

PROYECTO FINAL DE GRADO • INGENIERÍA EN MATERIALES

DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE GELES BIODEGRADABLES PARA EL CONTROL DE HUMEDAD EN SUELOS AGRÍCOLAS

MARINA PASCUAL

Directora: Dra. Vera A. Alvarez

Co-directora: Dra. Laura M. Sánchez



Facultad de
Ingeniería
Universidad Nacional de Mar del Plata



RINFI se desarrolla en forma conjunta entre el INTEMA y la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

PROYECTO FINAL DE GRADO • INGENIERÍA EN MATERIALES

DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE GELES BIODEGRADABLES PARA EL CONTROL DE HUMEDAD EN SUELOS AGRÍCOLAS

MARINA PASCUAL

Directora: Dra. Vera A. Alvarez

Co-directora: Dra. Laura M. Sánchez



Facultad de
Ingeniería
Universidad Nacional de Mar del Plata

Agradecimientos

Primero me gustaría agradecer a todo el grupo de CoMP (Grupo de Materiales Compuestos Termoplásticos). A Vera Alvarez por abrirme las puertas del grupo y por mantenerlas así, por la ayuda y la motivación. A Laura Sánchez por acompañarme desde que ingrese en la PPS hasta hoy. A Bárbara Tomadoni por ser parte de este trabajo, aunque no figures como co-directora fuiste fundamental, al igual que Laura, para hacer este proyecto. A ambas gracias por todo, por enseñarme, soportarme y ayudarme. Gracias a las tres por escucharme y dar un lugar a mis opiniones e ideas. Gracias a Andrés y María José por su ayuda en la realización del proyecto y su buena onda siempre.

Al resto del grupo, gracias a los que aportaron soluciones e ideas, a los que cebaron mate y a los que estuvieron con una sonrisa para hacer más ameno el trabajo. Les agradezco por hacerme sentir parte y por todos esos ratos dentro y fuera del laboratorio de risas y consejos. Además, agradezco a Claudia Casalangué y a Florencia Salcedo por su aporte en los ensayos en plantas.

A mis compañeros de la facultad por ayudarme y hacer disfrutables todas las horas que pasamos juntos. Les agradezco a los que están desde siempre y a los que estuvieron parte del camino.

A mis amigas Fernanda, Agustina y Manuela les agradezco por ser parte todos estos años. No solo me bancaron en la carrera sino en la vida. Estuvieron en momentos difíciles y me ayudaron a seguir. Gracias por su amistad y compañía desde el colegio hasta hoy.

Cintia, Julieta, Lucas y Valentina, agradezco haberlos conocido en la carrera o gracias a ella. Siempre voy a estar agradecida por ustedes, pasaron de conocidos a amigos y son lo más lindo que me llevo de todo esto. Les agradezco por el tiempo dentro y fuera de la facultad, desde las juntadas de estudio hasta las birras. Por su amistad y su ayuda, gracias.

Y por último y más importante a mi familia. A mi papá y mi abuela, que aunque hoy no estén conmigo, no hubiera llegado hasta acá sin ellos. Gracias a mi mamá y a mi tía, sin ellas no hubiera podido hacer esta carrera. Les debo una página entera pero me contengo. Gracias infinitas, sin ustedes no sería nada. Mamá no alcanzan ni las gracias infinitas para vos.

Resumen

Actualmente nos enfrentamos a las consecuencias del uso desmedido de los recursos naturales por parte del hombre. El cambio climático es un problema que no puede seguir ignorándose y con el paso del tiempo conceptos como “ecológico”, “sustentable” y “sostenible” se afianzan en la ciencia para revertir el daño causado por el hombre. A lo largo de los años, el crecimiento de la población mundial ha impulsado la producción de alimentos. La agroindustria es uno de los principales sectores donde prácticas que atentan contra el medio ambiente y la salud de la población se llevan a cabo. En este contexto, surge como desafío crear e implementar alternativas sustentables que hagan un uso más racional de los recursos y velen por la salud de la población. Siendo el agua uno de los recursos más esenciales y valiosos, cuyo consumo actual supone un riesgo para la supervivencia de ecosistemas y la salud del hombre, resulta primordial administrarlo de manera responsable.

En el presente trabajo se propuso la obtención de hidrogeles a base de quitosano para utilizarlos como acondicionadores de suelo, específicamente para control de humedad, con el fin de reducir el consumo del agua utilizada para riego de cultivos en el sector agrícola. El quitosano es un polímero catiónico natural biodegradable proveniente de los exoesqueletos de crustáceos. En Argentina estos exoesqueletos son un residuo desaprovechado de la industria pesquera que actualmente se almacena a predios abiertos y cuya utilización mitigaría la contaminación que producen, además de permitir el aprovechamiento de un recurso de origen natural. El quitosano tiene la capacidad de activar mecanismos de defensas en las plantas, generando barreras químicas y físicas contra agentes patógenos que, de esta manera, su uso en suelos podría no sólo mejorar el control de humedad sino también incrementar el crecimiento de las plantas. Por estos motivos se seleccionó este biopolímero para conformar los hidrogeles.

Primero se caracterizó el quitosano mediante la determinación de su peso molecular por el método viscosimétrico, y de su grado de desacetilación por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier. Para la obtención de hidrogeles se utilizó el método de separación de fases, para lo cual se gotearon diferentes soluciones de quitosano y ácido acético en una solución alcalina de hidróxido de sodio. De esta manera, se obtuvieron cinco hidrogeles con capacidades de hinchamiento en el rango de 95-100 %. Dado que estos valores se encontraban por debajo del

grado de hinchamiento objetivo, se incorporó alginato de sodio en la formulación, otro polímero de origen natural, con el fin de mejorar las propiedades de absorción de agua. Aprovechando la naturaleza aniónica de este polímero se buscó formar un complejo polielectrolito con el quitosano, incorporando además cloruro de calcio como agente entrecruzante del alginato agregado. Se utilizaron dos métodos de obtención, obteniendo un grado de hinchamiento máximo de aproximadamente 2900 %.

Para optimizar la formulación en base a las propiedades de hinchamiento y la fracción gel se utilizó el Método Taguchi. Si bien no pudo corroborarse el modelo de predicción de Taguchi, el estudio sistemático permitió hallar la formulación apropiada para preparar hidrogeles con capacidad de hinchamiento de aproximadamente 7000 %. En comparación a otros hidrogeles con formulaciones similares, y teniendo en cuenta que el material desarrollado es 100 % biodegradable, los valores de hinchamiento reportados fueron prometedores. Se seleccionaron dos formulaciones con diferentes fracciones gel y se caracterizó su morfología, composición, propiedades térmicas, comportamiento de hinchamiento y se realizaron ensayos en plantas de lechuga para evaluar su comportamiento en suelos simulando sequía. Estos últimos determinaron que los hidrogeles pudieron controlar el contenido de humedad en los sustratos sometidos a estrés hídrico comparado con aquellos sin adición de hidrogeles (control). Sin embargo, cuando el régimen de riego fue constante, el contenido de quitosano presente en los hidrogeles inhibió el crecimiento de las plantas comparado con las plantas control.

Finalmente se realizó un análisis de factibilidad para la obtención de hidrogeles a escala industrial. Se obtuvo una Tasa Interna de Retorno (TIR) del 53 % y un tiempo de repago de 2 años. Teniendo en cuenta que la TIR es mayor a la tasa de retorno mínima aceptable (43,4 %) y que el tiempo de repago es menor a la mitad de la vida útil (5 años), el proyecto resulta rentable.

Índice de contenido

Agradecimientos	i
Resumen.....	ii
Índice de contenido.....	1
Capítulo 1: Introducción.....	4
1.1 Introducción	5
1.2 Objetivos.....	8
Capítulo 2: Hidrogeles a base de quitosano.....	10
2.1 Introducción	11
2.2 Objetivos	16
2.3 Materiales.....	16
2.4 Caracterización del quitosano.....	16
2.4.1 <i>Determinación del peso molecular</i>	16
2.4.2 <i>Determinación del grado de desacetilación</i>	20
2.5 Preparación de hidrogeles.....	21
2.6 Caracterización de los hidrogeles	23
2.6.1 <i>Determinación de la capacidad de hinchamiento</i>	23
2.7 Resultados y Discusión.....	24
2.7.1 <i>Peso molecular</i>	24
2.7.2 <i>Grado de desacetilación</i>	25
2.7.3 <i>Capacidad de hinchamiento</i>	26
2.8 Conclusiones	28
Capítulo 3: Hidrogeles a base de alginato de sodio y quitosano	29
3.1 Introducción.....	30
3.2 Objetivos	34
3.3 Materiales.....	34
3.4 Preparación de los hidrogeles	34
3.4.1 Hidrogeles de alginato	35

3.4.2	Hidrogeles de quitosano.....	36
3.5	Determinación de la capacidad de hinchamiento	37
3.6	Resultados	38
3.7	Conclusiones	40
Capítulo 4: Diseño de parámetros por el Método Taguchi		41
4.1	Introducción	42
4.2	Objetivos	45
4.3	Materiales.....	45
4.4	Preparación de los hidrogeles	45
4.5	Diseño experimental	46
4.6	Determinación de la capacidad de hinchamiento	48
4.7	Determinación de la fracción gel	48
4.8	Resultados y Discusión.....	49
4.9	Conclusiones	53
Capítulo 5: Caracterización de hidrogeles a base de alginato y quitosano.....		54
5.1	Introducción.....	55
5.2	Objetivos	56
5.3	Materiales y métodos.....	56
5.3.1	Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	56
5.3.2	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	57
5.3.3	Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	57
5.3.4	Análisis termogravimétrico (TGA).....	58
5.3.5	Curvas de hinchamiento.....	58
5.3.6	Efecto de hidrogeles en sustratos y plantas de lechuga.....	58
5.4	Resultados	59
5.4.1	Caracterización morfológica	59
5.4.2	Caracterización cualitativa.....	67
5.4.3	Caracterización térmica	70
5.4.4	Comportamiento de hinchamiento.....	73
5.4.5	Caracterización en plantas de lechuga	75
5.5	Conclusiones	77
Capítulo 6: Evaluación económica Proyecto SEAGEL		79

6.1	Resumen ejecutivo	80
6.2	Antecedentes	81
6.3	Análisis de mercado	81
6.3.1	Análisis de las necesidades del mercado	81
6.3.2	Mercado	83
6.3.3	Segmentación del mercado	89
6.3.4	Competencia nacional e internacional	90
6.3.5	Participación objetivo en el mercado	90
6.4	Plan de negocios	94
6.5	Análisis económico a escala industrial	95
6.5.1	Industrialización del proceso productivo	95
6.6	Justificación económica	100
6.6.1	Estimación de la inversión requerida	100
6.6.2	Costos de producción	102
6.7	Rentabilidad	108
6.8	Conclusiones	110
	Conclusiones generales y trabajos futuros	112
	Bibliografía	115

Capítulo 1:

Introducción

1.1 Introducción

La agricultura consiste en una serie de actividades que fomentan procesos biológicos involucrando crecimiento y reproducción para generar recursos de valor. Típicamente los recursos suelen ser plantas y animales, como alimento y fibra, aunque varios productos de la agricultura se utilizan con otros propósitos¹. Actualmente, la agroindustria contribuye a la degradación de procesos ecológicos importantes que sostienen la vida en la tierra, agravando el cambio climático, llevando a pérdidas de la integridad de biosferas, destrucción de tierras y acumulación de desechos en los océanos². Se considera una actividad no sustentable debido a que consume los recursos naturales a una velocidad mayor a la que estos son regenerados, es decir, depende de recursos que son no renovables.

El agua es un recurso renovable siempre que sea utilizado de manera controlada y racional, de lo contrario puede ser considerado como un recurso no renovable. Globalmente, más del 70 % del agua potable es usada en agricultura. Adicionalmente, la demanda de agua para agricultura está aumentando con el fin de satisfacer el incremento en la demanda de alimentos debido al crecimiento de la población mundial. Para 2050, alimentar un planeta con nueve billones de individuos requeriría un 50 % de aumento en la producción agrícola y un 50 % de aumento en extracciones de agua³.

Muchas regiones del mundo se encuentran enfrentando serios problemas en relación a la falta de agua. La variabilidad de las lluvias, el aumento de frecuencia de sequías e inundaciones y las variaciones de temperatura del suelo son algunas de las consecuencias del cambio climático. Como resultado de éstas, cada año hay importantes pérdidas de cultivos que representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial. En un mundo con una población creciente es esencial restaurar las tierras degradadas y usar conscientemente los recursos naturales⁴.

Uno de los principales desafíos para la agricultura es la producción de cultivos en tierras secas, donde la mayor fuente de agua es la lluvia, que como fue mencionado anteriormente puede ser errática, especialmente en zonas semiáridas y áridas. Generalmente, en el sector agrícola, los productores, planificadores y aquellos que toman decisiones políticas al respecto ponen mayor énfasis en incrementar la productividad inmediata en lugar de optar por un uso del suelo sustentable a largo plazo⁵.

En este contexto surge la necesidad de implementar un sistema de agricultura sustentable o agroecológico, basado en utilizar de manera racional los recursos agrícolas, suelos, agua e insumos. Su objetivo principal es satisfacer los requerimientos alimenticios y no perjudicar la calidad ambiental ni la salud de los productores y la sociedad en general¹. Para esto es necesario conservar los recursos y el medio ambiente y producir alimentos sanos y seguros a un costo razonable.

Ciertos sistemas de cultivos agroecológicos probaron su capacidad para cumplir con las expectativas mundiales en cuanto a producción de alimentos de manera sustentable y eficiente. Análisis cuantitativos recientes demostraron que estos sistemas pueden superar a los monocultivos manipulados por químicos en un amplio rango de áreas importantes para el ecosistema, además de producir suficientes cosechas. Los sistemas agroecológicos de cultivo pueden producir cosechas iguales o mayores que la agricultura de monocultivos actual².

Una manera de resolver el problema de la escasez de recursos hídricos, especialmente en zonas áridas, es la utilización de hidrogeles como acondicionadores de suelos, particularmente para control de humedad de los mismos. Los hidrogeles son materiales constituidos mayormente por polímeros levemente entrecruzados que pueden absorber y retener grandes cantidades de agua y soluciones acuosas en su red tridimensional, sin disolverse. Estos representan una solución para el almacenamiento de agua, la cual disminuye el requerimiento hídrico y aumenta la productividad del suelo sin destruir el medio ambiente y los recursos naturales.

Si se colocan los hidrogeles en los alrededores de la raíz, estos actúan como pequeñas reservas de agua y liberándola de manera sostenida hacia la raíz por una diferencia de presión osmótica. Debido a la variación de volumen del hidrogel se generan poros por donde puede ingresar aire, filtrarse el agua y permitir el crecimiento de raíz. No sólo actúan como reservas de agua sino que además parecen ser eficientes para su aplicación como acondicionadores de suelo, mejorando la tolerancia y el crecimiento de los cultivos en suelos arenosos⁶. Por estos motivos, el uso de hidrogeles en el sector agrícola está ganando aceptación.

La gran mayoría de los polímeros empleados para desarrollar materiales superabsorbentes están basados en poliacrilamida y poliacrilatos, que son derivados del petróleo y no se degradan fácilmente en el suelo. La poliacrilamida es considerada como no tóxica en su forma polimérica, pero la presencia de contenido residual del monómero acrilamida y otros intermediarios en el producto final puede tener efectos negativos diversos en el medio ambiente y en la salud de

animales y humanos. El monómero de acrilamida puede tener efectos tóxicos en el sistema respiratorio y nervioso de humanos o animales⁷.

Debido al contacto directo con la planta resulta en un gran riesgo utilizar este tipo de materiales para su aplicación en agricultura. La solución a este problema es desarrollar hidrogeles basados en polímeros de origen natural que se degraden progresivamente en el suelo, y que no impliquen un riesgo para la salud de los consumidores y el medio ambiente.

Generalmente, los biopolímeros pueden definirse en base a dos criterios: la fuente de origen y la biodegradabilidad. Para ser clasificado como un biopolímero, el polímero debe ser de origen natural (a partir de materiales naturales renovables), ser biodegradable o ambos¹¹. Los polímeros naturales pueden ser de origen animal, vegetal o microbiano (Fig. 1.1)¹². No todos los polímeros naturales son polímeros ecológicos o sustentables. La sustentabilidad depende de una variedad de cuestiones como la fuente del material, el proceso de obtención y la manera en que se trata al producto posterior a su uso. Los polímeros naturales biodegradables se definen como: "capaces de descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua, compuestos inorgánicos o biomasa, siendo el mecanismo predominante la acción enzimática de microorganismos y pudiendo medirse mediante exámenes estandarizados, en un periodo de tiempo definido, reflejando las condiciones de eliminación posibles"¹¹.

Los polímeros naturales están siendo utilizados en diversas aplicaciones debido a su abundancia, disponibilidad y renovabilidad. Dada la variedad de grupos funcionales que pueden estar presentes en ellos, se pueden emplear para el desarrollo de materiales con diversos fines tales como envases, contenedores, telas descartables, productos de higiene e insumos para la agricultura^{13,14}.

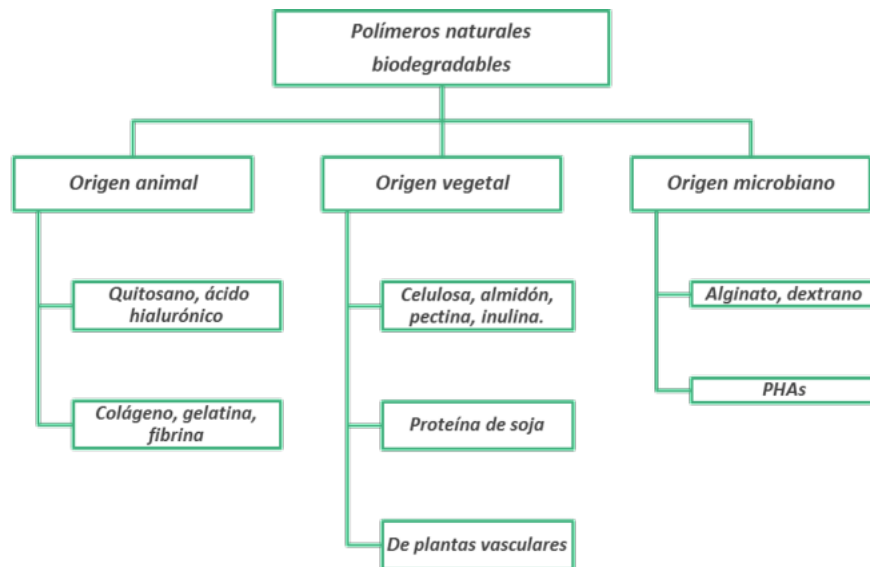


Figura 1.1. Polímeros biodegradables de origen natural¹⁴.

En el presente trabajo final se ha buscado proporcionar materiales potencialmente aptos para lograr que las plantas crecidas bajo condiciones controladas en sustratos combinados con hidrogeles biodegradables, sometidas a distintos regímenes de riego, posean mejor tasa de crecimiento y desarrollo respecto a las plantas crecidas en los sustratos controles (sustratos sin la adición de hidrogeles). El enfoque experimental se ha planteado a escala de laboratorio (desarrollando y caracterizando hidrogeles basados en polímeros naturales biodegradables), para lo cual se consideró imprescindible optimizar las propiedades de los materiales obtenidos previamente a su evaluación en ensayos en plantas.

1.2 Objetivos

El objetivo general del proyecto es diseñar, obtener y caracterizar geles biodegradables aptos para su aplicación en agricultura sustentable, particularmente para su uso en control de humedad en suelos. Con esto se pretende contribuir a impulsar la agricultura sustentable a través del aprovechamiento de los recursos y minimizando agentes externos y tóxicos que forman parte del ciclo productivo en la agricultura tradicional.

Para poder alcanzar el objetivo general se han propuesto los siguientes objetivos específicos:

1. Obtener hidrogeles biodegradables basados en quitosano.
2. Evaluar el efecto de las distintas variables de procesamiento y de formulación de los hidrogeles sobre sus características y propiedades finales.
3. Optimizar el proceso de obtención y la formulación del hidrogel para mejorar su comportamiento de hinchamiento.
4. Caracterizar los materiales obtenidos en términos de morfología, propiedades térmicas, capacidad de hinchamiento.
5. Evaluar los materiales obtenidos en plantas sometidas a estrés hídrico y riego controlado, en términos de humedad del sustrato, peso fresco y área de la biomasa.
6. Realizar un estudio de factibilidad económica del proyecto analizando la inversión, los costos y la rentabilidad de la creación de una planta para la obtención de los hidrogeles.

Capítulo 2:

Hidrogeles a base de quitosano

2.1 Introducción

Los hidrogeles son redes poliméricas levemente entrecruzadas, que pueden absorber y retener grandes cantidades de agua y soluciones acuosas. La habilidad de absorber agua surge de los grupos hidrofílicos presentes en las cadenas poliméricas que conforman su estructura. Además, tienen la habilidad de liberar gradualmente el 95 % del agua almacenada en la estructura cuando los alrededores se encuentran secos y rehidratarse cuando vuelven a ser expuestos a un medio acuoso¹⁵. Los entrecruzamientos deben estar presentes para evitar la disolución de las cadenas poliméricas hidrofílicas en la fase acuosa¹⁶.

Los hidrogeles comenzaron a recibir mayor atención durante el curso de los últimos 50 años por su potencial uso en un amplio rango de aplicaciones. Algunas de estas aplicaciones son: productos de higiene, agricultura, aditivos en alimentos, y productos farmacéuticos¹⁷. Además, debido a sus características físicas, químicas, propiedades biológicas, alta biocompatibilidad y versatilidad de fabricación, los hidrogeles se destacan como materiales prometedores en el campo biomédico¹⁸. En relación a su uso en la agricultura, las aplicaciones del hidrogel se pueden dividir en dos grandes grupos: (1) control de humedad en suelos, y (2) encapsulación y liberación controlada o sostenida de agroquímicos⁴.

Los polímeros lineales solubles en agua pueden ser entrecruzados para producir hidrogeles de diferentes maneras. La gelación une cadenas macromoleculares para la formación de estructuras poliméricas con una solubilidad dependiente de la naturaleza química de los materiales de partida. La mezcla que contiene agua y polímeros solubles ramificados de gran tamaño se denomina sol. El gel o también conocido como “polímero infinito” está compuesto por la mezcla de varios polímeros ramificados y de menor solubilidad. La transición de un sistema con polímeros ramificados a uno con “moléculas infinitas” se conoce como la transición sol-gel o gelación¹⁸.

