202:patologia-descriptiva-cambios-morfologicos-signos-clinicos&catid=189:danocelular&Itemid=435&lang=es#:~:text=Los%20cambios%20morfol%C3%B3gicos%20se%20refieren,son%20caracter%C3%A](https://www.marcosgodoy.com/index.php?option=com_content&view=article&id=202:patologia-descriptiva-cambios-morfologicos-signos-clinicos&catid=189:danocelular&Itemid=435&lang=es#:~:text=Los%20cambios%20morfol%C3%B3gicos%20se%20refieren,son%20caracter%C3%A)
- INEC. (2019). *Encuesta estructural empresarial*. Obtenido de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-a-empresas/>
- INEC. (2021). *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continúa*. Obtenido de [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2020/Boletin%20Tecnico%20ESPAC%202020.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2020/Boletin%20Tecnico%20ESPAC%202020.pdf)
- INEN. (2008). *Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes*. Obtenido de <https://www.cip.org.ec/attachments/article/1579/PROPUESTA%20ANEXO%201.pdf>
- Li, K., Peng, W., Zhou, J., wei, S., & Cheng, X. (2013). *Establishment of beet molasses as the fermentation substrate for industrial vitamin B 12 production by Pseudomonas denitrificans*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(9), 1730–1735. <https://doi.org/10.1002/jctb.4025>
- Marie Sych, J., Lacroix, C., & Stevens, M. J. A. (2016). *Vitamin B 12 - Physiology, Production and Application*. In *Industrial Biotechnology of Vitamins*,

*Biopigments, and Antioxidants* (pp. 129–159). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527681754.ch6>

Martens, H. B. M. W. D. J. J.-H. (2002). *Microbial production of vitamin B 12*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(3), 275–285. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0902-7>

Mediline. (2017). *Metabolito*. Obtenido de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002258.htm#:~:text=Es%20cual%20quier%20sustancia%20producida%20durante,%C3%A1rmaco%20por%20parte%20del%20cuerpo>.

Manzanares, W., & Hardy, G. (2021). *Farmaconutrición de la vitamina B12 para COVID-19*. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*, 4(1), 65–69. <https://doi.org/10.35454/rncm.v4n1.187>

Ministerio del Ambiente . (2004). *Ley de Gestión Ambiental* . Obtenido de <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/LEY-DE-GESTION-AMBIENTAL.pdf>

Ministerio del Trabajo . (2005). *Código del Trabajo* . Obtenido de <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/11/C%C3%B3digo-de-Tabajo-PDF.pdf>

Morales, N. (2020). *Riboswitches: sensores e interruptores bacterianos*. *BioTecnología*, 8-28. Pollak, P. (2011). *Fine chemicals: the industry and the business*. Hoboken: Wiley & Sons.

MSP. (2015). *Cantidades referenciales de medicamentos*. Obtenido de <https://subastademedicamentos.compraspublicas.gob.ec/material1.html>

Nishio, N., Ueda, M., Omae, Y., Hayashi, M., & Kamikubo, T. (1976). *Utilization of Hydrocarbons and Vitamin B 12 Production by Bacillus badius*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 40(10), 2037–2043. <https://doi.org/10.1080/00021369.1976.10862355>

PharmaCompass. (2022). *Vitamin B12*. Obtenido de <https://www.pharmacompass.com/price/vitamin-b12-5311498>

Secretaría de Seguridad Argentina. (2016). *Precursores Químicos*. Obtenido de <https://www.mpf.gob.ar/procunar/files/2016/11/PRECURSORES-QU%C3%8DMICOSManual-b%C3%A1sico.pdf>

Seegeritz, C. (2017). *Cell Culture*. Obtenido de Elsevier Public Health Emergency Collection: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149418/>

Selleckchem. (2022). *5,6-Dimethylbenzimidazole*. Obtenido de <https://www.selleckchem.com/products/5-6-dimethylbenzimidazole.html>