El entrecruzamiento o gelación puede lograrse fundamentalmente a través de dos caminos: químico o físico. El entrecruzamiento químico forma hidrogeles mediante uniones covalentes entre las cadenas de polímero, generando uniones permanentes. Por el contrario, el entrecruzamiento físico forma hidrogeles mediante uniones reversibles en base a interacciones no covalentes, como interacciones iónicas, hidrofóbicas, electroestáticas, uniones hidrógeno o una combinación de estas¹⁹. Algunos de los métodos de entrecruzamiento químicos y físicos se resumen en la figura 2.1. La capacidad y cinética de hinchamiento, las propiedades mecánicas y

reológicas, la porosidad y otras propiedades de este tipo de materiales están estrechamente relacionadas al proceso de entrecruzamiento interviniente⁴.



Figura 2.1. Clasificación de los mecanismos de gelación para hidrogeles.

Para su aplicación en agricultura es muy importante controlar el grado de hinchamiento del hidrogel, así como también las cinéticas de absorción y liberación del agua o medio acuoso. La cantidad de agente entrecruzante empleado en la formulación, la temperatura y el pH son algunos de los factores que afectan el grado de hinchamiento. El grado de entrecruzamiento cambia el área disponible para la difusión dentro del hidrogel y por ende afecta la capacidad de hinchamiento. Las variaciones de pH del medio en el cual se encuentra sumergido el hidrogel originan cambios conformacionales de la cadena polimérica hidrofílica y cuando grupos ionizables se encuentran en la estructura polimérica, el pH de la solución impacta sobre la capacidad de hinchamiento. En relación a la temperatura, generalmente aumenta el grado de hinchamiento con el aumento de la misma debido a la expansión de la red y la desestabilización de las conexiones de la misma. Esto causa la expansión del hidrogel y permite la difusión de agua en la estructura⁴.

La mayoría de los hidrogeles actualmente presentes en el mercado son desarrollados a partir de polímeros sintéticos, siendo estos difíciles de degradar, comprometiendo así al medioambiente. En respuesta a estas limitaciones, los hidrogeles preparados a partir de polímeros naturales resultan atractivos debido a su biodegradabilidad, sustentabilidad y generalmente bajo costo de producción²⁰.

Dentro de los polímeros de origen natural, el quitosano es uno de los más estudiados para su uso en diversas aplicaciones. El quitosano se obtiene a partir de la quitina por su desacetilación parcial bajo condiciones alcalinas. La quitina, poli ($\beta(1\rightarrow4)$ -N-acetil-D-glucosamina) (ver Fig. 2.2.a), es un polisacárido natural de mucha importancia. Considerando la cantidad de quitina producida anualmente en el mundo, es el polímero natural más abundante después de la celulosa. La quitina se encuentra en la naturaleza formando componentes estructurales en los exoesqueletos de crustáceos (tales como camarones, cangrejos y langostinos, entre otras fuentes)²¹, y en las paredes celulares de hongos y levaduras²². En la Argentina los exoesqueletos son un residuo de la industria pesquera que se suelen depositar en predios a cielo abierto, o bien se entierran en el sur de nuestro país, constituyendo así un serio foco de contaminación ambiental. De esta manera, su aprovechamiento para generar recursos de mayor valor agregado sería altamente beneficioso.

El quitosano (ver Fig. 2.2.b) es un polímero catiónico semicristalino, además de ser no tóxico y biocompatible, este puede ser degradado por varias enzimas. Debido a estas propiedades se considera al quitosano como un biopolímero versátil que puede utilizarse en numerosas formas, como hidrogeles, y aplicaciones como medicina, cosmética y agricultura²³.

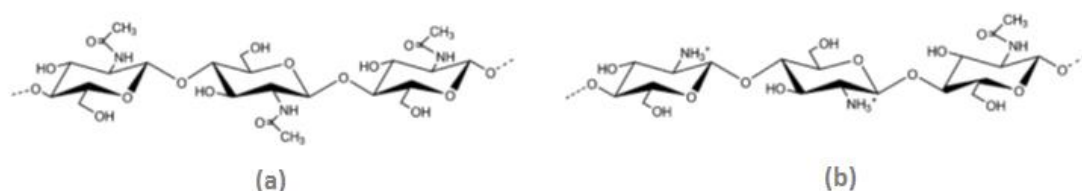


Figura 2.2. Estructura química de (a) quitina y (b) quitosano.

El grado de desacetilación, junto con la masa molar, afectan directamente a las propiedades fisicoquímicas (como solubilidad y conformación de cadena) y biológicas del quitosano²⁴. El grado de desacetilación es directamente proporcional a la solubilidad, viscosidad, biocompatibilidad y otras propiedades biológicas como actividad antimicrobiana, analgésica y hemostática. Al mismo tiempo, una disminución en el grado de desacetilación disminuye la cristalinidad y biodegradabilidad del quitosano. En el caso de la masa molecular la proporcionalidad es inversa²⁴.

El quitosano posee un pKa alrededor de 6,5, lo que implica que su densidad de carga varía en el rango de pH de 6-6,5 (ver Fig. 2.3). Por este motivo, la transición de quitosano soluble-insoluble en

medios acuosos ocurre en este rango, el cual es un rango conveniente para aplicaciones biológicas.

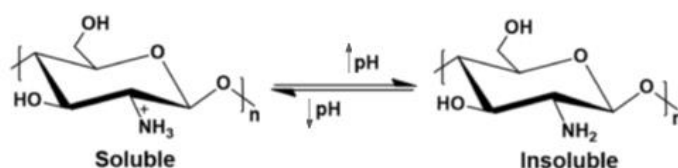


Figura 2.3. Equilibrio ácido-base del quitosano en función del pH del medio²².

Además de ser biodegradable y biocompatible, el quitosano activa mecanismos de defensa en las plantas, generando barreras químicas y físicas contra agentes patógenos. El quitosano se utiliza para estimular la inmunidad en las plantas para protegerlas ante microorganismos, lo cual mejora el crecimiento de la planta²⁵. Además de utilizarse para control de humedad en suelos, los hidrogeles de quitosano podrían entonces mejorar el crecimiento de la planta reduciendo el uso de fertilizantes y otros químicos.

Hay muchos métodos para preparar hidrogeles a base de quitosano, pero todos requieren de ciertos pasos para asegurar la estabilidad del hidrogel. Los hidrogeles de quitosano deben ser entrecruzados física o químicamente. Uniones permanentes en la red del hidrogel se forman por medio de entrecruzamiento químico a través de fotopolimerización, polimerización por radicales, reacciones enzimáticas y entrecruzamiento covalente con, por ejemplo, aldehídos. La naturaleza química de los hidrogeles es permanente e irreversible debido a procesos químicos que alteran la configuración de las moléculas. Por otra parte, el entrecruzamiento físico de hidrogeles de quitosano ocurre en respuesta a condiciones específicas como temperatura o pH y puede estar afectado por la concentración del polímero y otros componentes. La gelación es un problema complejo, debido a la naturaleza específica de la molécula de quitosano, muchas interacciones ocurren al mismo tiempo, afectando la transición sol-gel²⁴.

El quitosano puede gelarse sin aditivos por una exposición controlada en un medio alcalino en condiciones definidas. Así el método de separación de fases explota la variabilidad de solubilidad del quitosano de acuerdo al pH del medio acuoso. Los principales parámetros que deben considerarse en este caso son: las concentraciones de quitosano, de la solución ácida y de la solución alcalina (ver Fig. 2.4).

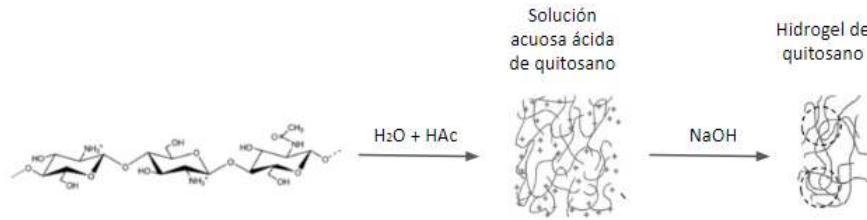


Figura 2.4. Obtención de hidrogeles de quitosano mediante entrecruzamiento físico por separación de fases.

Como se mencionó anteriormente, el quitosano es soluble en una solución acuosa ácida pero no en una básica. Es por este motivo que al cambiar el pH se puede inducir la separación de fases. Ya que esta ocurre por la neutralización del ácido acético en la solución de quitosano en un baño de hidróxido de sodio, la velocidad de solidificación depende tanto de la concentración de ácido acético en la solución como la concentración de hidróxido de sodio²⁶. En un ambiente alcalino, como lo es la solución de hidróxido de sodio, los grupos amino de la cadena molecular del quitosano se desprotonan. Esto lleva a la formación de una red tridimensional a partir de enlaces hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre las cadenas moleculares¹⁹.

Debido a que la solidificación del polímero ocurre vía el intercambio del solvente-no solvente, al principio este contacto ocurre en la superficie de la solución de polímero, y luego en el interior. La superficie solidificada retarda el intercambio entre el solvente y no solvente y disminuye la tasa de solidificación.

La concentración de quitosano afecta la estructura de dos maneras que ocurren de manera opuesta y en forma simultánea. Por un lado, el aumento de concentración aumenta la viscosidad de la solución, y por lo tanto disminuye la tasa de intercambio entre solvente y no solvente, lo cual se traduce en una estructura más abierta (mayor tamaño de poro). Sin embargo, el aumento de viscosidad también reduce la difusividad, dificultando la separación de fases, lo cual se traduce en una estructura más cerrada (menor tamaño de poro). Cuando la concentración de NaOH disminuye, la separación de fases se retrasa debido a la disminución en el potencial químico y la difusividad del NaOH en la solución de quitosano²⁷.

2.2 Objetivos

Los objetivos del presente capítulo fueron caracterizar el quitosano y obtener un hidrogel a base del mismo con el mayor grado de hinchamiento posible para su uso en control de humedad en suelos agrícolas.

2.3 Materiales

El quitosano (Q) comercial Parafarm fue adquirido de la Farmacia Homeopática Pereda (Mar del Plata, Argentina) y se utilizó sin tratamientos adicionales. El ácido acético (HAc), cloruro de sodio (NaCl), cloruro de calcio (CaCl₂) e hidróxido de sodio (NaOH) fueron adquiridos en Biopack (Buenos Aires, Argentina). En todas las formulaciones se utilizó agua destilada.

2.4 Caracterización del quitosano

2.4.1 Determinación del peso molecular

El peso molecular se determinó mediante el método viscosimétrico. El método viscosimétrico consiste en relacionar la viscosidad intrínseca y la masa molecular relativa del polímero y resulta útil para polímeros naturales por su sencillez y bajo costo. Utilizando la ecuación de Mark–Houwink–Sakurada se puede determinar la relación entre la viscosidad intrínseca y la masa molecular relativa del polímero²⁸.

La viscosidad relativa, η_r , para una solución diluida de polímero puede ser calculada mediante la ec. 2.1.

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} \quad (\text{ec. 2.1})$$

Donde η y η_0 son las viscosidades de la solución del polímero y del solvente puro respectivamente, t es el tiempo de salida de la solución de polímero y t_0 el tiempo de salida del solvente puro.

La viscosidad específica, η_{sp} , viene dada por el incremento relativo en la viscosidad de la solución de polímero respecto de la viscosidad del solvente (ec. 2.2).

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \eta_r - 1 \quad (\text{ec. 2.2})$$

Luego, la viscosidad específica por unidad de concentración se conoce como viscosidad reducida, η_{red} , y se calcula a partir de la ecuación 2.3.

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} = \frac{\eta_r - 1}{C} \quad (\text{ec. 2.3})$$

La viscosidad intrínseca, $[\eta]$, puede determinarse a partir de la viscosidad reducida, η_{red} , o a partir de la viscosidad inherente, η_{inh} , que es igual a $\frac{\ln(\eta_r)}{C}$, por extrapolación a concentración cero. La misma mide el volumen específico efectivo de un polímero aislado. Su valor depende del tamaño y forma de la molécula de soluto, así como de su interacción con el disolvente y la temperatura de trabajo. Para obtener un valor exacto de la viscosidad intrínseca de la solución de quitosano se promedian los valores obtenidos de $[\eta]$ de la extrapolación a concentración cero para los gráficos $\frac{\ln \eta_r}{C}$ y $\frac{\eta_{sp}}{C}$ vs C.

La viscosidad intrínseca se determina gráficamente empleando la ecuación de Huggins (ec. 2.4) que relaciona la viscosidad reducida con la concentración:

$$\eta_{red} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C \quad (\text{ec. 2.4})$$

Donde k_H es la constante de Huggins.

Luego, la masa en promedio viscoso, M_V , se obtiene a partir de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (ec. 2.5):

$$[\eta] = K M_V^\alpha \quad (\text{ec. 2.5})$$

Donde K y α son dos constantes que dependen del sistema.

Se debe señalar que las constantes de K y α reportadas en la literatura no tienen valores únicos como los tendría otro polímero para un sistema polímero–disolvente–temperatura dados, ya que se ha comprobado que la composición del quitosano, en términos de proporción de unidades N–acetiladas en sus cadenas, influye en su comportamiento reológico en solución y, por tanto, en los valores de K y α para un mismo sistema quitosano–disolvente–temperatura²⁸. Por lo que en el presente trabajo se utilizaron los valores reportados por Cervera y col. (2004)²⁹ y por Parada y col. (2004)³⁰ para el intervalo de grado de desacetilación correspondiente al de la muestra analizada. Los valores de K y α para el quitosano disuelto en ácido acético 0,1 mol.L⁻¹ y cloruro de sodio 0,2 mol.L⁻¹ fueron $1,81 \cdot 10^{-3}$ y 0,93, respectivamente.

Para determinar el peso molecular mediante el método viscosímetro se utiliza el “Viscosímetro Ubbelohde con nivel de bola suspendido” (ver Fig. 2.5). Las determinaciones con este viscosímetro se basan en la medida del tiempo que tarda en fluir una corriente de un flujo capilar del líquido a ensayar, entre dos señales del viscosímetro. El dispositivo consta de tres tubos de vidrio, un recipiente de reserva, un capilar, con el recipiente de medida y la bola de avance del líquido. Entre estas bolas se sitúan las marcas de la medida. El capilar termina en la parte inferior en un casquete esférico, por el que sale la muestra del capilar en forma de película delgada (nivel de bola suspendido).

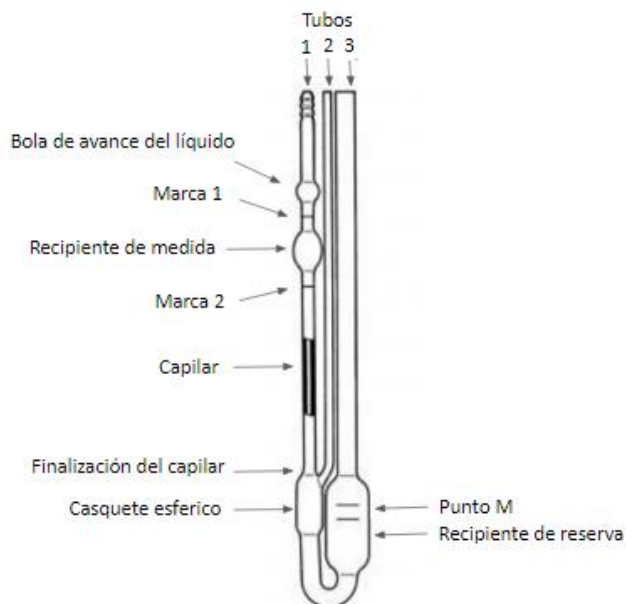


Figura 2.5. Viscosímetro Ubbelohde con nivel de bola suspendido.

Para las mediciones, el líquido se introduce a través del tubo 3. El tubo 2 se sella y por el tubo 1 se aplica la succión. El líquido asciende por el capilar hasta la Marca 1. En ese momento el líquido en el capilar no debe superar el punto M. Luego se frena la succión en el tubo 1 y el líquido desciende por el recipiente de medida.

Se preparó una solución de 1 g de quitosano en 100 mL de ácido acético $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ y cloruro de calcio $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$. Para completar la disolución se agitó la mezcla durante 24 h en un agitador magnético a 400rpm. Posteriormente, esta fue diluida en diferentes concentraciones para efectuar las mediciones correspondientes (ver Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Concentraciones de quitosano de cada muestra para la medición del peso molecular.

<i>Muestra</i>	<i>Concentración Quitosano</i> <i>[mol.L⁻¹]</i>
1	0
2	0,25
3	0,40
4	0,50
5	0,75

La muestra 1 corresponde al blanco, es decir, a la solución de ácido acético y cloruro de calcio sin quitosano. Esta medición es necesaria para calcular la viscosidad relativa de las otras muestras. Para cada muestra se midió con un cronómetro el tiempo que tardó el fluido en escurrir desde la marca 1 hasta la marca 2 (ver Fig. 2.5). Se realizó un triplicado de la medición de tiempo para cada muestra y se utilizó como valor final el promedio.

2.4.2 Determinación del grado de desacetilación

Como fue mencionado previamente, la caracterización del quitosano requiere la determinación del grado de desacetilación (GD). Este afecta las propiedades como la solubilidad, ya que varía la densidad de carga positiva del quitosano²². Las principales técnicas que se utilizan para obtener este valor son: potenciometría, resonancia magnética nuclear de protón, espectroscopia UV y espectroscopía infrarroja³¹.

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es una forma de espectroscopía vibracional que implica la interacción de la materia con la radiación en el rango medio del espectro infrarrojo. En particular, utiliza la transformada de Fourier como un método matemático para el desarrollo en serie de la curva obtenida. Las moléculas presentes en los compuestos del material poseen modos normales de vibración de sus enlaces, generando un espectro característico al interactuar con la radiación. Luego, los grupos funcionales pueden asociarse con bandas de absorción características en el espectro. El uso de espectroscopía infrarroja posee ciertas ventajas: es rápido y no requiere determinar la pureza de la muestra por separado como es el caso de otros métodos. Tiene un nivel de precisión aceptable, especialmente para grados de desacetilación altos³².

El uso de FTIR requiere la construcción de una línea de calibración utilizando las absorbancias de una banda de sondeo (BS), que varía su intensidad con el GD y una banda de referencia (BR), que no varía su intensidad con el GD. Las absorbancias de ambas bandas se determinan con el método de la base de línea³³.

Existen varias ecuaciones empíricas que permiten calcular el GD del quitosano mediante espectroscopía FTIR, todas ellas emplean un cociente entre la intensidad de una banda PB y RB. En un estudio realizado por Renata y col. (2012)³⁴, se presentan cuatro de estas ecuaciones. En base a

los resultados se escogieron dos de ellas para calcular el grado de desacetilación de la muestra de quitosano. La primera de las ecuaciones (ec. 2.6) surge en base a los cálculos estimados por Baxter y col. (1992)³².

$$GD\% = 100 - \frac{A_{1655}/A_{3450} \times 100}{1,33} \quad (\text{ec. 2.6})$$

En esta ecuación se utiliza la banda BS como la correspondiente a los estiramientos de los enlaces C=O y como banda BR, la correspondiente a los estiramientos del enlace O-H, donde A_{1655} y A_{3450} son sus respectivas absorbancias. La segunda ecuación (ec. 2.7) fue calculada por Brugnerotto y col. (2001)³¹ y utiliza como banda BS a la resultante de la flexión del grupo CH_2 y como banda BR, a la correspondiente al estiramiento del enlace CN, siendo A_{1420} y A_{1320} sus respectivas absorbancias. Se calcularon los grados de desacetilación de 25 muestras diferentes de quitosano y quitina mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y se graficaron en función de A_{1320}/A_{1420} , para posteriormente obtener la ecuación mediante regresión lineal.

$$GD\% = 100 - \frac{A_{1320}/A_{1420} - 0,3822}{0,03133} \quad (\text{ec. 2.7})$$

Para calcular los parámetros necesarios para dichas ecuaciones se midieron tres espectros del polímero. Se utilizó el modo de transmisión y para cada espectro se tomaron 96 escaneos en el rango $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ con un espaciado entre datos de $1,928 \text{ cm}^{-1}$ a $23 \text{ }^\circ\text{C}$ utilizando el espectrómetro Nicolet 6700 (Thermo Scientific, EE.UU.).

2.5 Preparación de hidrogeles

Se empleó el método físico de separación de fases para desarrollar hidrogeles de quitosano, el proceso de obtención se esquematiza en la Fig. 2.6. Para ello, en primer lugar, se disolvió el quitosano comercial en un medio de ácido acético, y esta solución fue posteriormente goteada sobre una solución alcalina de hidróxido de sodio. Las concentraciones de quitosano, ácido acético e hidróxido de sodio se tomaron como parámetros a optimizar tomando en cuenta las

propiedades de cada hidrogel obtenido. Cada una de las formulaciones testeadas se detalla en la Tabla 2.2.

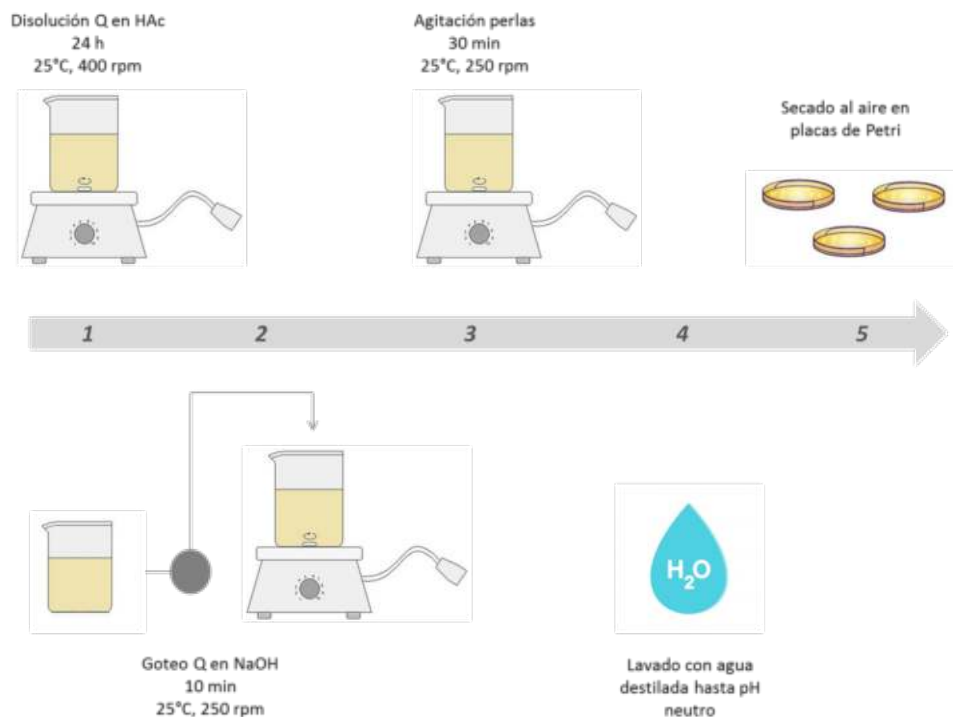


Figura 2.6. Esquema paso a paso de la obtención de hidrogeles de quitosano.

El goteo se realizó mediante el empleo de una bomba peristáltica cuyos parámetros de trabajo se establecieron basados en estudios previos del grupo CoMP como: 10 cm de altura de goteo, es decir, la distancia entre la solución de hidróxido de sodio y la aguja, una velocidad de agitación de 250 rpm, caudal de la bomba $0,02 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. La duración del goteo fue de aproximadamente 10 minutos. Las perlas obtenidas se mantuvieron en el medio alcalino bajo agitación constante durante 30 minutos. Finalmente, los hidrogeles se lavaron con agua destilada hasta pH neutro y se secaron a temperatura ambiente en placas de Petri recubiertas con teflón.

Tabla 2.2. Concentraciones de quitosano, ácido acético e hidróxido de sodio para cada hidrogel.

<i>Muestra</i>	<i>Concentración Q (% m/v)</i>	<i>Concentración HAc (% v/v)</i>	<i>Concentración NaOH (mol.L⁻¹)</i>
1	3,0	5,0	2,5
2	3,0	5,0	4,0
3	7,5	5,0	4,0
4	7,5	5,0	6,0
5	5,0	5,0	5,0
6	5,0	5,0	6,0
7	5,0	10,0	6,0

2.6 Caracterización de los hidrogeles

2.6.1 Determinación de la capacidad de hinchamiento

Para su aplicación en control de humedad en suelos, en una primera instancia, es necesario evaluar el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles. Para eso se calculó la curva de hinchamiento para las primeras horas en contacto con agua destilada. El grado de hinchamiento (GH) se calculó para cada tiempo según la ec. 2.8.

$$GH(\%) = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100 \text{ (ec. 2.8)}$$

Siendo M_t la masa para el tiempo t y M_0 la masa inicial.

Para determinar los valores de ambas masas, aproximadamente 0,1 g (M_0) de los hidrogeles se sumergieron en 10 mL de agua destilada. En el transcurso de 240 minutos, a diferentes tiempos, se retiraron las muestras del agua, se secaron superficialmente y se registró para cada una el peso de la muestra para ese tiempo (M_t).

2.7 Resultados y Discusión

2.7.1 Peso molecular

Teniendo en cuenta los valores de K y α para el quitosano en ácido acético $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ y cloruro de sodio $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ previamente mencionados de $1,81 \cdot 10^{-3}$ y $0,93$, respectivamente, y despejando la masa en promedio viscoso, M_V , de la ec. 2.5 se obtiene la ec. 2.9.

$$M_V = \left(\frac{[\eta]}{1,81 \cdot 10^{-3}} \right)^{1/0,93} \quad (\text{ec. 2.9})$$

El valor exacto de la viscosidad intrínseca de la solución de quitosano se obtiene a partir de la extrapolación a concentración cero para los gráficos de viscosidad inherente $\left(\frac{\ln \eta_r}{C}\right)$ y viscosidad reducida $\left(\frac{\eta_{sp}}{C}\right)$ en función de la concentración. En la siguiente figura (Fig. 2.7) se presentan las curvas obtenidas.

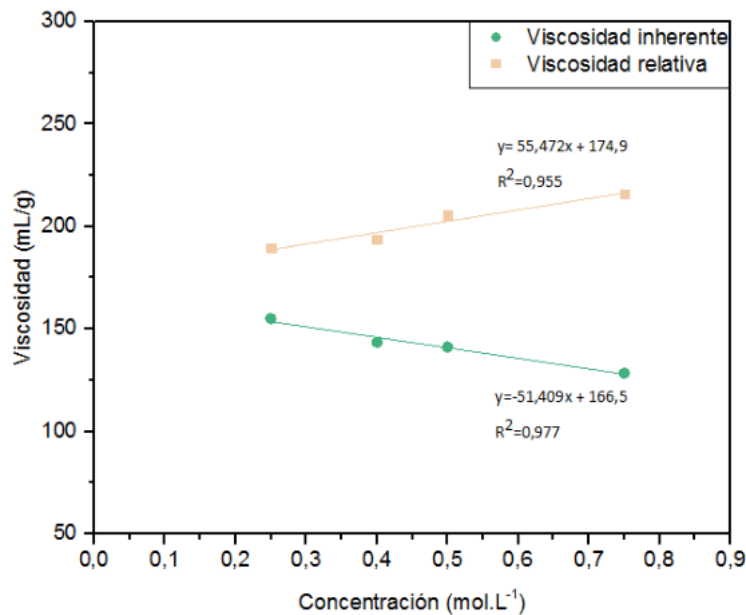


Figura 2.7. Curvas de viscosidad reducida y viscosidad inherente.

El promedio de ambas extrapolaciones da como resultado la viscosidad intrínseca, que en este caso fue de $170,7 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$. Introduciendo este valor en la ecuación 2.9 se obtuvo la masa en promedio viscoso del quitosano, $223.349 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ o 223 kDa.

Al aumentar la viscosidad intrínseca se espera ver un aumento en la masa molecular. Los resultados obtenidos en el presente capítulo se corresponden con aquellos obtenidos por Cervera y col. (2004)²⁹. Dichos autores caracterizaron dos quitosanos, con grados de desacetilación entre 79 y 85 %, por el método viscosímetro y obtuvieron masas molares de $309.000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($[\eta]=231 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$) y $290.000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($[\eta]=218 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

En base a su peso molecular, el quitosano puede clasificarse tres tipos: de alto peso molecular (mayor a 700 kDa), de medio peso molecular (entre 150-700 kDa) y de bajo peso molecular (menor a 150 kDa)³⁵. Debido a que se obtuvo un valor de 223 kDa, se puede decir que el quitosano utilizado en el presente trabajo es de peso molecular medio.

2.7.2 Grado de desacetilación

A partir de los espectros de FTIR del quitosano y el método de la línea base se obtuvieron los valores de las absorbancias para las ecuaciones 2.6 y 2.7. Se presentan estos valores y los GD resultantes en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Parámetros obtenidos del espectro FTIR de quitosano.

<i>Absorbancias</i>				<i>GD</i>	
<i>A₃₄₅₀</i>	<i>A₁₆₅₅</i>	<i>A₁₄₂₀</i>	<i>A₁₃₂₀</i>	<i>GD_{Ec.2.6}</i>	<i>GD_{Ec.2.7}</i>
0,136	0,019	0,012	0,011	89,4	81,7
0,115	0,020	0,013	0,011	86,8	86,4
0,140	0,028	0,013	0,010	85,0	86,9

Se obtuvieron dos rangos de grado de desacetilación según cada ecuación, estos fueron:

- Ecuación 2.6: $\text{GD}_{\text{Ec.1}} = 87 \pm 2 \%$

- Ecuación 2.7: $GD_{Ec.2} = 85 \pm 3 \%$

A pesar de que ambas ecuaciones se presentan en la bibliografía como aquellas que reportaron los resultados más similares a otras técnicas y ambas proporcionan resultados similares, la ecuación 2.6 es más susceptible al contenido de humedad de la muestra. Esto se debe a que la banda de estiramiento del grupo OH es susceptible a la humedad y, además, se encuentra solapada con la banda de estiramiento del grupo NH₂, que varía con el GD. Por este motivo, se considera que los valores obtenidos mediante la ecuación 2.7 representan una mejor estimación del GD.

El grado de desacetilación se considera bajo cuando se encuentra entre 55-70 %, medio entre 70-85 %, alto entre 85-95 % y ultra alto entre 95-100 %³⁶. Los valores que se obtuvieron para el grado de desacetilación del quitosano (82-88 %) se encuentran entre los rangos de medio y alto.

2.7.3 Capacidad de hinchamiento

Las muestras 1 y 2 (con baja concentración de Q, HAc y NaOH) no permitieron la formación de geles, mientras que las muestras 3 a 7 formaron geles (ver Tabla 2.2). Como fue mencionado previamente, la disminución en la concentración de NaOH retrasa la separación de fases debido a la disminución del potencial químico y la difusividad del mismo en la solución de quitosano. Al disminuir la concentración de quitosano y consecuentemente la viscosidad de la muestra, la tasa de intercambio aumenta y aumenta la difusividad (aumentando la tasa de solidificación). Sin embargo, estos efectos parecieran no contrarrestar el efecto del NaOH impidiendo la formación del hidrogel. Cuando se aumentó la concentración de quitosano (muestra 3) pareciera que estos últimos dos efectos lograron contrarrestar el efecto negativo del NaOH pudiendo formar hidrogeles a partir de dichas soluciones.

Para las muestras 3 a 7 se midió el hinchamiento en agua destilada a diferentes tiempos durante 4 horas para medir la respuesta inicial del hidrogel. En el siguiente gráfico (Fig. 2.8) pueden observarse las curvas de hinchamiento obtenidas para las cinco muestras.

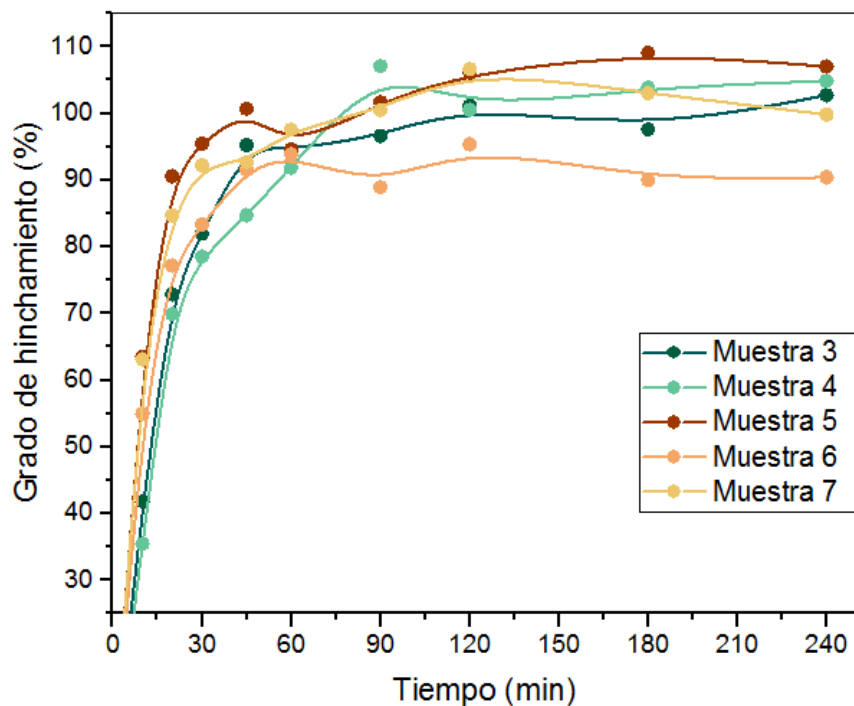


Figura 2.8. GH en función del tiempo para las cinco muestras de hidrogeles obtenidas.

El comportamiento de los hidrogeles es similar a pesar de los cambios en la formulación, se observa un aumento inicial hasta un máximo que se mantiene en el tiempo. En la Tabla 2.4 se muestran los valores máximos de grado de hinchamiento obtenidos para cada muestra junto con el tiempo de dichos máximos.

Tabla 2.4. Tiempo y GH máximo para los hidrogeles 3 a 7.

<i>Muestra</i>	<i>Tiempo del máximo (min)</i>	<i>GH máximo (%)</i>
3	240	104,9
4	240	102,7
5	180	109,1
6	120	95,3
7	120	106,6

Como puede observarse, los valores son similares entre sí (95-110 %), y el grado de hinchamiento no parece ser sensible a los niveles propuestos de concentraciones de las distintas soluciones involucradas en la formulación del hidrogel.

La capacidad de absorción de los hidrogeles regulares es menor al 100 %, mientras que la de los SAP o hidrogeles superabsorbentes se encuentra dentro del rango del 1.000-100.000 %³⁷. Hidrogeles diseñados para su uso en agricultura reportan valores desde 700 hasta 20.000 %^{38,39,40}. Por lo tanto, los hidrogeles 3 a 7 corresponden a hidrogeles regulares y reportan valores de hinchamiento menores a los que actualmente se utilizan en el sector agrícola.

2.8 Conclusiones

Se pudo caracterizar al quitosano mediante su peso molecular y grado de desacetilación empleando las técnicas de viscosimetría y espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), respectivamente. El quitosano empleado posee un peso molecular de $223.349 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y su grado de desacetilación se encuentra en el rango de 82-88 %.

Para caracterizar los hidrogeles se midió la curva de hinchamiento en agua destilada durante 4 horas. Esta propiedad no fue sensible a los niveles evaluados de los factores propuestos, y se obtuvo un grado de hinchamiento máximo de aproximadamente 109 %. Este valor no resulta competitivo en comparación a los hidrogeles destinados a su uso en agricultura. Por tales motivos se decidió descartar la formulación propuesta en este capítulo para la obtención de los hidrogeles con aplicación en el sector agrícola.

Capítulo 3:
**Hidrogeles a base de
alginato de sodio y
quitosano**

3.1 Introducción

“Alginato” es un término colectivo que se utiliza para designar a una familia de polisacáridos que se obtienen a partir de algas pardas o bacterias. El ácido algínico fue descubierto, extraído y patentado por Stanford a finales del siglo XIX. Este polisacárido se reconoció como un componente estructural del alga marina parda (*Phaeophyceae*), donde constituye el 40 % de la materia seca y se encuentra principalmente en las sustancias intercelulares y en las paredes celulares como una mezcla insoluble con sales de calcio, magnesio, potasio y sodio. La presencia de Alginato otorga resistencia mecánica y flexibilidad a las algas, y además actúa como un reservorio de agua previniendo la deshidratación cuando alguna parte del alga se expone al aire⁴¹.

Desde su descubrimiento, el alginato se ha vuelto un importante producto industrial que se utiliza en la industria alimenticia, cosmética, médica y farmacéutica, entre otras⁴². Las principales aplicaciones de alginato se relacionan con sus propiedades estabilizantes, espesantes, gelificantes y su habilidad para retener agua. La producción industrial anual de alginato se estima en 30.000 toneladas métricas, lo cual es un 10 % menor a la cantidad de material que se genera por la biosíntesis de las algas. Esto permite considerar a dicho polisacárido como un recurso renovable ilimitado⁴¹.

Desde un punto de vista químico, el alginato es un biopolímero aniónico que consiste en unidades de ácido D-manurónico (M) y ácido L-gulurónico (G) en bloques irregulares (Fig. 3.1). El carácter aniónico del alginato es otorgado por los grupos carboxilo que conforman los ácidos M y G. Las unidades de M forman enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ mientras que las de G forman enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$, y se unen entre sí mediante enlaces glicosídicos⁴³. Es importante destacar que la familia de los alginatos no posee una unidad repetitiva, dado que los monómeros M y G se ensamblan ya sea en bloques repetitivos de cada unidad (MM o GG) o bien alternados (MG). La cantidad y distribución de unidades depende de la especie, sección y edad del alga de la cual se extrae el alginato⁴⁴.

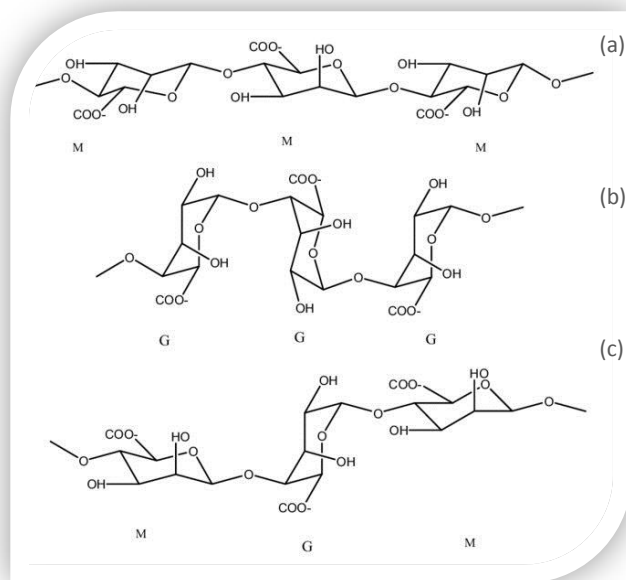


Figura 3.1. Estructura química de (a) bloques M, (b) bloques G, y (c) unión MG.

Las zonas con G pueden considerarse como zonas de unión preferentemente entre cadenas, mientras que en las regiones con M predomina la interacción con el agua. Consecuentemente, los alginatos ricos en G forman geles mucho más resistentes, mientras que los alginatos ricos en M forman geles menos firmes⁴².

El alginato que se encuentra disponible comercialmente se extrae de las algas por tratamiento con soluciones acuosas alcalinas, generalmente con hidróxido de sodio. Los extractos se filtran y se agrega cloruro de calcio o sodio para precipitar alginato. Luego de purificarlo, se obtiene un polvo de alginato de calcio o sodio soluble en agua⁴⁵. Entre las sales de alginato más empleadas se ha encontrado la sal sódica debido a su alta solubilidad en agua fría, y a su característica transición sol-gel de forma instantánea e irreversible ante tratamientos posteriores con el ion calcio⁴⁶.

Existen dos maneras convencionales para la gelación de alginato. La primera se produce al disminuir el pH debajo del pKa (3,4 y 3,6 para las unidades M y G) y la segunda introduciendo cationes mediante gelación ionotrópica. Esta última puede realizarse mediante un arreglo de difusión o un arreglo interno. En el arreglo de difusión, una solución de sal de alginato (generalmente alginato de sodio) se gotea en un baño con sales solubles de cloruro de calcio. La gelación ocurre rápidamente, preservando la forma esférica de las gotas. En cambio, en el arreglo

interno los iones se liberan del interior de la solución de alginato. Los iones se introducen en la solución en una forma inactiva (sal poco soluble) y liberados de manera controlada^{47,48}.

El modelo que mejor representa el entrecruzamiento iónico es el modelo de caja de huevos (Ver Fig. 3.2), donde los grupos carboxilato de G interaccionan con un catión divalente como el calcio, el cual actúa como puente entre ellos⁴³. La estructura que forman dos cadenas de alginato con los iones calcio no es plana, sino que tiene forma helicoidal, con el calcio situado en el eje⁴⁹.

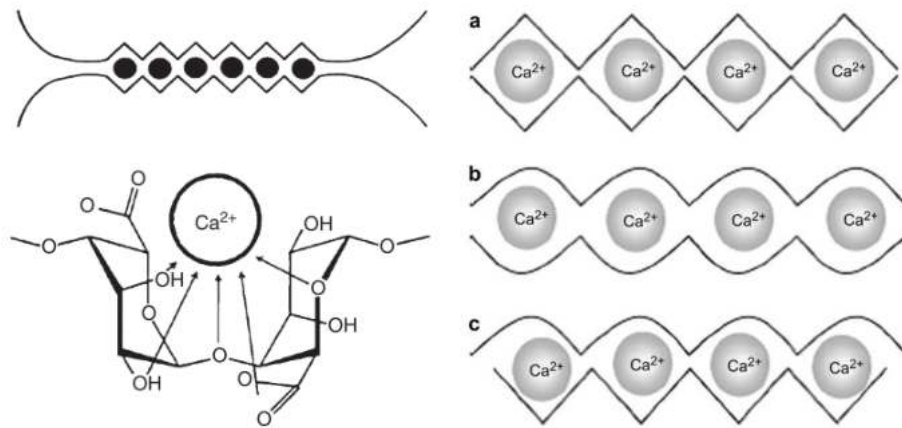


Figura 3.2. Interacción del calcio con el grupo galurónico. Posibles maneras de entrecruzamiento con el calcio (a) GG/GG (b) MG/MG (c) GG/MG.

En la gelación ionotrópica mediante el arreglo de difusión se considera que una vez que la gota de alginato de sodio se pone en contacto con la solución de cloruro de calcio se forma instantáneamente un caparazón o membrana externa. Al principio de la gelación, el centro de la gota está compuesto mayoritariamente por alginato de sodio sin reaccionar, y a medida que el calcio penetra la capa externa se convierte en alginato de calcio⁵⁰. La difusión de iones calcio es un proceso complejo que depende de múltiples variables por lo que es objeto de varios estudios y modelado matemáticamente por varios investigadores^{50,51}.

Los polímeros que poseen carga, o pueden adquirirla bajo ciertas condiciones de pH, son capaces de formar un complejo polielectrolito (PEC), los cuales poseen propiedades que dependen de las diferentes macromoléculas que lo conforman⁵². Estos complejos se forman mediante

interacciones electrostáticas y, dado que el alginato es un polímero aniónico (conteniendo carboxilatos) y el quitosano un polímero catiónico (conteniendo grupos amino), ambos resultan compatibles para dar lugar a este tipo de entrecruzamiento físico (ver Fig. 3.4).

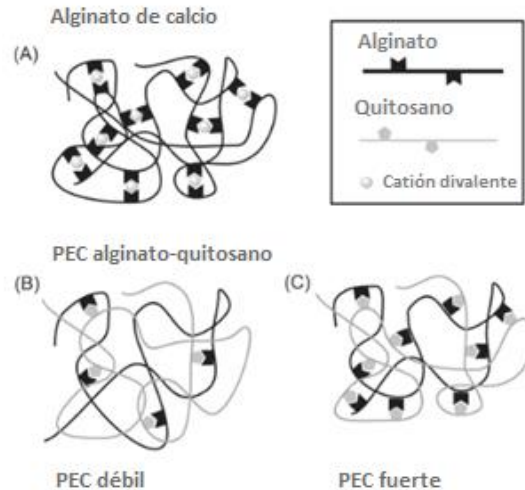


Figura 3.4. Esquematación de la interacción entre alginato/calcio y alginato/quitosano.

Los hidrogeles o perlas de quitosano y alginato pueden obtenerse con un núcleo de alginato y una capa externa de alginato/quitosano si se gotea una solución de alginato en una solución de quitosano. También pueden obtenerse hidrogeles con un núcleo de quitosano si se gotea quitosano sobre una solución de alginato. Debido a la posibilidad de protonación del grupo amino del quitosano y de la ionización del grupo ácido carboxílico del alginato, la estabilidad del complejo alginato/quitosano puede ser influenciada por parámetros del medio, tales como el pH y la fuerza iónica⁵³.