- Shrikant, S., & et. al. (2006). *Biotechnological Production of Vitamins*. Food Technol. Biotechnol., 44, 381-396.
- Superintendencia de Compañías . (1999). Ley de Compañías . Obtenido de [https://www.supercias.gob.ec/bd\\_supercias/descargas/lotaip/a2/Ley\\_Compa%C3%B1as.pdf](https://www.supercias.gob.ec/bd_supercias/descargas/lotaip/a2/Ley_Compa%C3%B1as.pdf)
- Superintendencia de Compañías . (2010). Código Orgánico de Producción, Comercio e Inversiones . Obtenido de <https://www.correosdelecuador.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/11/COPCI.pdf>
- Superintendencia de Poder del Mercado . (2012). Ley Orgánica de Regulación y Control del Poder de Mercado. Obtenido de <https://www.planificacion.gob.ec/ley-organica-de-regulacion-y-control-del-poder-de-mercado/>
- Tellez, D. (2004). Caracterización de las melazas empleadas en el proceso fermentativo de las destilería San Martín. *Santiago de Cali: Universidad del Valle. Facultad de Salud. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico*. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8279/tesis26.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Torres, A. (1996). *Evaluación de los parámetros cinéticos de la ecuación de Monod*. Ingeniería e investigación, 123-138.
- Vela-García, N., Bolonio, D., García-Martínez, M.-J., Ortega, M. F., Almeida Streitwieser, D., and Canoira, L., *Biojet fuel production from oleaginous crop residues: thermoeconomic, life cycle and flight performance analysis*, *Energy Convers. Manag.*, vol. 244, (2021), p. 114534, doi: 10.1016/j.enconman.2021.114534.
- Veritrade. (2018). 293626: VITAMINA B12 Y SUS DERIVADOS. Obtenido de <https://www.veritradecorp.com/es/mexico/importaciones-y-exportaciones/vitamina-b12-y-sus-derivados/293626>
- Zhang, Y., Liu, J.-Z., Huang, J.-S., & Mao, Z.-W. (2010). *Genome shuffling of Propionibacterium shermanii for improving vitamin B12 production and comparative proteome analysis*. *Journal of Biotechnology*, 148(2–3), 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.05.008>
- Zugarramurdi, A., & Parín, M. (1998). *Ingeniería Económica Aplicada a la Industria*. Mar del Plata: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Obtenido de <https://doi.org/10.35454/rncm.v4n1.187>

**ANEXO A: CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMO, VITAMINA B12 Y MEDIO DE FERMENTACIÓN**

Tabla 26. Concentración de microorganismo, vitamina B12 y medio de cultivo.

	<b>Biomasa</b>	<b>Medio de cultivo</b>	<b>Vitamina B12</b>
0	4.53	147.095	0.002
8	5.65	146.38	0.006
16	6.54	145.198068	0.009
24	7.65	142.787296	0.013
32	9	139	0.016
40	10	135	0.02
48	12	130	0.024
56	14	124	0.03
64	18	118	0.037
72	22	110	0.046
80	29	102	0.056
88	37	92	0.066
96	46	80	0.078
104	56	66	0.09
112	65	51	0.102
120	74	36	0.115
128	83	22	0.129
136	92	11	0.142
144	99	4	0.156
152	102	0	0.169
160	102	0	0.179
168	102	0	0.181
176	102	0	0.181
184	102	0	0.181

**ANEXO B: FLUJO DE CAJA DEL PROYECTO**

Tabla 27. Flujo de caja años 0-3

Años	0	1,00	2	3
Producción anual (kg/año)		1176,00	1176,00	1176,00
Ingresos por coproductos (\$/año)		0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)		1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)		1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)		1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)		-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)		-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)		-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)		76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)		-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)		66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)		44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	-	1106768,53	111218,58	111218,58

Tabla 28. Flujo de caja años 4-6

Años	4	5	6
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 29. Flujo de caja 7-8

Años	7	8	9
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 30. Flujo de caja años 10-12

Años	10	11	12
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 31. Flujo de caja años 13-15

Años	13	14	15
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 32. Flujo de caja años 16-18

Años	16	17	18
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 33. Flujo de caja años 19-21

Años	19	20	21
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58

Tabla 34. Flujo de caja años 22-25

Años	22	23	24	25
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1239,66	1239,66	1239,66	1239,66
Ingresos anuales producto (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Ingresos totales (\$/año)	1457843,16	1457843,16	1457843,16	1457843,16
Costes variables (\$/año)	-564275,20	-564275,20	-564275,20	-564275,20
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	76077,09	76077,09	76077,09	76077,09
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-9129,25	-9129,25	-9129,25	-9129,25
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	66947,84	66947,84	66947,84	66947,84
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58	111218,58

### ANEXO C: PAYBACK DEL PROYECTO

Tabla 35. Payback años 0-2

	Desembolso inicial	1	2
Flujos de caja (\$)	-1106768,53	111218,58	111218,58
Payback (\$)	-1106768,53	-995549,95	-884331,37

Tabla 36. Payback años 3-5

	3	4	5
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	-773112,78	-661894,20	-550675,62

Tabla 37. Payback años 6-8

	6	7	8
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	-439457,04	-328238,46	-217019,88

Tabla 38. Payback años 9-11

	9	10	11
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	-105801,29	5417,29	116635,87

Tabla 39. Payback años 12-14

	12	13	14
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	227854,45	339073,03	450291,61

Tabla 40. Payback años 15-17

	15	16	17
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	561510,20	672728,78	783947,36

Tabla 41. Payback años 18-20

	18	19	20
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	895165,94	1006384,52	1117603,10

Tabla 42. Payback años 21-23

	21	22	23
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58	111218,58
Payback (\$)	1228821,69	1340040,27	1451258,85