Se ha reportado que el quitosano se une rápidamente a la superficie de las gotas de alginato, pero su difusión hacia el interior se encuentra limitada. Estudios realizados sobre la estabilidad del complejo demostraron que puede mejorarse al agregar cloruro de calcio a la solución de quitosano. De esta manera, el quitosano se une más rápido y en mayor medida cuanto mayor fue el contenido de calcio empleado. La presencia de la sal de calcio produce una competencia durante el proceso de gelación que resulta en un gel más poroso, permitiendo así la difusión del quitosano⁵³.

En trabajos previos del grupo CoMP, el alginato reportó valores de hinchamiento mejores que los obtenidos en el capítulo anterior. Por este motivo, se decide incorporar alginato a la formulación, a fines de aumentar la performance de los hidrogeles y continuar con la línea de materiales naturales biodegradables.

3.2 Objetivos

El objetivo de la investigación desarrollada en esta instancia fue incorporar alginato a la formulación de los hidrogeles con el fin de mejorar la capacidad de hinchamiento.

3.3 Materiales

Para la preparación de los hidrogeles se obtuvo comercialmente alginato de sodio (alg.) de Química Bolívar (Mar del Plata, Argentina). Al igual que en el capítulo 2, el quitosano comercial Parafarm fue adquirido de la Farmacia Homeopática Pereda (Mar del Plata, Argentina) con un peso molecular de $223.349 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y el grado de desacetilación se encuentra en el rango de 82-88 %. Se utilizaron ácido acético (HAc), hidróxido de sodio (NaOH) y cloruro de calcio (CaCl_2) adquiridos en Biopack (Buenos Aires, Argentina).

3.4 Preparación de los hidrogeles

Para la preparación de hidrogeles se utilizaron 2 métodos:

1) Método de membrana externa: consta de la preparación de hidrogeles de quitosano o de alginato bajo diferentes técnicas (separación de fases o gelación iónica, respectivamente) para luego de su obtención generar un recubrimiento con el biopolímero restante. Debido a la naturaleza iónica opuesta de ambos polímeros, el recubrimiento que se genere será producto de las interacciones entre ellos. Según el polímero que se desea obtener en el núcleo se proponen dos variantes del método, ME1 y ME2:

-ME1: corresponde a los hidrogeles con núcleo de alginato y recubrimiento de quitosano.

-ME2: corresponde a los hidrogeles con núcleo de quitosano y recubrimiento de alginato.

2) Método PEC: en este caso se busca obtener hidrogeles directamente a partir de la formación del complejo electrolito entre quitosano y alginato. Para esto será necesario gotear soluciones de un polímero sobre el otro. Se deberán agregar los aditivos correspondientes para disolver y facilitar la formación del complejo. Al igual que en el método de la membrana externa, también se busca formar un recubrimiento del otro biopolímero. Nuevamente se proponen dos alternativas según el polímero que se desea obtener en el núcleo:

-PEC1: corresponde a los hidrogeles que se generan a partir del goteo de una solución de alginato sobre otra de quitosano con cloruro de calcio.

-PEC2: corresponde a los hidrogeles que se obtienen a partir del goteo de una solución de quitosano con cloruro de calcio sobre otra de alginato.

3.4.1 Hidrogeles de alginato

A continuación, se detalla el procedimiento de obtención de los hidrogeles de alginato con la incorporación de quitosano según cada método.

- ME1: Primero se prepararon hidrogeles de alginato de sodio. Inicialmente, alginato de sodio comercial fue disuelto en agua (3 % m/v), y esta solución fue posteriormente goteada sobre una solución de cloruro de calcio (0,25 mol.L⁻¹). El quitosano comercial (2 % m/v) fue disuelto en un medio de ácido acético (1 % v/v), y los hidrogeles de alginato una vez lavados y filtrados se sumergieron en esta solución con el fin de incorporar quitosano en la superficie de los mismos.
- PEC1: Para la preparación de los hidrogeles se goteó una solución alginato de sodio comercial disuelto en agua (3 % m/v) sobre una solución de quitosano (1 % m/v) en ácido acético (1 % v/v) con cloruro de calcio (0,25 mol.L⁻¹). En este caso se buscó formar un complejo polielectrolito (PEC) y para aumentar su estabilidad se utilizó cloruro de calcio a fin de gelar el alginato.

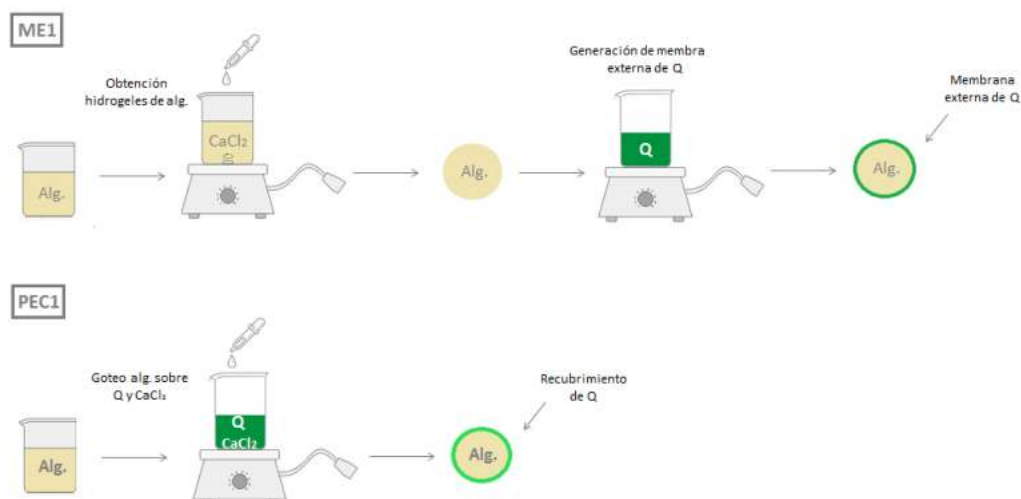


Figura 3.5. Obtención hidrogeles de alginato de sodio por ambos métodos.

3.4.2 Hidrogeles de quitosano

Se detalla el procedimiento de obtención de los hidrogeles de quitosano con la incorporación de alginato según cada método.

- ME2: En primer lugar, se prepararon hidrogeles de quitosano. Para ello, se disolvió el quitosano comercial (5 % m/v) en un medio de ácido acético (5 % v/v), y esta solución fue posteriormente goteada sobre una solución alcalina de hidróxido de sodio (5 mol.L⁻¹). Alginato de sodio fue disuelto en agua (1 % m/v), y los hidrogeles de quitosano se sumergieron en la solución acuosa con el fin de generar una membrana externa de alginato.
- PEC2: Para este caso el quitosano comercial (5 % m/v) fue disuelto en una solución de ácido acético (5 % m/v) con cloruro de calcio (0,25 mol.L⁻¹). Esta solución se goteó sobre alginato de sodio disuelto en agua (1 % m/v). Al igual que en el caso de PEC1, se buscó la formación del complejo polielectrolito y la gelación iónica del alginato.

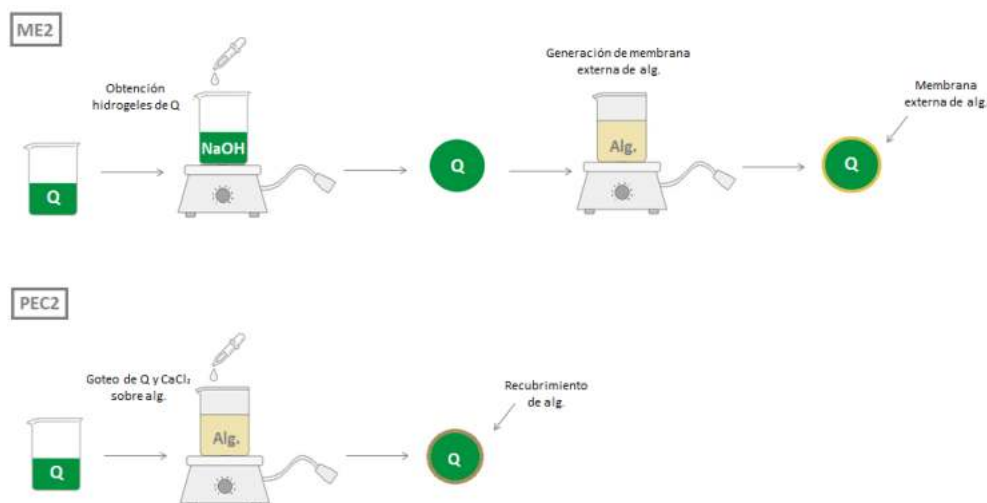


Figura 3.6. Obtención hidrogeles de quitosano por ambos métodos.

En todos los casos para obtener los hidrogeles se goteó manualmente utilizando una pipeta de vidrio. La distancia entre la pipeta y la solución gelificante fue de 10 cm. La agitación se realizó a temperatura ambiente y a una velocidad de 250 rpm. El tiempo de goteo fue de aproximadamente 20 minutos. Las perlas obtenidas se mantuvieron bajo agitación constante durante 30 minutos. El lavado se realizó con agua destilada hasta pH neutro. En el caso del método ME, se sumergieron los hidrogeles en la solución de quitosano (ME1) o de alginato (ME2). Se agitaron, nuevamente a temperatura ambiente y 250 rpm, en las respectivas soluciones por 30 minutos y se realizó un segundo lavado con agua destilada hasta pH neutro. Para ambos métodos el secado se realizó a temperatura ambiente en placas de Petri recubiertas con teflón.

3.5 Determinación de la capacidad de hinchamiento

Con el fin de poder determinar si la incorporación de alginato mejora la capacidad de hinchamiento y si alguno de los métodos de preparación resulta en valores mayores de capacidad de hinchamiento en comparación a los otros, nuevamente se determinaron las curvas de hinchamiento para las primeras cuatro horas en contacto con agua destilada. Se repitió el procedimiento detallado en la sección 2.6 y se calculó el grado de hinchamiento para cada tiempo utilizando la ecuación 2.9.

3.6 Resultados

Se logró la formación exitosa de perlas en todos los casos estudiados excepto para el procedimiento PEC2. En este caso en particular, ocurrió una aglomeración y posterior formación de láminas durante el proceso de secado. Se disminuyó la concentración de alginato en la solución gelificante (colectora) a 0,75 y 0,25 % m/v y nuevamente ocurrió aglomeración en el proceso de obtención. Debido al tiempo necesario para ajustar la formulación se decidió descartar este método. En el siguiente gráfico (Fig. 3.5) se muestran las curvas de hinchamiento de las muestras ME1, ME2 Y PEC1.

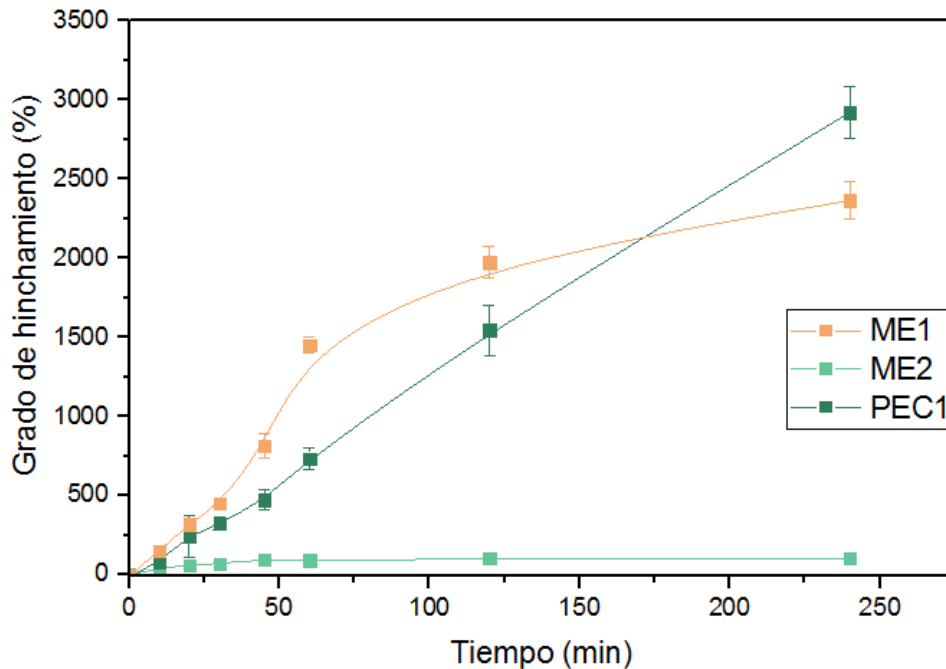


Figura 3.7. Curvas de hinchamiento para las muestras ME1, ME2 y PEC1.

En la siguiente tabla (Tabla 3.2) se presenta el grado de hinchamiento máximo obtenido y el tiempo al cual se produjo para cada una de las muestras en estudio.

Tabla 3.2. Grado y tiempo de hinchamiento máximo para las muestras ME1, ME2 Y PEC1.

<i>Muestra</i>	<i>Tiempo del máximo (min)</i>	<i>Grado de hinchamiento máximo (%)</i>
<i>ME1</i>	240	2.370 ± 120
<i>ME2</i>	240	104 ± 7
<i>PEC1</i>	240	3.037 ± 160

Como puede observarse en la figura 3.7, las curvas de las muestras ME1 y PEC1 no llegaron a estabilizarse en el tiempo en que se realizaron las medidas. Es posible que en los siguientes minutos los valores de hinchamiento sean aún mayores. La curva de hinchamiento que se obtuvo para la muestra ME2 es similar a las obtenidas anteriormente en el capítulo 2. El agregado de alginato mediante el método de membrana externa en las concentraciones evaluadas no presentó mejoras respecto al comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano evaluados en el capítulo 2. En cambio, las muestras ME1 y PEC1 sí lograron mejorar las propiedades del material, obteniéndose valores de un grado de magnitud mayor. Ambas muestras corresponden a hidrogeles con núcleo de alginato, por lo cual se concluye que para mejorar la propiedad de hinchamiento es conveniente poseer un núcleo de alginato independientemente del método de obtención (PEC o ME).

En un estudio realizado por Mi y col. (2002)⁵³ desarrollaron hidrogeles a base de alginato y quitosano entrecruzados con genipín para liberación controlada de Indometacina. Se goteó una solución de quitosano sobre una solución de alginato, al igual que las muestras PEC2, utilizando genipín como agente entrecruzante. Estos autores reportaron valores de hinchamiento de aproximadamente 1800 % en los hidrogeles sin la incorporación del fármaco.

Como se mencionó anteriormente, el rango de grado de hinchamiento que caracteriza a los hidrogeles superabsorbentes (SAP) se encuentra en el rango 1.000-100.000 %³⁷. Los grados de hinchamiento máximo de las muestras ME1 y PEC1 se encontraron dentro de ese rango, pudiendo así ser clasificados como SAPs.

3.7 Conclusiones

Para las concentraciones evaluadas, el método PEC2 no permitió la formación de hidrogeles, por cuestiones de tiempo decidió descartarse este método. La muestra ME2 reportó valores similares a los obtenidos en el capítulo 2, por lo que no presentó una mejora significativa en el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano. Por estos motivos, ambos hidrogeles de quitosano modificados con alginato no cumplieron con el objetivo del capítulo de obtener un mejor comportamiento de hinchamiento (mayores valores de grado de hinchamiento).

Los hidrogeles a base de alginato con la incorporación de quitosano (ME1 y PEC1) mejoraron la capacidad de hinchamiento obtenida en el capítulo 2 cumpliendo con el objetivo propuesto para este capítulo. La muestra PEC1 reportó los mejores valores. Debido a esto, y a que su obtención conlleva menor tiempo y menor consumo de agua destilada que los hidrogeles ME1 (requiere 30 minutos más de agitación lo que supone un mayor gasto energético y dos lavados), se decidió preparar los hidrogeles por el método PEC y optimizar la formulación de dicho hidrogel mediante el método Taguchi.

Capítulo 4:

Diseño de parámetros por el Método Taguchi

4.1 Introducción

Los diseños para la experimentación estadística emanan de los trabajos de Ronald Aylmer Fisher en Inglaterra en el siglo XIX. Previo a esto, los experimentos multifactoriales se realizaban variando el nivel de un factor por vez, manteniendo constante los niveles de los otros factores. Fisher introdujo el concepto de diseño experimental en el cual todos los factores se varían simultáneamente. El diseño de experimentos es esencialmente una estrategia para la planificación de experimentos de manera tal que las conclusiones relevantes sean alcanzadas en forma eficiente y económica⁵⁴. En 1980 Taguchi introdujo el método a varias industrias Americanas, como Ford, que resultó en mejoras de calidad de productos y eficiencia de procesos⁵⁵.

El diseño de procesos o productos tiene un gran impacto en la calidad y el costo. Taguchi hace hincapié en tener en cuenta la calidad en la etapa de diseño ya que las inspecciones y el control de calidad nunca pueden compensar un mal diseño. Las 3 etapas que plantea Taguchi para producir un producto con la mejor calidad posible y al menor costo son: el diseño de sistema, diseño de parámetros y diseño de tolerancias. El punto fuerte de esta técnica es el uso del diseño de parámetros, que es un método ingenieril para diseño de productos o procesos que hace hincapié en la determinación de los mejores valores para los parámetros con una mínima variación⁵⁶.

El diseño de sistemas implica el desarrollo de un sistema que funcione bajo un set de condiciones nominales. Luego de definir el procedimiento, lo siguiente es el diseño de parámetros. El objetivo es seleccionar los niveles óptimos (valores) para los parámetros controlables tal que el producto sea funcional, es decir, que tenga un buen desempeño bajo condiciones variables. Esto se traduce en que sus propiedades o eficiencia no se vean afectadas por la variabilidad del proceso, o lo que se denomina como factores de ruido. Los factores de control son aquellos que se fijan y mantienen y son producto del diseño, mientras que los factores de ruido no son controlables^{56,57}.

El diseño experimental es un diseño factorial. Los factores de control deben tener dos o más configuraciones o condiciones para poder visualizar su efecto. Estas configuraciones se llaman niveles de los factores. Por ejemplo, un factor puede ser la temperatura del proceso y sus niveles ser 10 ó 20 °C. Cualquier combinación de niveles de distintos factores es un experimento y se conoce como Estándar⁵⁸. En el diseño factorial de dos niveles, cada factor posee dos valores posibles y la cantidad de experimentos se determina elevando la cantidad de niveles a la cantidad de factores (2^n).

El método de Taguchi utiliza un arreglo ortogonal para el diseño de experimentos con el fin de estudiar un gran número de variables con poca cantidad de experimentos. Los arreglos ortogonales no son únicos de Taguchi. Se descubrieron mucho antes, pero Taguchi simplificó su uso mediante la creación de una set de arreglos ortogonales estandarizados⁵⁷.

	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

Figura 4.1. Arreglo ortogonal de 4 factores y 3 niveles.

Este diseño se conoce como “L9” debido a que posee 9 configuraciones o evaluaciones experimentales. Hay 4 parámetros o factores (A, B, C, D) y tres niveles (3 valores posibles de cada factor). Cada fila define las características o valores que tomarán las variables en ese experimento. En este arreglo, las columnas son mutuamente ortogonales, lo que significa, que para todo par de columnas las combinaciones de niveles ocurren la misma cantidad de veces⁵⁷. Por ejemplo, la columna A toma el valor del nivel 1 tres veces, igual que con el nivel 2 y el 3, y en el resto de las columnas ocurre lo mismo. Además, para el arreglo de control, Taguchi asume que no existen interacciones de tercer orden (por ejemplo, interacción ABC) entre los factores de control debido a su baja probabilidad de ocurrencia. Esto también reduce significativamente la cantidad de experimentos⁵⁶.

En resumen, Taguchi plantea el siguiente proceso para la obtención de un producto o proceso eficiente:

1. Definir el proceso
2. Seleccionar un sistema de medida (propiedades a optimizar en caso de un producto)
3. Seleccionar los variables de estudio

4. Seleccionar el diseño experimental
5. Definir las condiciones para cada variable

Luego de llevar a cabo los experimentos para analizar los resultados es necesario:

1. Determinar si los parámetros son significativos mediante un análisis de varianza (ANOVA)
2. Realizar un análisis gráfico de los efectos para determinar los niveles óptimos de los factores de control
3. Realizar un análisis de qué factores son significativos
4. Confirmar el experimento en base a los valores óptimos determinados

Cuando se concluyen los experimentos se debe determinar la configuración óptima de parámetros. Para analizar los resultados, Taguchi utiliza una medida estadística conocida como radio de señal o ruido o SNR. Se utiliza para decidir qué niveles tienen mejor respuesta al ruido, es decir, cuáles lo disminuyen y cuál es la relación entre la media y la desviación estándar. La ecuación depende de las características que se deseen optimizar. A pesar de que existen numerosas ecuaciones (más de 60), tres de ellas se consideran las más utilizadas^{57,59}.

- La mayor es la mejor característica (fuerza, resistencia)
- La menor es la mejor característica (contaminación)
- La nominal es la mejor característica (dimensión)

Sin importar la ecuación que se utilice, cuanto mayor sea el SNR mejor. Taguchi muestra los valores promedio de SNR para los niveles de cada factor. La pendiente de esta grafica indica la importancia del factor. Sin embargo, se asume que los factores son lineales, lo cual puede no ser real⁵⁹. Por esto los niveles no deben ser muy diferentes, es decir, el rango del factor no debe ser muy grande. Para determinar esto se debe tener conocimiento del proceso o bien repetir el análisis con un rango más acotado en caso de duda.

El ANOVA es un método estadístico que se utiliza para determinar la variabilidad. Determina que efectos son significativos y cuales no afectan la propiedad final que se está analizando⁶⁰. Para esto se suele graficar la probabilidad media. Primero se ordenan los valores de los efectos de manera creciente en base a su valor absoluto. Luego la probabilidad media se obtiene graficando los valores absolutos de los efectos en función del porcentaje de probabilidad. Este porcentaje se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\%Pi = \frac{(i-0.5)}{n} \times 100 \text{ (ec. 4. 1)}$$

Siendo n el número del efectos e i la posición en el ranking de efectos. Los efectos que no son significativos, es decir, que al variarlos no afecta el resultado o propiedad que está siendo evaluada, se encontraran formando una línea recta. Mientras que aquellos que son significativos se encontraran a un lado de la curva⁵⁹.

El método de Taguchi puede predecir una combinación de valores óptima que no necesariamente corresponda a las analizadas (presentes en la matriz). Por tal motivo, como último paso es necesario medir las propiedades que se desearon optimizar y certificar que se encuentran dentro del rango predicho por el método.

4.2 Objetivos

El objetivo en esta instancia del desarrollo del proyecto es utilizar el Método Taguchi para optimizar los parámetros de la formulación y procesamiento del hidrogel a base de alginato y quitosano (PEC1) obtenido en el capítulo 3 (Método PEC).

4.3 Materiales

Para la preparación de los hidrogeles se emplearon los mismos materiales utilizados en el capítulo 3 (ver sección 3.3).

4.4 Preparación de los hidrogeles

En el capítulo anterior se evaluaron cuatro métodos para la obtención de hidrogeles de alginato y quitosano. En base a los resultados obtenidos para el grado de hinchamiento se seleccionó uno de ellos (método PEC, ver sección 3.4) para realizar el análisis de influencia de los factores sobre la absorción de agua. Para la formación de hidrogeles se goteó una solución de alginato de sodio

disuelto en agua sobre una solución de quitosano disuelta en ácido acético con cloruro de calcio como se describió previamente en la sección 3.4.2 del Capítulo 3 (ver Fig. 4.1).

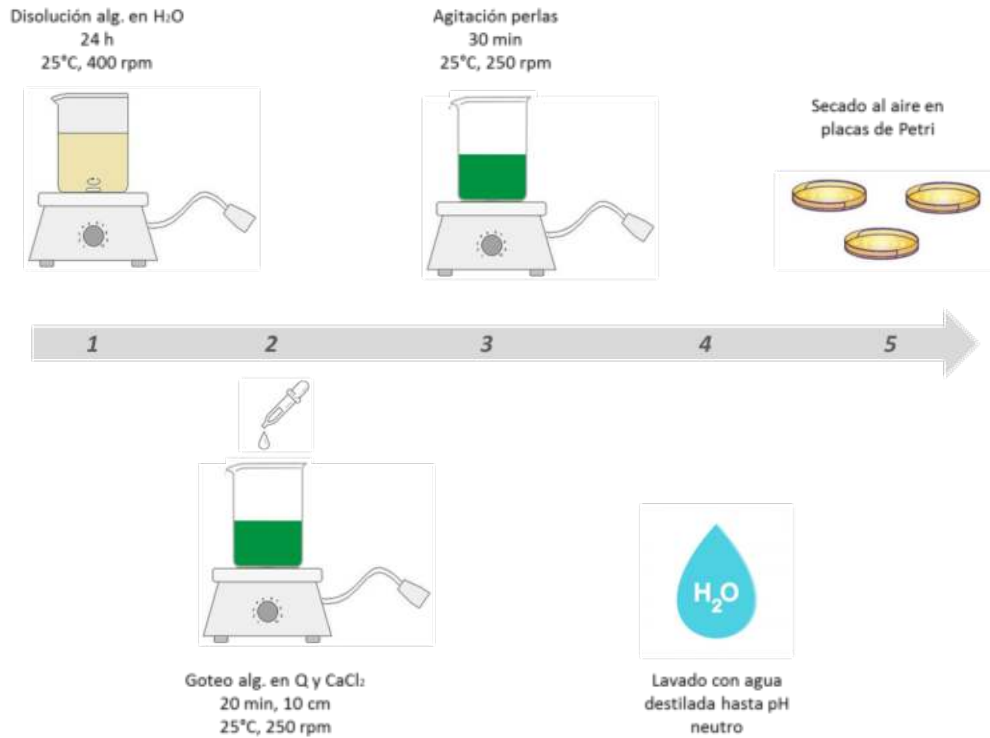


Figura 4.1. Esquematación paso a paso de la obtención de hidrogeles por el método PEC.

4.5 Diseño experimental

Existen varios parámetros del proceso de obtención de hidrogeles como por ejemplo la distancia utilizada para gotear, las revoluciones de agitación durante el proceso y posterior a este, el método y por ende temperatura y velocidad de secado, etc. Por la magnitud de experimentos que implicaría analizar todos ellos, se seleccionaron 5 factores que, basados en trabajos previos del grupo CoMP y bibliografía^{4,27,61,62,63}, se cree que pueden afectar en mayor medida el comportamiento del hinchamiento de los hidrogeles ya que tienen una relación directa con el grado y tipo de entrecruzamiento.

Estos factores son:

- Factor 1 (F_C): Concentración de cloruro de calcio (mol.L^{-1})
- Factor 2 (F_Q): Concentración de quitosano (% m/v)
- Factor 3 (F_T): Tiempo de agitación posterior al goteo (min)
- Factor 4 (F_A): Concentración de alginato (% m/v)
- Factor 5 (F_{AC}): Concentración de ácido acético (% v/v)

En base a los resultados previos y a los obtenidos en otras líneas de investigación del grupo CoMP se seleccionaron los rangos para los niveles de cada factor.

- Niveles factor 1: 0,1 a 0,4 (mol.L^{-1})
- Niveles factor 2: 1 a 4 (% m/v)
- Niveles factor 3: 10 a 25 minutos
- Niveles factor 4: 2,0 a 3,5 (% m/v)
- Niveles factor 5: 1 a 4 (% v/v)

Según el diseño factorial, la cantidad de experimentos que corresponde a cinco factores con cuatro niveles es 4^5 , es decir, 1024. El método Taguchi reduce la cantidad de experimentos a 16. Los factores seleccionados junto con sus niveles se ingresaron al software Design Expert (versión 7.0.0). El software determinó las formulaciones para los 16 experimentos y el orden en el cual estos debían ser realizados. En la siguiente tabla (Tabla 4.1) se los 16 experimentos con los niveles de cada factor.

Tabla 4.1. (Cont.). Arreglo ortogonal L16.

<i>Estándar</i>	<i>F_C (mol.L-1)</i>	<i>F_Q (% m/v)</i>	<i>F_T (min)</i>	<i>F_A (% m/v)</i>	<i>F_{AC} (% v/v)</i>
1	0,3	1,0	20	3,5	2,0
2	0,1	4,0	25	3,5	4,0
3	0,4	3,0	15	3,5	1,0
4	0,2	2,0	10	3,5	3,0
5	0,3	2,0	25	3,0	1,0
6	0,2	1,0	15	3,0	4,0
7	0,4	4,0	10	3,0	2,0
8	0,1	3,0	20	3,0	3,0

<i>Estándar</i>	<i>F_C (mol.L-1)</i>	<i>F_Q (% m/v)</i>	<i>F_T (min)</i>	<i>F_A (% m/v)</i>	<i>F_{AC} (% v/v)</i>
9	0,2	4,0	20	2,5	1,0
10	0,3	3,0	10	2,5	4,0
11	0,4	1,0	25	2,5	3,0
12	0,1	2,0	15	2,5	2,0
13	0,2	3,0	25	2,0	2,0
14	0,4	2,0	20	2,0	4,0
15	0,3	4,0	15	2,0	3,0
16	0,1	1,0	10	2,0	1,0

Las propiedades que se seleccionaron para evaluar los efectos de los hidrogeles fueron el grado de hinchamiento y la fracción gel. El grado de hinchamiento es la propiedad que se desea maximizar. En cuanto a la fracción gel, se desea evaluar como esta propiedad puede afectar el comportamiento en los bioensayos en plantas de lechuga.

4.6 Determinación de la capacidad de hinchamiento

Debido al volumen de muestras, se seleccionó un punto de la curva de hinchamiento con el fin de compararlas. Se seleccionó el tiempo de equilibrio para realizar las mediciones y se consideró este como 24 h. Se repitió el procedimiento detallado en la sección 2.6 y se calculó el grado de hinchamiento para las 24 h utilizando la ecuación 2.9.

4.7 Determinación de la fracción gel

Para la medición de la fracción gel se utilizaron 0,05 g de cada hidrogel. Para cada hidrogel se colocaron dos muestras en agua destilada por 4 días y luego se secaron a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante. Se midió el peso previo al hinchamiento y al finalizar el secado. Para asegurarse de que la muestra se encontraba completamente seca, la medida se repitió dos días consecutivos. En caso de no obtener el mismo valor se dejó secar tres días más y se repitieron las medidas. La fracción gel (FG) se obtuvo a partir de la siguiente relación (ec. 4.2).

$$FG (\%) = \left(\frac{M_0}{M_f} \right) * 100 (\%) \quad (\text{ec. 4.2})$$

4.8 Resultados y Discusión

Los valores promedio obtenidos para el grado de hinchamiento y la fracción gel para cada experimento se resumen en la Tabla 4.2. Estos datos se ingresaron al software Design Expert (versión 7.0.0), el cual proporcionó para cada propiedad un modelo en base a los factores que resultaron significativos.

Tabla 4.2. Resultados de las mediciones para cada hidrogel.

<i>Estándar</i>	<i>GH (%)</i>	<i>FG (%)</i>
1	3.135	99,9
2	6.585	84,2
3	2.068	96,1
4	5.996	92,0
5	3.373	95,1
6	6.863	88,6
7	3.024	96,4
8	8.103	82,4
9	5.954	95,2
10	4.969	95,5
11	2.327	97,0
12	8.494	85,0
13	4.706	96,4
14	822	95,8
15	3.458	96,5
16	8.932	82,6

A continuación, se muestran los resultados del ANOVA (Tabla 4.3) para el grado de hinchamiento.

Tabla 4.3. Parámetros obtenidos por ANOVA para la propiedad de hinchamiento.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrados medio</i>	<i>Valor F</i>	<i>p-valor</i>
Modelo	857.424,2	2	42.871.201,1	110,4517	< 0,0001
F_C	8.040.618,2	1	8.0406.186,2	207,1554	< 0,0001
F_T	5.336.215,98	1	5.336.215,98	13,74802	0,0026
Error residual	5.045.876	13	388.144,31		
Total corregido	9.078.827,2	15			
R²	0,9444				
R² ajustado	0,9359				

El modelo de GH resultó significativo con un valor $p < 0.0001$, y R^2 de 0,9444. Los efectos significativos fueron la concentración de calcio ($p < 0.0001$, $R^2 = 0,8856$) y el tiempo de agitación ($p = 0.0026$, $R^2 = 0,9444$). Luego, el modelo reducido obtenido para el grado de hinchamiento se muestra en la ec. 4.3.

$$GH = 11746.23112 - 20050.70900 * F_C - 103.30746 * F_T \text{ (ec. 4.3)}$$

Un valor de SNR mayor a 4 es deseable, en este caso el valor de SNR fue 28,042, siendo este un valor que indica una señal adecuada dentro del espacio muestral estudiado. Y un valor de R^2 del modelo de 0,9444 indica que los factores explican el 94.44 % de variabilidad de las muestras.

Para el caso de la fracción gel los resultados del ANOVA se muestran en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4. Parámetros obtenidos por ANOVA para la propiedad de fracción gel (FG).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrados medio</i>	<i>Valor F</i>	<i>p-valor</i>
Modelo	445,0283	4	111,2571	18,6793	< 0,0001
<i>F_C</i>	283,6458	1	283,6458	47,6223	< 0,0001
<i>F_Q</i>	2,8468	1	2,8468	0,4780	0,5037
<i>F_A</i>	0,6869	1	0,6869	0,1153	0,7406
<i>F_AF_Q</i>	87,3922	1	87,3922	14,6726	0,0028
Error Residual	65,5177	11	5,9562		
Total Corregido	510,546	15			
<i>R²</i>	0,8717				
<i>R² ajustado</i>	0,8250				

El modelo de FH resultó significativo con un valor $p < 0,0001$, y R^2 de 0,8717. Los efectos significativos fueron la concentración de calcio ($p < 0,0001$, $R^2 = 0,6936$), y la interacción entre los efectos de la concentración de alginato y de quitosano, denominada en la Tabla 4.4 como $F_A F_Q$, ($p = 0,0014$, $R^2 = 0,8647$). Luego, el modelo reducido obtenido para el grado de hinchamiento se muestra en la ec. 4.4.

$$FG = 56,78960 + 38,27679 * F_C + 10,82909 * F_Q + 9,13099 * F_A - 3,80066 * F_A F_Q \text{ (ec.4.4)}$$

Como se mencionó para el modelo de GH, un valor de SNR mayor a 4 es deseable. El valor de SNR fue 12,709, siendo este un valor que indica una señal adecuada dentro del espacio muestral estudiado, y un valor de R^2 del modelo de 0,8717 indica que los factores explican el 87,17 % de variabilidad de las muestras.

La ecuación 4.3 indica que a menores concentraciones de cloruro de calcio y menores tiempo de agitación se obtiene un mayor grado de hinchamiento. En el caso de la fracción gel, el modelo no considera que el tiempo de agitación tenga un efecto significativo sobre esta propiedad. Sin embargo, sí considera a la concentración de cloruro de calcio como significativo. Inversamente al

grado de hinchamiento, al aumentar la concentración aumenta la fracción gel. Debido a que se considera prioritario obtener el mayor grado de hinchamiento posible se seleccionó la menor concentración de cloruro de calcio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) y el menor tiempo de agitación (10 min).

Con respecto a la cantidad de quitosano en la formulación, la misma no resultó significativa para el GH, pero sí lo fue su interacción con la concentración de alginato para la FG. De cualquier manera, se decidió mantener la concentración de quitosano lo más alta posible (4 % m/v) con el fin de no comprometer el efecto del quitosano sobre los mecanismos de defensas de las plantas. En el caso del ácido acético este no resultó significativo en ningún modelo, por lo cual se decidió utilizar el valor más bajo (1 % v/v). Esta decisión se basó tanto en motivos económicos como ecológicos, a fin de evitar el uso de mayor cantidad de material que no sea de origen natural en la formulación.

Finalmente, la concentración de alginato tampoco resultó significativa en el GH de las muestras, pero como se mencionó anteriormente su interacción con la concentración del otro biopolímero sí resultó significativa en la FG. Se decidió entonces analizar el efecto de dicha propiedad en los bioensayos en plantas de lechuga. Con este fin se seleccionaron dos formulaciones, una cuya predicción del modelo fuera de un valor de fracción gel alta y otra con un valor de FG bajo, variando la concentración de alginato.

El hidrogel con menor contenido de alginato se denominó A2.0 correspondiente a una concentración de alginato de 2,0 % m/v y el hidrogel con mayor contenido A3.5, con una concentración de 3,5 % m/v. Las formulaciones de ambos hidrogeles se resumen en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Formulación de los hidrogeles.

<i>Muestra</i>	<i>Concentración Cloruro de Calcio (mol.L^{-1})</i>	<i>Concentración Quitosano (% m/v)</i>	<i>Tiempo de agitación (min)</i>	<i>Concentración Alginato (% m/v)</i>	<i>Concentración Ácido acético (% v/v)</i>
<i>Hidrogel A2.0</i>	0,1	4	10	2,0	1
<i>Hidrogel A3.5</i>	0,1	4	10	3,5	1

Para validar los modelos y las predicciones de Taguchi, se realizaron ambas formulaciones y se midieron su GH y FG. En la siguiente tabla (Tabla 4.4) se resumen los valores predichos por el modelo para cada hidrogel y aquellos que se obtuvieron de las mediciones experimentales.

Tabla 4.4. Comparación entre las predicciones del modelo y las mediciones.

		Hidrogel A2.0	Hidrogel A3.5
GH (%)	<i>Predicción</i>	8.710 ± 1.527	8.708 ± 1.528
	<i>Experimental</i>	7.692 ± 333	6.090 ± 224
FG (%)	<i>Predicción</i>	92 ± 7	83 ± 7
	<i>Experimental</i>	82 ± 3	72 ± 7

Teniendo en cuenta un intervalo de predicción del 95 % de certeza, los resultados experimentales obtenidos para el hidrogel A2.0 se encuentran dentro del intervalo de predicción de Taguchi. En el caso del hidrogel A3.5, el grado de hinchamiento experimental no se encuentra dentro del intervalo de predicción obtenido por el método Taguchi, si bien la fracción gel sí lo hace. Taguchi desprecia las interacciones de tercer grado entre los factores, asumiendo que son bajas, para disminuir la cantidad de ensayos necesarios. Luego, la diferencia encontrada entre los resultados experimentales y la predicción del método puede deberse a tal suposición. En este caso es posible que alguna interacción de tercer orden sea significativa.

4.9 Conclusiones

En este caso los resultados obtenidos para el grado de hinchamiento del hidrogel A3.5 no corroboraron el modelo predicho por Taguchi. Para el resto, los resultados experimentales se encontraron dentro de los intervalos de predicción. Debido a esto debería realizarse el análisis factorial completo. Como la cantidad de ensayos es muy alta, lo más eficiente sería volver a realizar Taguchi con una menor cantidad de factores que se crean significativos o utilizar el Método de Superficie de Respuesta. Por ejemplo, podría descartarse la concentración de ácido acético y volver a obtener ambos modelos. Por cuestiones de tiempo, se decidió continuar con la caracterización de ambos hidrogeles que se obtuvieron del análisis realizado (A2.0 y A3.5) ya que, si bien el GH del mismo fue menor al predicho, el resultado obtenido sigue siendo prometedor para aplicaciones agrícolas tratándose de un hidrogel basado 100 % en polímeros naturales biodegradables.

Capítulo 5:

Caracterización de hidrogeles a base de alginato y quitosano

5.1 Introducción

La caracterización del hidrogel debe adaptarse de manera tal de evaluar las propiedades en relación a la aplicación para la que fue diseñado. Así, resulta importante obtener la curva de hinchamiento para evaluar la respuesta inicial del hidrogel y cómo varía la misma con un cambio del medio. Además, en este caso resulta necesario realizar ensayos en plantas, tal de simular el ambiente en el cual se desempeñará el hidrogel.

Para evaluar la morfología de los hidrogeles se utilizará la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM). Esta técnica permite la observación de materiales orgánicos e inorgánicos desde una escala nanométrica (nm) a micrométrica (μm), siendo posible obtener imágenes en tres dimensiones de la superficie de un amplio rango de materiales. Se utiliza principalmente para obtener imágenes topográficas en el rango de magnificación de $10\text{-}1.000 \times^{64}$.

Nuevamente se empleará la técnica de FTIR detallada en la sección 2.4.2 pero en este caso se utilizará para evaluar cualitativamente a los hidrogeles y la interacción de alginato/quitosano.

Otro de los factores a tener en cuenta es las temperaturas a las cuales pueden llegar los suelos, tanto bajas como altas, y si el hidrogel será capaz de resistirlas. Para evaluar la estabilidad térmica de los hidrogeles se utilizarán las técnicas de análisis termogravimétrico (TGA) y Calorimetría diferencial de barrido (DSC). TGA es una técnica que se emplea para evaluar la pérdida de masa en función de la temperatura resultado de transformaciones químicas o físicas, bajo condiciones de atmósfera inerte. DSC es una técnica de análisis térmico que mide el cambio de las propiedades físicas de una muestra con la temperatura en el tiempo. En otras palabras, determina la temperatura y el flujo de calor asociado a las transiciones de un material en función del tiempo y la temperatura. Cuando varía una temperatura, el equipo mide la cantidad de calor, la cual es irradiada o absorbida por la muestra, basándose en la diferencia de temperatura entre la muestra y una referencia⁶⁵.

5.2 Objetivos

El objetivo en esta instancia de la investigación fue caracterizar cualitativamente, la morfología, propiedades térmicas, comportamiento de hinchamiento y el desempeño en suelos de los hidrogeles obtenidos luego de la optimización por el Método Taguchi, A2.0 y A3.5.

5.3 Materiales y métodos

Se caracterizaron los hidrogeles que se obtuvieron en el capítulo 4, denominados A2.0 y A3.5. Además se repitió el proceso de obtención de ambos hidrogeles que se menciona en la sección 4.4 sin el agregado de quitosano disuelto en ácido acético. Estas muestras se denominaron control y se utilizaron para determinar cómo ciertas propiedades varían con la incorporación de quitosano.

5.3.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se analizaron tres condiciones para cada hidrogel y su control. Para la primera condición se obtuvieron los hidrogeles, se lavaron y se secaron. En este caso no se realizó ningún tratamiento posterior ni se realizó un corte transversal de las muestras, tal de solo se visualizar la superficie externa de estas. Para la segunda condición, se prepararon los hidrogeles y luego del lavado se congelaron y se liofilizaron, evitando el secado. El liofilizado extrae el agua de la estructura de manera controlada por lo que es posible visualizar la red del hidrogel cuando este se encuentra hinchado. Para la tercera y última condición, luego de la obtención y lavado de los hidrogeles, se secaron las muestras. Una vez que estas se encontraron completamente secas, se sumergieron en agua destilada por 24hs. Estas muestras también se liofilizaron.

Para poder realizar el corte y visualizar la estructura interna de ambas condiciones (2 y 3), se sumergieron las muestras en nitrógeno líquido (200 °C). Al encontrarse por debajo de la Tg de ambos polímeros, el hidrogel se comporta de manera frágil, lo que permite realizar un corte en la mitad. Las condiciones y sus características se resumen en la Tabla 5.1. El total de muestras fue 20, cinco para cada hidrogel (A2.0 y A3.5) y para sus controles.

Tabla 5.1. Condiciones de las muestras de SEM para los hidrogeles y sus controles.

Muestra	Condición	Estructura	Secado	Hinchamiento por 24 h	Liofilizado
A2.0 y control	1	Externa	X		
	2	Externa e interna			X
	3	Externa e interna	X	X	X
A3.5 y control	1	Externa	X		
	2	Externa e interna			X
	3	Externa e interna	X	X	X

Se utilizó el microscopio electrónico JSM-6460LV (Jeol, Japón) utilizando 15 kV. En todos los casos, las muestras debieron ser metalizadas con una capa de oro-paladio para obtener una superficie conductora.

5.3.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Al igual que en la sección 1.4.2, se utilizó la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier en modo de transmisión para caracterizar ambos hidrogeles A2.0 y A3.5. El barrido se realizó entre 400 y 4000 cm^{-1} en el espectrómetro Nicolet 6700 (Thermo Scientific, EE.UU.).

5.3.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se utilizó la calorimetría diferencial de barrido para caracterizar a los hidrogeles A2.0 Y A3.5 y sus respectivos controles. Los ensayos se realizaron utilizando un calorímetro TA Instrument Q2000. Las muestras se enfriaron en atmósfera de nitrógeno desde temperatura ambiente hasta $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, luego se calentaron hasta $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una rampa de calentamiento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

5.3.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se utilizó el análisis termogravimétrico para caracterizar a los hidrogeles A2.0 y A3.5 y sus respectivos controles. Las muestras se ensayaron en un equipo TA Instrument Q500. Se calentaron desde 30°C hasta 900°C a 10 °C/minuto en atmósfera de nitrógeno.