Tabla 43. Payback años 24-25

	24	25
Flujos de caja (\$)	111218,58	111218,58
Payback (\$)	1562477,43	1673696,01

**ANEXO D: FLUJO DE CAJA COMERCIAL DE LA COMBINACIÓN DE  
ESCENARIOS DEL ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD**

Tabla 44. Flujo de caja comercial años 0-2

Años	0	1	2
Años		1176,00	1176,00
Producción anual (kg/año)		0,00	0,00
Ingresos por coproductos (\$/año)		1244,00	1244,00
Precio de venta mínimo (\$)		1462944,00	1462944,00
Ingresos anuales producto (\$/año)		1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)		-422332,21	-422332,21
Costes variables (\$/año)		-773220,12	-773220,12
Costes fijos (\$/año)		-44270,74	-44270,74
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)		223120,92	223120,92
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)		-26774,51	-26774,51
Impuestos (IVA 12%) (\$)		196346,41	196346,41
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)		44270,74	44270,74
Amortización en positivo (\$)	-1106768,53	240617,15	240617,15

Tabla 45. Flujo de caja comercial años 3-5

Años	3	4	5
Años	1176	1176	1176,00
Producción anual (kg/año)	0,00	0,00	0,00
Ingresos por coproductos (\$/año)	1244,00	1244,00	1244,00
Precio de venta mínimo (\$)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes variables (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Costes fijos (\$/año)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Impuestos (IVA 12%) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Amortización en positivo (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 46. Flujo de caja comercial años 6-8

Años	6	7	8
Años	1176,00	1176,00	1176
Producción anual (kg/año)	0,00	0,00	0,00
Ingresos por coproductos (\$/año)	1244,00	1244,00	1244,00
Precio de venta mínimo (\$)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes variables (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Costes fijos (\$/año)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Impuestos (IVA 12%) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Amortización en positivo (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 47. Flujo de caja comercial años 9-11

Años	9	10	11
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 48. Flujo de caja comercial años 12-14

Años	12	13	14
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 49. Flujo de caja comercial años 15-17

Años	15	16	17
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 50. Flujo de caja comercial años 18-20

Años	18	19	20
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 51. Flujo de caja comercial años 21-23

Años	21	22	23
Producción anual (kg/año)	1176	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15	240617,15

Tabla 52. Flujo de caja comercial años 24-25

Años	24	25
Producción anual (kg/año)	1176	1176
Ingresos por coproductos (\$/año)	0,00	0,00
Precio de venta mínimo (\$)	1244,00	1244,00
Ingresos anuales producto (\$/año)	1462944,00	1462944,00
Ingresos totales (\$/año)	1462944,00	1462944,00
Costes variables (\$/año)	-422332,21	-422332,21
Costes fijos (\$/año)	-773220,12	-773220,12
Gastos de amortización y provisiones 25 años (\$)	-44270,74	-44270,74
Beneficios antes de impuestos (BAIT) (\$)	223120,92	223120,92
Impuestos (IVA 12%) (\$)	-26774,51	-26774,51
Beneficios después de impuestos (BDI) (\$)	196346,41	196346,41
Amortización en positivo (\$)	44270,74	44270,74
Flujos de caja (\$)	240617,15	240617,15

**ANEXO E: PAYBACK COMERCIAL DE LA COMBINACIÓN DE  
ESCENARIOS DEL ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD**

Tabla 53. Payback comercial años 0-2

	Desembolso inicial	1	2
Flujos de caja (\$)	-1106768,53	240617,15	240617,15
Payback (\$)	-1106768,53	-866151,38	-625534,22

Tabla 54. Payback comercial años 3-4

	3	4	5
Flujos de caja (\$)	240617,153	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	-384917,071	-144299,9178	96317,23

Tabla 55. Payback comercial años 6-8

	6	7	8
Flujos de caja (\$)	240617,153	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	336934,39	577551,54	818168,6932

Tabla 56. Payback comercial años 9-11

	9	10	11
Flujos de caja (\$)	240617,153	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	1058785,85	1299403,00	1540020,15

Tabla 57. Payback comercial años 12-14

	12	13	14
Flujos de caja (\$)	240617,153	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	1780637,3	2021254,457	2261871,61

Tabla 58. Payback comercial años 15-17

	15	16	17
Flujos de caja (\$)	240617,1528	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	2502488,763	2743105,915	2983723,068

Tabla 59. Payback comercial años 18-20

	18	19	20
Flujos de caja (\$)	240617,1528	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	3224340,221	3464957,374	3705574,526

Tabla 60. Payback comercial años 21-23

	21	22	23
Flujos de caja (\$)	240617,1528	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	3946191,679	4186808,832	4427425,985

Tabla 61. Payback comercial años 24-25

	24	25
Flujos de caja (\$)	240617,1528	240617,1528
Payback (\$)	4668043,137	4908660,29