5.3.5 Curvas de hinchamiento

Se midió la curva de hinchamiento según el procedimiento detallado en la sección 2.6 y se calculó el grado de hinchamiento según la ecuación 2.9 para los hidrogeles A2.0 y A3.5. Se midió la respuesta de los hidrogeles en agua destilada y en agua de canilla para evaluar cómo afecta la presencia de sales en la solución la propiedad de hinchamiento. La curva se midió para las primeras 24 h.

5.3.6 Efecto de hidrogeles en sustratos y plantas de lechuga

Estrés hídrico

Las plantas de lechuga (*Lactuca sativa L, cv. divina*) se germinaron en placa con papel de filtro embebido en agua. Plántulas de 4 días se colocaron en recipientes conteniendo sustrato comercial Glow Mix Multipro (Terraferil, Argentina) y se crecieron en cámaras de cultivo a 25°C con 16:8 h luz-oscuridad durante 15 días con riego diario. Luego, se adicionó individualmente a cada recipiente 1 % p/p o 5 % p/p de hidrogeles A2.0 o A3.5. El tratamiento control consistió en plantas crecidas en sustratos sin suplementos de hidrogeles. Los 3 días siguientes a la suplementación con hidrogeles, las plántulas se regaron con agua de red hasta capacidad de campo. Se registraron los siguientes parámetros:

- Tratamiento de estrés hídrico: Las plantas de 18 días de edad y cultivadas como se indica previamente se sometieron a tratamiento de estrés hídrico, el cual consiste en no regar las plantas por 6 días.
- Humedad del suelo: se monitoreó la humedad del sustrato durante los seis días del tratamiento de estrés hídrico con un sensor de suelo.

- **Peso fresco:** Se cortó la parte aérea de las plantas de lechuga y se pesó en balanza granataria digital.

Se realizó un ensayo con 8 plantas por cada tratamiento. El análisis estadístico consistió en ANOVA y test de Dunnett's mediante el software GraphPad Prism 5.

Riego constante

Para este análisis se repitieron las condiciones de germinación, crecimiento y riego de los primeros 15 días mencionadas anteriormente. En este caso solo se adicionó 5% p/p de los hidrogeles A2.0 y A3.5. El tratamiento de control también consistió en plantas crecidas en sustrato sin suplemento de hidrogeles. En este caso las plántulas se regaron diariamente con agua de red hasta capacidad de campo durante 9 días. Se midió el parámetro de peso fresco.

- **Peso fresco:** Para su cuantificación se utilizaron plantas de 24 días de edad, se cortó la parte aérea de las plantas de lechuga y se pesó en la balanza granataria.
- **Área foliar:** Para su cuantificación se utilizaron plantas de 24 días de edad, se cortó la parte aérea de las plantas de lechuga y se midió su longitud y ancho.

Se analizaron 8 plantas para cada caso. El análisis estadístico consistió en un test *t* Student mediante el software GraphPad Prism 5.

5.4 Resultados

5.4.1 Caracterización morfológica

- **Condición 1:**

En la siguiente figura (Fig. 5.1) se pueden visualizar las micrografías SEM para ambos hidrogeles y sus controles.

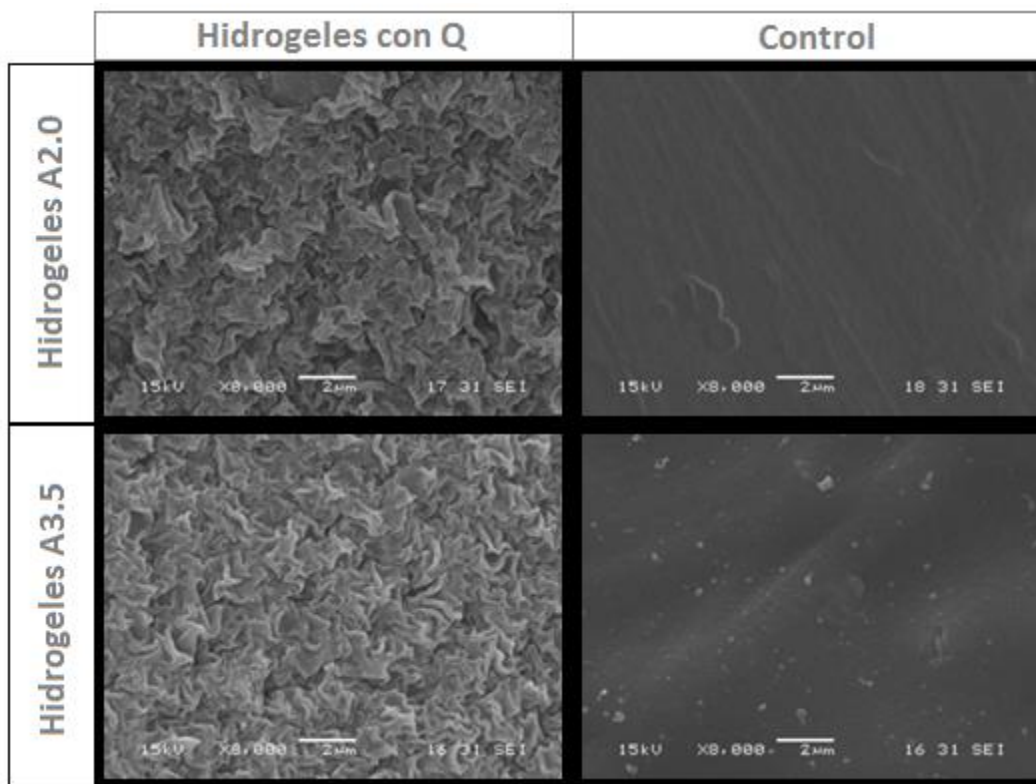


Figura 5.1. Micrografías SEM para ambos hidrogeles y sus controles en la condición 3.

En la figura 5.1 puede apreciarse que las estructuras de los hidrogeles son similares y en comparación a sus respectivos controles son completamente diferentes. Además, ambos controles son similares entre sí. Como consecuencia del tratamiento de la muestra hay un colapso de los poros y no se puede apreciar bien la morfología. Sin embargo, la diferencia en las micrografías confirma la formación del recubrimiento de quitosano y que la interacción entre polímeros altera la superficie del hidrogel. En el trabajo realizado por Wu y col. (2020)⁶⁶ pueden visualizarse hidrogeles con el concepto inverso, es decir, hidrogeles de quitosano con una capa externa de alginato para su aplicación en el control de sangrado de heridas. A pesar de que se utilizaron aditivos en la formulación y se utilizó como agente entrecruzante del quitosano el hidróxido de sodio, lo cual varía la estructura final, existe una similitud en los resultados. La capa externa de alginato posee una textura lisa, y los hidrogeles de quitosano sin la capa externa de alginato una textura rugosa, al igual que en la figura 5.1. La muestra control del hidrogel A3.5 presenta partículas blancas en la superficie. Estas pueden ser cristales de cloruro de calcio que no fueron eliminados con el lavado.

Luego de confirmar la presencia de quitosano en el exterior de los hidrogeles. A fin de analizar como el mismo y la variación en la concentración de alginato modifican la morfología, se analizaron las condiciones 2 y 3.

- Condiciones 2 y 3 para los hidrogeles A2.0:

En la siguiente figura (figura 5.2) se visualiza la superficie de los hidrogeles A2.0 para las condiciones 2 y 3.

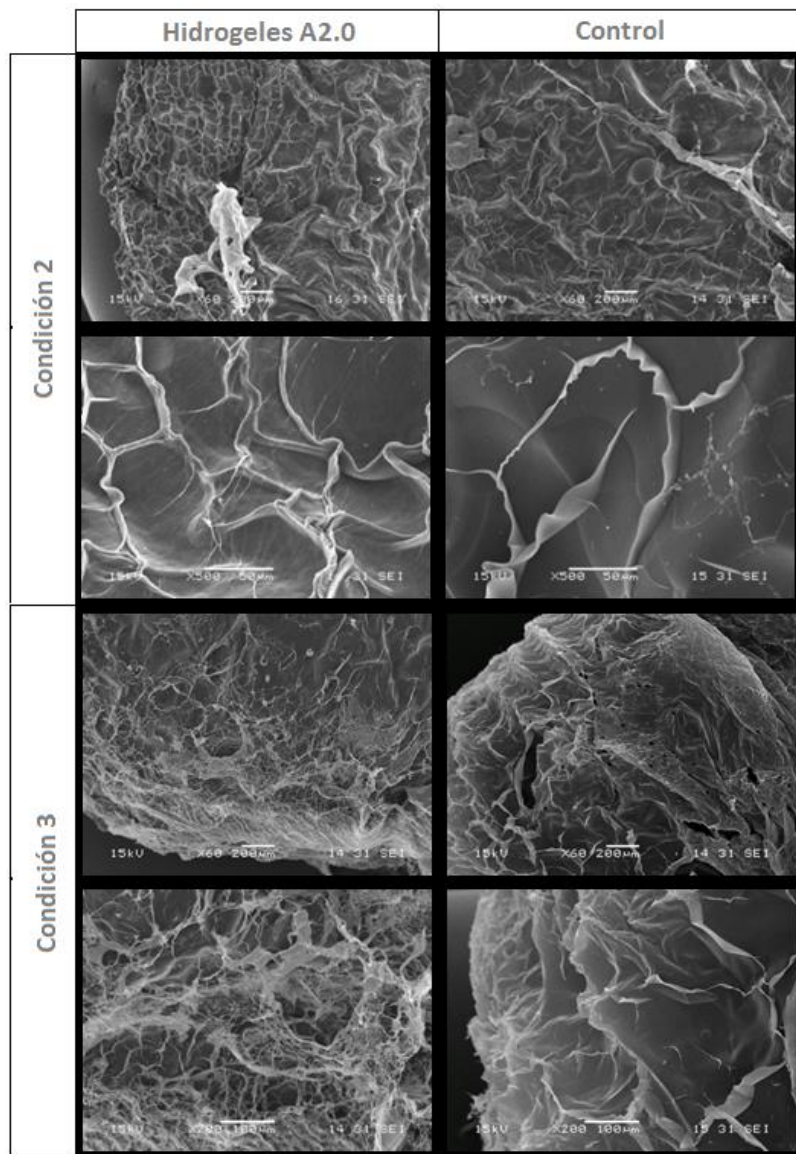


Figura 5.2. Micrografías SEM del exterior de los hidrogeles A2.0 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

En la figura 5.2 puede observarse en todos los hidrogeles una superficie rugosa y texturada. Para la condición 2, en la superficie del hidrogel se visualiza un cambio en la estructura que puede deberse a la interacción quitosano/alginate. En comparación con el control, la cara derecha de la superficie del hidrogel es la más similar. La cara izquierda posee una estructura del tipo panal que no se visualiza en el control. En un estudio realizado por Ron y Kwon (2002)²⁷ se obtuvieron hidrogeles de quitosano con un método de preparación similar al detallado en la sección 2.4 utilizando los mismos materiales más la incorporación de PEG como aditivo. Se analizaron diferentes concentraciones de la formulación y su efecto en la estructura. En las micrografías de este trabajo puede visualizarse la estructura tipo panal en hidrogeles. En el trabajo realizado por Iftime y col. (2019)⁶⁷ se prepararon hidrogeles de quitosano para acondicionamiento de suelos utilizando salicilaldehído, urea, etanol y ácido acético. En las micrografías también es posible visualizar la estructura tipo panal.

Observando la condición 3, la superficie de los hidrogeles luego de secarse e hincharse cambia. La gran diferencia puede deberse a que la estructura colapse con el secado como a la heterogeneidad de las muestras. Los macro poros que pueden visualizarse en el control en la condición 3 son posiblemente consecuencia del secado. A pesar de estos, la estructura de los hidrogeles L.A para la condición 3 es más porosa que el control.

En la siguiente figura (Fig. 5.3) puede verse la superficie interna de los hidrogeles A2.0 y su control para las condiciones 2 y 3.

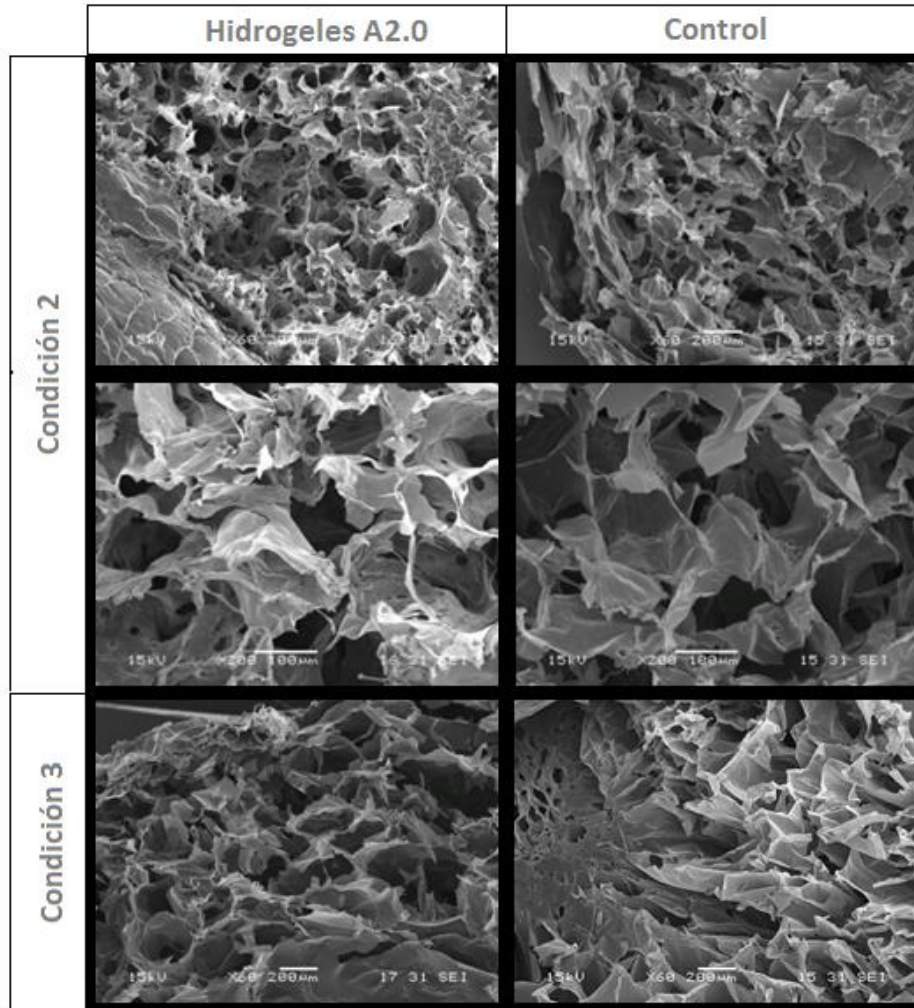


Figura 5.3. Micrografías SEM del interior de los hidrogeles A2.0 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

En la figura 5.3 puede observarse como el interior de todos los hidrogeles está compuesto un conjunto de láminas conectadas entre sí con presencia de microporos en las paredes y formando macroporos. Observando las micrografías para la condición 2 se visualiza que las estructuras interiores son similares. Sin embargo, el hidrogel muestra mayor porosidad que su control. La estructura de este último parece más compacta, aunque esto puede deberse al corte. En el estudio realizado por Song y col. (2020)⁶⁸ se conformaron hidrogeles a base de alginato con lignosulfonato de sodio y polvo de konjac utilizando cloruro de calcio como agente entrecruzante. A pesar de que las interacciones con los aditivos modifican la estructura, puede visualizarse en el interior de dichos hidrogeles, la morfología en láminas interconectadas que se visualizó en la figura 5.2. En otros trabajos del grupo CoMP, Tomadoni y col. (2020)⁶⁹, se prepararon hidrogeles

de alginato de la misma manera que se prepararon las muestras control. En el caso de la muestra standard 2 se utilizó el doble de la concentración de cloruro de calcio. En las micrografías de dicha muestra puede observarse la estructura compuesta por láminas interconectadas. En este caso la estructura es menos porosa. Cuanto mayor es la concentración de cloruro de calcio mayor es el grado de entrecruzamiento y por ende la estructura más compacta.

Para la condición 3, en los hidrogeles se observa una estructura más compacta. Nuevamente este efecto puede deberse al secado. Sin embargo, el hidrogel sigue manteniendo la estructura en láminas interconectadas, generando menor volumen de macroporos. En cuanto a la microporosidad, no debería cambiar con este proceso, esto puede deberse a la heterogeneidad que posee el hidrogel, y por ende las muestras. En la muestra de control para esta condición se visualiza una orientación de las láminas que no se visualiza previo al secado.

- Condiciones 2 y 3 para los hidrogeles A3.5

En la siguiente figura (Fig. 5.4) se visualiza la superficie de los hidrogeles A3.5 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

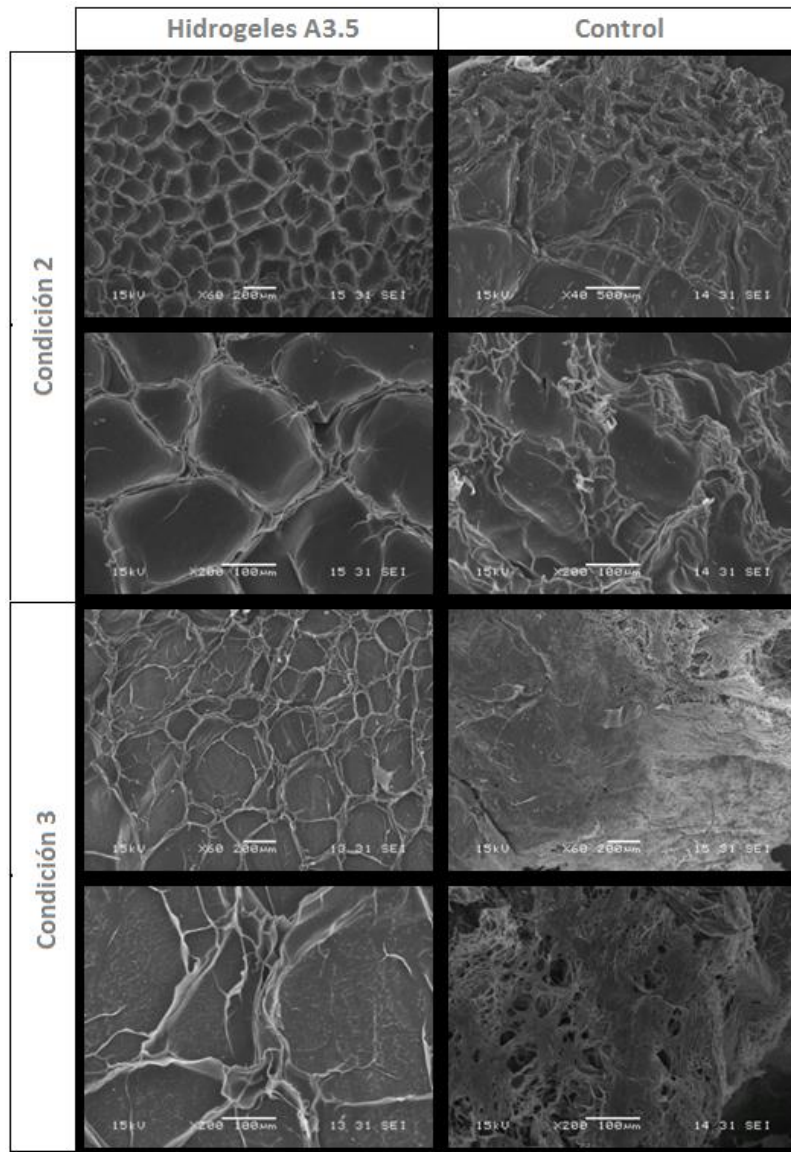


Figura 5.4. Micrografías SEM del exterior de los hidrogeles A3.5 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

En la figura 5.4 nuevamente se visualiza la estructura tipo panal, que se observó en la figura 5.2, en los hidrogeles A2.0. En comparación con este, la estructura tipo panal se encuentra en la totalidad de la superficie, es más uniforme y las uniones son más densas. Además, en la formulación del hidrogel A3.5, las concentraciones de quitosano y alginato eran casi iguales, esto puede aumentar la interacción y ser la causa de esta morfología diferente.

Observando la condición 3, la superficie del hidrogel A3.5 previo al secado y posterior al secado e hinchamiento es similar. En el caso del control, la estructura es completamente diferente y se visualiza una gran cantidad de macroporos en la superficie. Este mismo comportamiento se visualizó para los hidrogeles de control de A2.0 en la figura 5.2.

En la siguiente figura (Fig. 5.5) se visualiza el interior de los hidrogeles A3.5 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

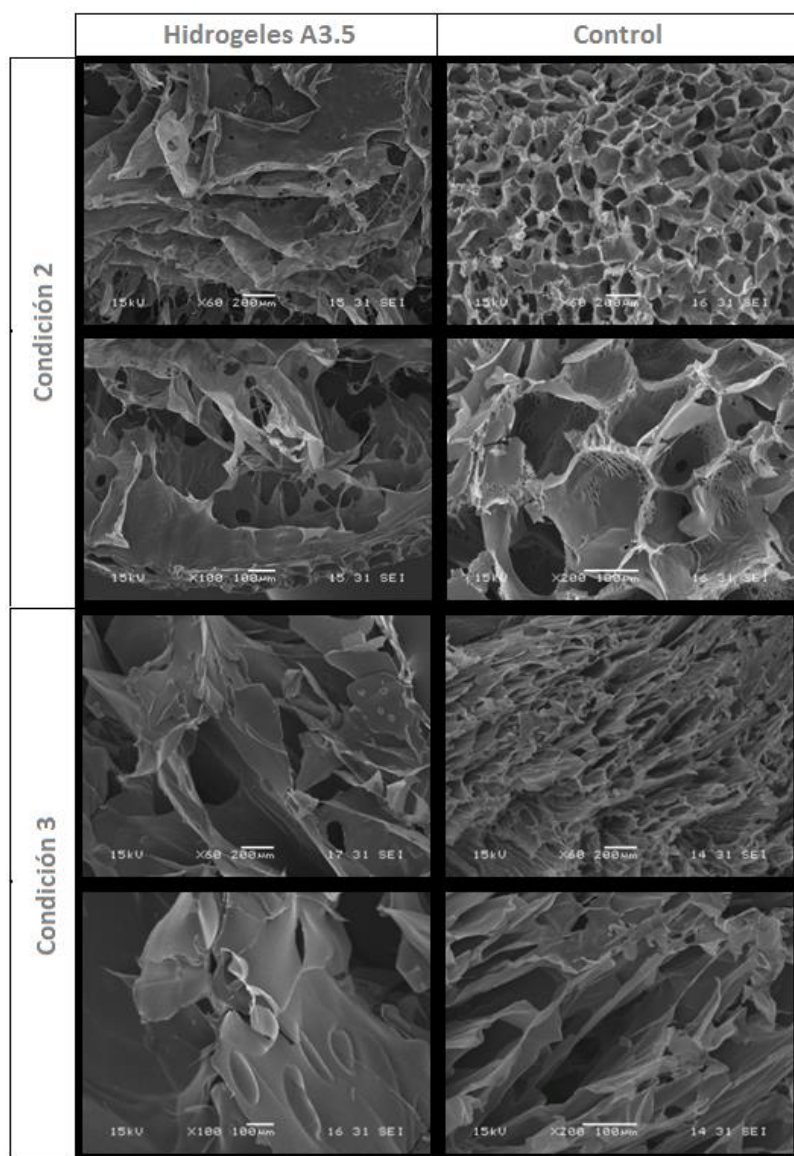


Figura 5.5. Micrografías SEM del interior de los hidrogeles A3.5 y sus controles para las condiciones 2 y 3.

En la figura 5.5 puede observarse que los hidrogeles A3.5 en la condición 2 poseen la estructura en láminas visualizada anteriormente (ver Fig. 5.3) pero con un mayor tamaño de poros mayor, tanto micro como macro. Contrariamente, el control posee una estructura más compacta y más uniforme.

Comparando ambas condiciones (2 y 3) para el hidrogel A3.5 no se visualizan muchas diferencias. En el caso del control se visualiza una orientación definida de las láminas, como en el caso de los controles A2.0 (ver Fig. 5.3).

La velocidad de formación del gel como la morfología se ven afectadas por la interacción de los iones calcio con alginato. Rajmohan y Bellmer reportaron que independientemente en la metodología de gelación, cuando aumentaba la concentración de alginato aumentaba la rigidez de la membrana externa de los geles⁷⁰. Cuando se vuelve más rígida, se ve menos favorecida la entrada de los iones calcio. Esto resulta en una membrana externa altamente entrecruzada y un interior poco entrecruzado. Este efecto se visualiza en la fracción gel ya que disminuye. Las observaciones reportadas por Lupo y col. muestran que los geles con membranas más rígidas poseen una estructura interna con un tamaño de poro mayor⁷¹.

En el caso de los controles no se observó este comportamiento, ya que al aumentar la concentración del alginato no solo se obtuvo una membrana externa más rígida, sino que un interior menos poroso. Esta estructura más compacta puede deberse a un exceso de alginato de sodio sin reaccionar producto de la falta de difusión del calcio a causa de la rigidez de la membrana. En el caso de ambos hidrogeles (A2.0 y A3.5) si es posible visualizar ese comportamiento, ya que los hidrogeles A3.5 (mayor concentración de alginato) tienen una membrana más rígida, un interior poroso y una fracción gel más baja (ver sección 4.9) a comparación de los hidrogeles A2.0 .

5.4.2 Caracterización cualitativa

En la figura 5.6 se visualiza las curvas de FTIR que se obtuvieron para los hidrogeles A2.0 y A3.5 junto con los valores de las bandas de absorbancia.

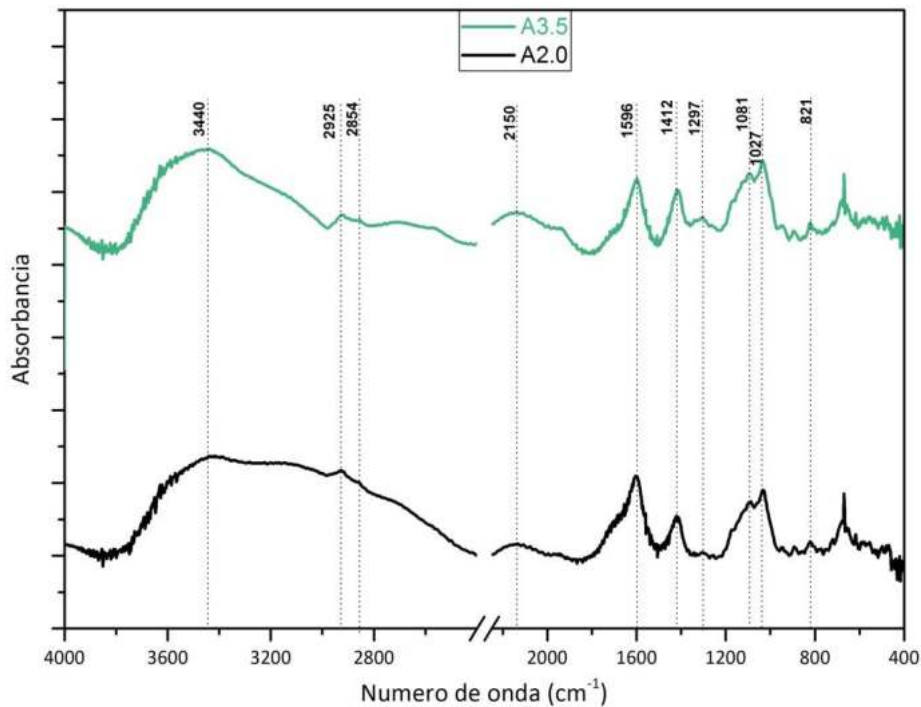


Figura 5.6. Curvas de FTIR para los hidrogeles A2.0 y A3.5.

El alginato de sodio posee bandas entre 3000-3700 cm^{-1} debidas al estiramiento del grupo O-H. Entre 2850 y 3000 cm^{-1} se encuentra la banda producto del estiramiento axial del C-H y en 1620 cm^{-1} se observa el pico correspondiente del grupo carbonilo C=O. Se observa el estiramiento no simétrico de COO^- en 1596 cm^{-1} y entre 1416-1412 cm^{-1} el simétrico. En 1297 cm^{-1} se observa una banda debida a la vibración de la estructura (esqueleto). Por último, en el rango de 1027-1081 cm^{-1} se produce una banda por el estiramiento no simétrico C-O-C^{61,72}. Cuando es entrecruzado con cloruro de calcio, el alginato muestra el pico correspondiente al estiramiento simétrico y no simétrico del anión carboxilato a 1610 y 1416 cm^{-1} respectivamente. Además en 820 cm^{-1} se visualiza el estiramiento del enlace Na-O⁷³.

El quitosano posee una banda alrededor de los 3430 cm^{-1} producto del estiramiento del grupo O-H que se superpone con la banda de estiramiento de N-H. Se visualiza una banda a 2870 cm^{-1} debida al estiramiento axial de C-H. La mayor banda en el espectro se debe al estiramiento de C=O de las unidades de acetilo en 1656 cm^{-1} (Amida I). La banda de amida II aparece en el rango de 1594 cm^{-1} y suele superponerse con la banda de -NH de la amina. La deformación angular simétrica del CH_3

se observa a 1376 cm^{-1} y es estiramiento de C-N en 1320 cm^{-1} (amida III). Estas bandas son más intensas cuanto mayor es el grado de desacetilación del quitosano. Finalmente bandas específicas del estiramiento de $\beta(1\rightarrow4)$ glucósido C-O y C-O-C en $1052-1030\text{ cm}^{-1}$ ⁷⁴.

Tabla 5.2. Picos característicos de alginato, quitosano y resultados obtenidos.

Longitud de onda de picos característicos (cm^{-1})		
Alginato	Quitosano	Resultados
3700-3000	3340	3600-3000
3000-2850	2870	2925-2854
1620	1656	1595
1610	1594	
1416-1412	1376	1412
1297	1320	1297
1081-1027	1052-1030	1081-1027

El alginato de sodio y el quitosano comparten bandas, y muchas de bandas características de cada uno se encuentran en los mismos rangos. Por este motivo es fácil que estas se superpongan y no pueda definirse a que enlace corresponden. En este caso se visualizan las bandas correspondientes al estiramiento de O-H y C-H, en el rango de $3700-3000\text{ cm}^{-1}$ y entre $3000-2850\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. Dentro del rango de $1620-1594\text{ cm}^{-1}$ deberían visualizarse cuatro picos, solo se observa un pico a 1595 cm^{-1} . Las bandas en 1412 cm^{-1} , 1297 cm^{-1} y $1081-1027\text{ cm}^{-1}$ coinciden con bandas características del alginato.

Nuevamente en otro trabajo del grupo CoMP, Tomadoni y col. (2020)⁶⁹, se obtuvo el espectro de FTIR de hidrogeles similares al control (se utilizó el doble de concentración de calcio). En este caso los picos característicos del enlace COO^- se encontraron a 1604 y 1421 cm^{-1} . Por lo que la incorporación de quitosano, modificó los picos característicos del espectro. Al igual que en la sección 5.4.1 se confirma su presencia en la estructura del hidrogel.

En la bibliografía puede verse como los picos originales se corren al producirse la unión. Baysal y col. (2013)⁶¹ prepararon hidrogeles de alginato y quitosano utilizando un catalizador y N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) como agente entrecruzante para su aplicación en crecimiento de células. En las curvas de FTIR puede visualizarse la variación de los espectros.

En el estudio realizado por Dai y col. (2008)⁷⁵ se obtuvieron hidrogeles de quitosano/alginate mediante el método PEC y el método ME (ver sección 4.4) para liberación de drogas, más específicamente Nifedipina, utilizando como agente entrecruzante cloruro de calcio. En las curvas de FTIR se observan resultados similares. El pico característico de quitosano a 1656 cm^{-1} producto de la Amida I tampoco se visualiza en el espectro de los hidrogeles, aunque si en el espectro del quitosano.

5.4.3 Caracterización térmica

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

En la siguiente figura pueden visualizarse las curvas de DSC de los hidrogeles A2.0 y A3.5 sus respectivos controles.

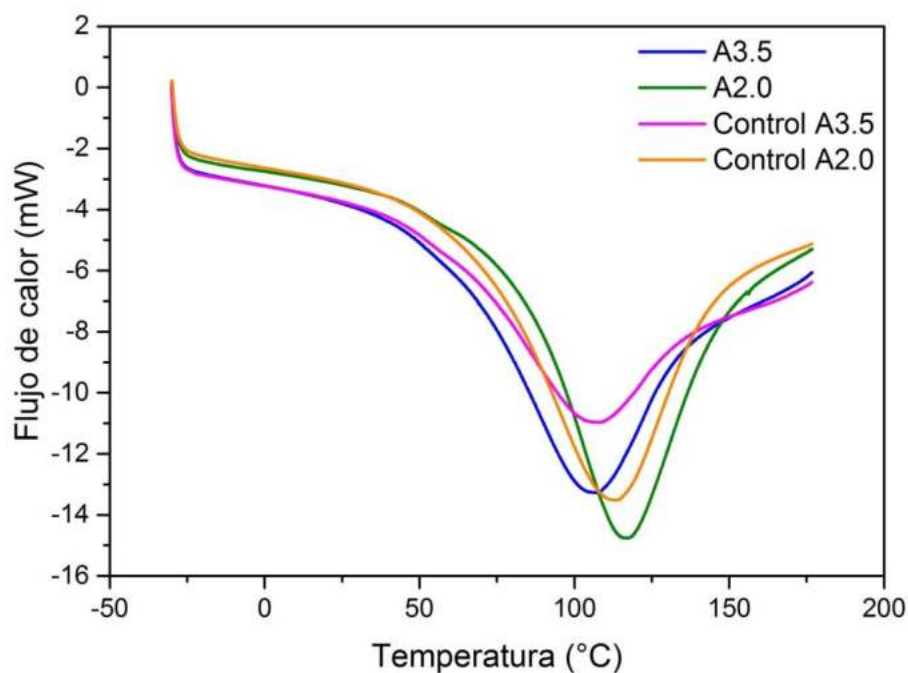


Figura 5.8. Curvas de DSC de los hidrogeles A2.0 y A3.5 y sus controles.

Las temperaturas del suelo pueden ir desde -5 °C en caso de una helada hasta 50 °C en caso de temperaturas altas⁷⁶. El pico de descomposición que se observa en el caso de las muestras posiblemente corresponde a la desorción de moléculas de agua y ocurre a temperaturas mayores que la de uso. El hidrogel A2.0 y su control poseen un pico de descomposición mayor que el hidrogel A3.5 y su control, lo cual puede deberse a que el hidrogel A2.0 retiene más agua en su estructura (ver sección 4.8).

Análisis termogravimétrico (TGA)

La degradación térmica de alginato ocurre en tres etapas. La primera se relaciona con la deshidratación (100-200 °C), la segunda con la descomposición de la cadena principal (200-585 °C) y la tercera se debe a la formación de bicarbonato de sodio (588-751 °C) dejando residuos de material carbonoso⁷⁷. La degradación térmica del quitosano también ocurre en tres etapas. Al igual que el alginato, la primera se debe a la deshidratación (100-200 °C), la segunda se asocia con la desacetilación del quitosano (200-300 °C) y la tercera se debe a la oxidación del residuo carbonoso (> 500 °C)⁷⁸.

En la figura 5.8 pueden visualizarse las curvas de TGA y DTGA para los hidrogeles A2.0 y A3.5 sus controles.

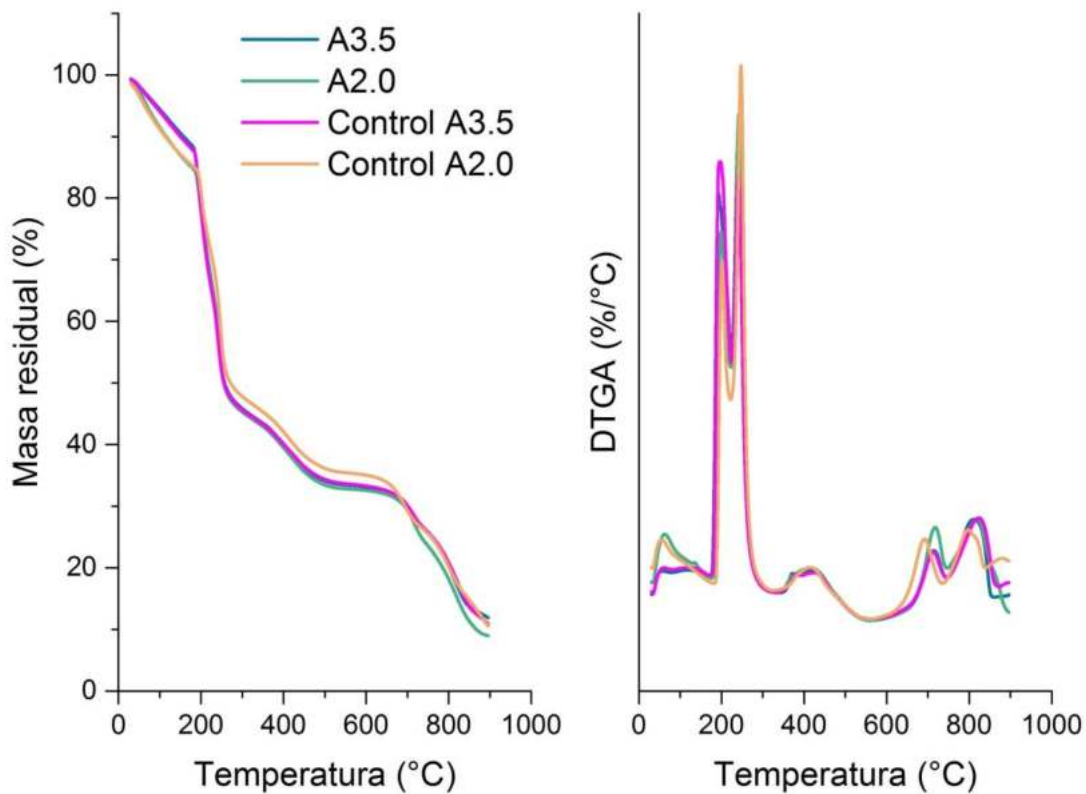


Figura 5.7. Curvas de TGA y DTGA de los hidrogeles A2.0 y A3.5 y sus controles.

Para los hidrogeles de control se visualizan los eventos térmicos mencionados previamente correspondientes al alginato. No se observa una gran diferencia en las curvas de hidrogeles con las muestras de control ya que los polímeros tienen comportamientos térmicos similares. Al igual que en DSC, en el rango de utilización solo se observa la desorción de moléculas de agua, lo cual es deseado.

5.4.4 Comportamiento de hinchamiento

Las curvas de hinchamiento obtenidas para los hidrogeles A2.0 y A3.5 se presentan en la figura 5.12. El grado de hinchamiento máximo y el tiempo al cual ocurrieron para cada hidrogel se presentan en la Tabla 5.3. Los valores obtenidos para la fracción gel en la sección 4.9 fueron 82 % y 71,8 % respectivamente.

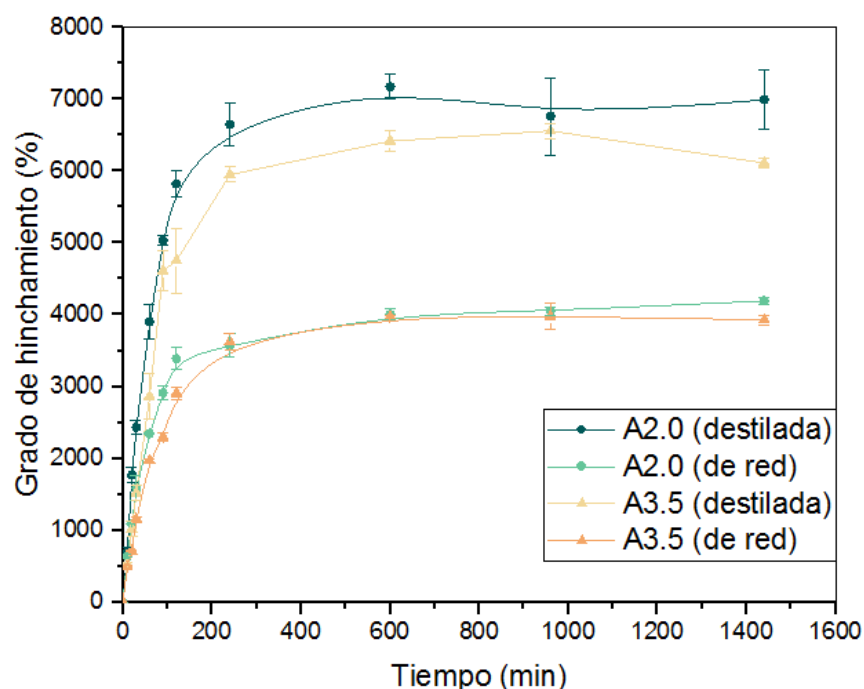


Figura 5.12. Curvas de hinchamiento en agua destilada y agua de red de los hidrogeles A2.0 y A3.5.

En la figura 5.12 se observa cómo afecta el medio acuoso al cual se expongan los hidrogeles la propiedad del hinchamiento. La presencia de iones disminuye la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles por las interacciones que se producen con los componentes, dificultando el almacenamiento de agua. Sin embargo, ambos hidrogeles poseen una buena capacidad de hinchamiento, especialmente en agua destilada.

Tabla 5.3. Grado y tiempo de hinchamiento máximo para los hidrogeles A2.0 y A2.5.

Hidrogel	Tipo de agua	Tiempo para el máximo grado de hinchamiento (min)	Grado de hinchamiento máximo (%)
A2.0	<i>Destilada</i>	600	7.176 ± 176
	<i>De red</i>	1.440	4.194 ± 44
A3.5	<i>Destilada</i>	960	6.559 ± 104
	<i>De red</i>	960	3.980 ± 189

En un estudio realizado por Mi y col. (2002)⁵³ desarrollaron hidrogeles a base de alginato y quitosano entrecruzados con genipín para liberación controlada de Indometacina. Estos autores reportaron valores de hinchamiento de aproximadamente 1800 % en los hidrogeles sin la incorporación del fármaco. En otro estudio, Dai y col. (2008)⁷⁵ reportaron valores de hinchamiento de aproximadamente 8000 % con la incorporación del principio activo. Baysal y col. (2013)⁶¹ obtuvieron hidrogeles con grados de hinchamiento máximos en el rango de 1000-6000 %. En comparación a la bibliografía mencionada los resultados obtenidos son competitivos con otros hidrogeles a base de quitosano/alginato.

Además, Baysal y col. (2013)⁶¹ concluyeron que el agregado de alginato disminuía la capacidad de hinchamiento. Estos resultados son compatibles con los obtenidos para los hidrogeles A2.0 y A3.5, por ser éste en el caso de los hidrogeles A3.5 menor. En la sección 5.4.1 pudo verse como el contenido de alginato modifica la morfología de los hidrogeles. Los hidrogeles A2.0 poseen una membrana externa menos rígida que los hidrogeles A3.5, que permite el ingreso y almacenamiento de un mayor contenido de agua.

En un estudio realizado por Kiran y col. (2019)⁴⁰ se obtuvieron hidrogeles a partir de acrilamida, N-(hidroximetil)acrilamida y persulfato de potasio como iniciador para la liberación de urea como fertilizante. Se obtuvieron hinchamientos máximos de aproximadamente 2000 % en los primeros 300 minutos sin la incorporación de urea. Cannazza y col. (2014)⁷⁹ prepararon hidrogeles a partir de celulosa para su aplicación como acondicionadores de suelo y obtuvieron hinchamientos de aproximadamente 7300 %. Los autores Fang y col. (2019)⁸⁰ desarrollaron hidrogeles a partir de quitosano, ácido acrílico y acrilamida y obtuvieron hinchamientos de 61.500 %. En comparación a otros hidrogeles desarrollados para su uso en agricultura, los valores del grado de hinchamiento de los hidrogeles A2.0 y A3.5 resultan competitivos. Además, están basados en polímeros 100 %

naturales, a diferencia con la bibliografía mencionada que incluyen componentes naturales y sintéticos que dificultan la degradación en suelo.

5.4.5 Caracterización en plantas de lechuga

Estrés hídrico

En la figura 5.9 puede visualizarse la variación de la humedad en sustratos a lo largo de seis días para la muestra control y los hidrogeles.

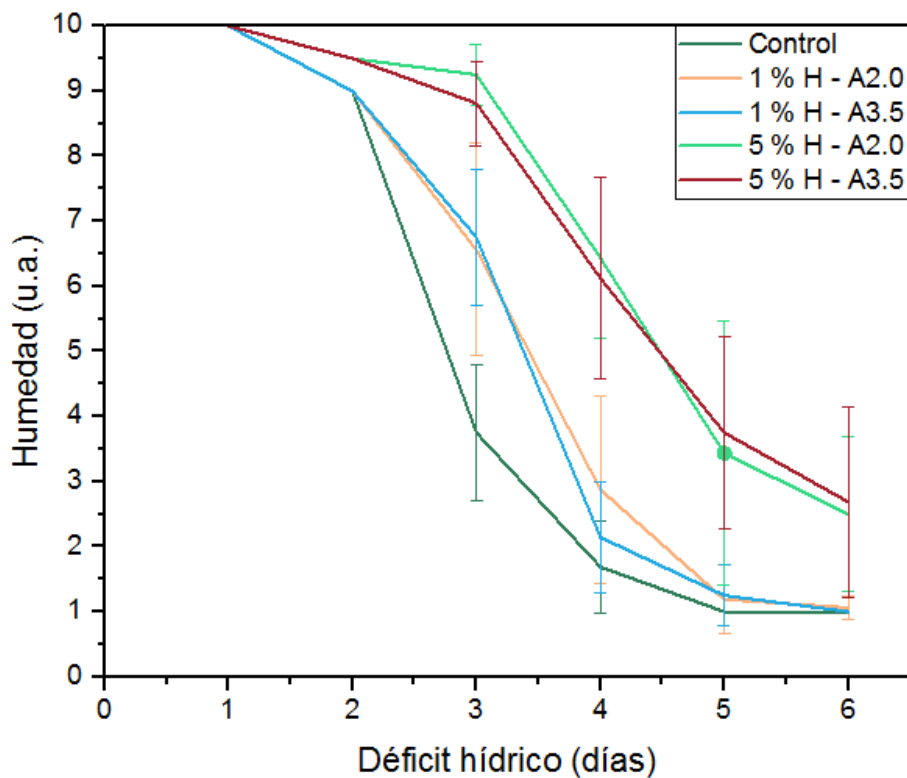


Figura 5.9. Humedad del sustrato sometido a 6 días de déficit hídrico.

El contenido de agua en el sustrato fue afectado por la cantidad de hidrogel suplementando. Independientemente del contenido de alginato, el sustrato suplementado con 5 % p/p de hidrogeles conservó 20 % más la humedad respecto al sustrato sin hidrogeles en condiciones de

déficit hídrico. La diferencia de comportamiento del sustrato con diferentes hidrogeles (A2.0 y A3.5) es mínima (ver Fig. 5.9).

Además, en esta condición las plantas crecidas en sustrato suplementado con 5% p/p de hidrogeles A2.0 mostraron un aumento en la biomasa fresca aérea del 48% respecto a aquellas plantas crecidas en ausencia de hidrogeles. En sustrato suplementados con hidrogeles A3.5 este incremento de biomasa fresca fue del 20 %. Los sustratos suplementados con 1 % p/p de hidrogeles A2.0 y A3.5 no mostraron diferencia en la humedad respecto del sustrato sin hidrogeles. Asimismo, las plantas crecidas en dichos sustratos no mostraron diferencias en la biomasa fresca aérea (ver Fig. 5.10).

La incorporación de hidrogeles A2.0 en un 5 % p/p mostró la mejor respuesta para el control de humedad en suelos y el crecimiento de las plantas de lechuga (mayor aumento de la biomasa respecto del control). Por este motivo se decidió evaluar el desempeño de dichos hidrogeles en esa concentración para la condición de riego controlado.

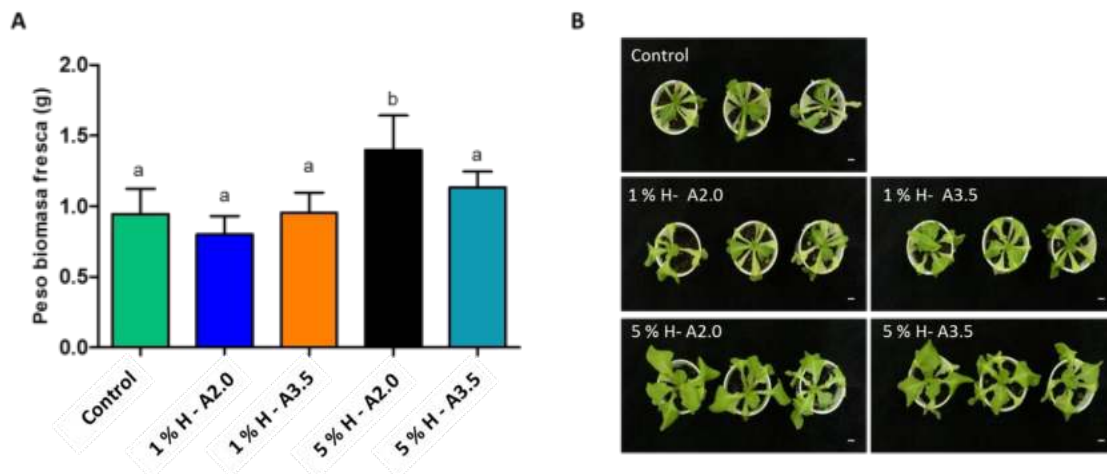


Figura 5.10. Efecto sobre la biomasa aérea de plantas de lechuga en base al peso fresco de la biomasa (a) Cuantificación del peso fresco (b) Fotografía representativa.

En este caso las plantas crecidas en sustrato suplementados con 5 % A2.0 disminuyeron en un 60 % el peso de la biomasa fresca y la cobertura foliar respecto del control sin hidrogeles (ver Fig. 5.11.b). Esta diferencia en la biomasa se puede atribuir al efecto del quitosano contenido en los hidrogeles, el cual en altas dosis altas pude inhibir el crecimiento y desarrollo de las plantas.

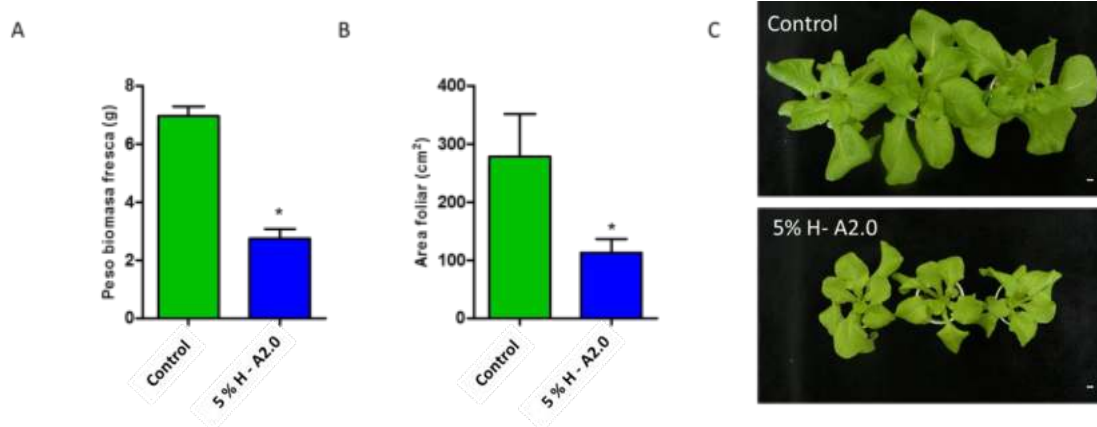


Figura 5.11. Efecto sobre la biomasa y aérea de plantas de lechuga en base al peso fresco de la biomasa con hidrogeles A2.0 (a) Cuantificación del peso fresco (b) Cuantificación del área foliar (c) Fotografía representativa.

Se seleccionó el contenido más alto del quitosano para propiciar el crecimiento de las plantas. Sin embargo, se logró el efecto contrario. La formulación deberá ajustarse a valores tal de generar un efecto positivo en el crecimiento de las plantas. A pesar de esto, en la condición de estrés hídrico los hidrogeles mostraron resultados positivos en el desempeño en control de humedad en suelos.

5.5 Conclusiones

Se logró caracterizar la morfología, composición, propiedades térmicas, comportamiento de hinchamiento y en plantas de ambos hidrogeles. Las caracterizaciones morfológica y cualitativa verificaron la formación del recubrimiento de quitosano. La morfología se vio afectada por la incorporación de quitosano y por el aumento en la concentración de alginato. La incorporación de

quitosano en la superficie del gel modificó levemente las propiedades térmicas. Los grados de hinchamiento obtenidos para ambos hidrogeles son buenos ya que obtuvieron valores similares o mayores a otros hidrogeles a base de quitosano y alginato. En relación a hidrogeles que se utilizan en agricultura, resultan competitivos por estar formados por polímeros 100 % naturales.

En el capítulo 2 se obtuvieron hidrogeles con una capacidad de hinchamiento del 105 %. Al agregar alginato se obtuvieron hidrogeles con una capacidad de hasta 7.176 %. Por lo que la incorporación de alginato y la optimización de la formulación cumplieron el objetivo de mejorar las propiedades de hinchamiento. Se obtuvieron valores de grado de hinchamiento mayores a lo esperado.

El producto fue planteado para control de humedad en suelos y para mejorar el crecimiento de la planta. En la condición de estrés hídrico el hidrogel A2.0 en un 5 % p/p reportó los mejores resultados, mejorando el control de humedad y el crecimiento de lechuga en relación a la muestra control. En la condición de riego controlado, el agregado de estos hidrogeles disminuyó el crecimiento de las plantas de lechuga. Posiblemente la alta concentración de quitosano presente en los materiales inhibió el crecimiento. Debido a esto se requieren mayores pruebas para ajustar la formulación para lograr que el quitosano promueva el crecimiento de las plantas no sólo ante una sequía, sino también ante una situación de riego óptima. Por lo tanto, el análisis de factibilidad económico se planteará solo teniendo en cuenta el primer uso, es decir, para aumentar la capacidad de retención de humedad del suelo.

Capítulo 6:

Evaluación económica

Proyecto SEAGEL

6.1 Resumen ejecutivo

En las últimas décadas, el cambio climático y sus impactos en la agricultura se han intensificado. Por este motivo, uno de los principales objetivos de este siglo es implementar prácticas más sustentables, una utilización consciente de los recursos no renovables y la incorporación de agroinsumos biodegradables, con el fin de evitar la contaminación ambiental y cuidar la salud de los consumidores⁸¹.

Considerando el mercado potencial que se genera a partir de lo mencionado, el proyecto que se describe a continuación tiene por objetivo la creación de una empresa, que se denominada SEAGEL, para la producción de hidrogeles a base de alginato de sodio, el cual se obtiene de desechos de algas y es biodegradable, y con el fin de utilizarlos en control de humedad en suelos para disminuir el consumo de agua de riego.

Para cumplir dicho objetivo, se plantea la creación de una planta de la ciudad de Mar del Plata, con una vida útil de cinco años. La misma se encontrará ubicada en la Parque Industrial General Savio. El producto es único en el mercado ya que su formulación es a base de polímeros 100 % naturales.

En cuanto al análisis económico, al realizar la estimación de la inversión requerida se encuentra que la misma es de USD 1.333.427, esta contempla la instalación de la planta, la cual se afrontará con capital propio.

La rentabilidad del proyecto se evaluó con dos métodos: tasa interna de retorno (TIR), que es un método dinámico, y tiempo de repago, que es un método estático. El precio es mayor que el de los hidrogeles comerciales pero presentan la ventaja de no generar ningún residuo al finalizar la cosecha.

Al finalizar el proyecto se estima una tasa interna de retorno del 53 %, con un tiempo de repago, es decir el tiempo necesario para recuperar la inversión, de dos años. Ya que esto es menor a la mitad de la vida útil del proyecto y la tasa de inflación de 43,4 %, se considera que el proyecto es rentable.

6.2 Antecedentes

El producto surge como una alternativa ecológica a los hidrogeles comerciales en base a poliacrilato de potasio o poliacrilamida de sodio⁸². Actualmente, no existe un producto de estas características en el mercado, los productores agropecuarios optan por insumos que no son sustentables o el exceso de riego.

El proyecto se plantea dentro del contexto de concientización ambiental y la creciente incorporación de prácticas sustentables en la agricultura. Además, surge en respuesta a la escasez de agua generada por su consumo excesivo.

6.3 Análisis de mercado

6.3.1 Análisis de las necesidades del mercado

Los impactos del cambio climático agotan la capacidad de los recursos naturales (biodegradabilidad, suelo y agua) que son necesarios para mantener la demanda de alimentos de la población mundial creciente. Por lo tanto, la seguridad alimenticia y el cambio climático son desafíos entrelazados que necesitan ser encarados simultáneamente. Aumentar la eficacia de los recursos en agricultura y disminuir los riesgos del cambio climático son acciones claves para enfrentar estos desafíos⁸³.

Entre los impactos más relevantes del cambio climático que afectan la producción agrícola se pueden mencionar: incremento de temperaturas, disminución de disponibilidad hídrica, e incremento de eventos extremos (inundaciones, heladas, granizo, etc.) (Fig. 6.1). Se estima que las pérdidas de productividad asociadas al cambio climático, pueden reducir entre 3 y 17 % el PIB agrícola en algunos países de la región latinoamericana⁸⁴.

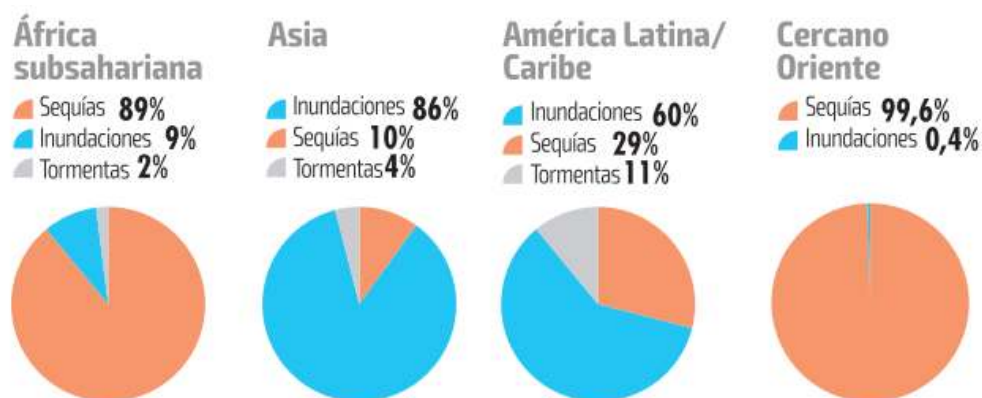


Figura 6.1. Pérdidas y desperdicio de la producción agrícola⁸¹.

Entre 2003 y 2013, las sequías provocaron la mayor devastación de tierras del África subsahariana y Cercano Oriente. Graves inundaciones pusieron en riesgo la agricultura de Asia y América Latina y el Caribe, pero en esta última región, y aunque en menor medida, las sequías y tormentas también afectaron al sector agrícola⁸¹.

En la región que abarca la mayor parte de la zona apta para la producción de cultivos extensivos de la República Argentina, la agricultura se desarrolla esencialmente bajo condiciones de secano, con elevada tecnología y uso de insumos. Las anomalías del clima, especialmente las relacionadas con las lluvias, suelen ser la principal causa de la variabilidad interanual de la productividad⁸⁵.

Ante el aumento de incertidumbre en relación a los eventos climáticos y el aumento de la demanda alimenticia de una población mundial creciente, en el sector agrícola surge la necesidad de disminuir los impactos negativos del clima en la producción. Para esto el sector se encuentra en búsqueda de diferentes tecnologías o productos que permitan reducir el riesgo de pérdidas de producción o aumentar la eficacia. Otra necesidad surge a partir de la falta de disponibilidad de recursos naturales. Debido a excesivo consumo de agua, este recurso es escaso en algunas zonas.

Además, actualmente existe una tendencia hacia la sustentabilidad en varios sectores productivos. Poder asegurar un producto amigable con el medio ambiente le otorga un valor agregado al producto.

6.3.2 Mercado

Mercado Nacional

La Argentina cuenta con una superficie de 278 millones de ha, donde el 13,9 % corresponde a la superficie cultivada. En cuanto a Argentina en particular, es importante destacar que su superficie total cultivada, presenta en el periodo de 1992-2012, un crecimiento sostenido (de 27,80 millones de hectáreas en 1992 a 39,04 millones de ha en 2012, con un impulso particular desde 2002 (ver Fig. 6.2)⁸⁴.

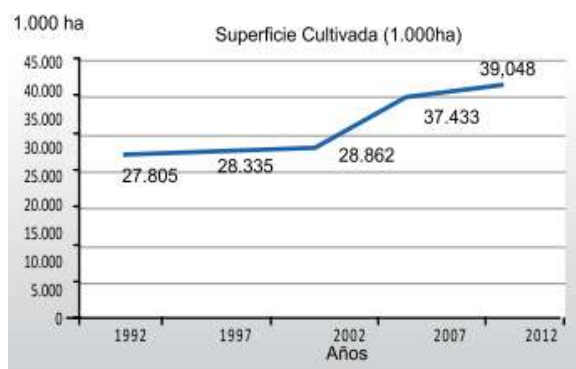


Figura 6.2. Evolución de la superficie cultivada en Argentina (1.000ha)⁸⁴.

El aumento de la demanda de alimentos y el incremento de sus precios, junto con los impactos generados por el cambio climático, presentan desafíos y oportunidades para el riego como herramienta de desarrollo.

La superficie regada en Argentina fue variando en función del tiempo según registros. Mientras en 1970 la misma ocupaba 1.066.143 ha en 1989 se incrementó según FAO a 1.760.000 ha lo cual representaba el 4,9 % del total de la superficie cultivada. A nivel oficial no existe información actualizada para conocer la evolución de la superficie regada. Lo más contemporáneo, son los resultados del censo nacional agropecuario 2002, que muestra una superficie regada a nivel nacional de 1.356.000 ha, lo que representaba un 0,49 % del territorio nacional. Según el censo, la tasa de crecimiento anual del área bajo riego nacional era del 2,7 %⁸⁶.

En el año 2002 según el Censo Nacional Agropecuario (CNA) existía en la Argentina riego por gravedad en 22 de las 23 provincias, aspersión en 20 sobre 23 y localizado en 23 sobre 23. El 69 % de la superficie censada se aplicó por gravedad, un 21 % por aspersión y localizado 10 % de la

superficie regada nacional (Fig. 6.3). El riego localizado se aplicó en solo 4 de las 23 provincias. El 65 % de ésta superficie se riega a partir de fuentes superficiales y el resto con agua subterránea, siendo el número total de regantes alrededor de 145.000⁸⁷.

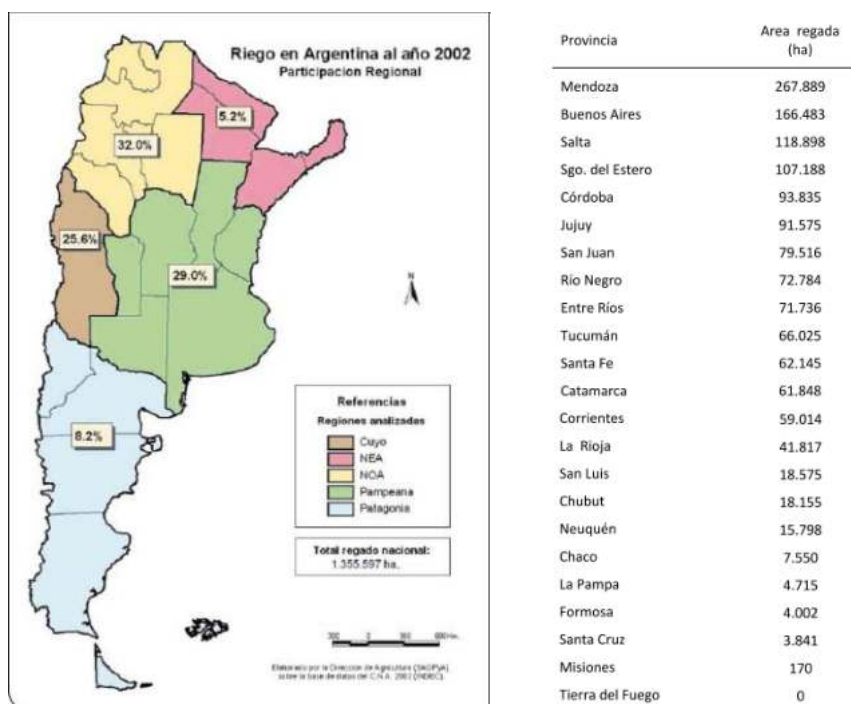


Figura 6.3. Participación en regiones en el año 2002 y área efectivamente regada por provincia en Argentina^{86,88}.

Posteriormente registros no oficiales muestran un descenso en 2005 a 1.650.000 ha. En 2014 la superficie estimada fue de 2.079.447 ha, representando la misma 5,3 % de la superficie cultivada nacional (Fig. 6.4). La superficie bajo condiciones de irrigación creció proporcionalmente al ritmo del crecimiento de la superficie cultivada nacional⁸⁸.

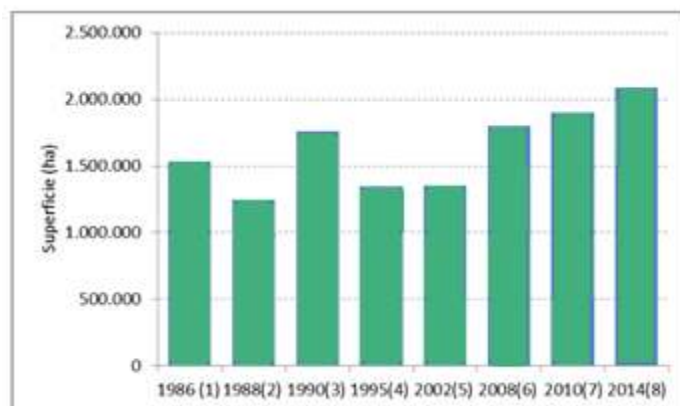


Figura 6.4. Desarrollo de la superficie de riego en Argentina⁸⁸.

Estas 2,1 millones de hectáreas que se estiman irrigadas, a partir de fuentes superficiales y subterráneas, se localizan tanto en sistemas públicos como en áreas privadas. Dicha superficie, a pesar de su baja eficiencia relativa, genera alrededor de un 13 % del valor de la producción agrícola del país. Sumado a los factores mencionados (cambio climático, aumento de la demanda de alimentos, aumento del precio de alimentos), debe decirse que la agricultura irrigada presenta un interesante potencial de expansión⁸⁴.

Según el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en 2014, la implementación de los distintos sistemas de riego según el cultivo en la Argentina puede visualizarse en la siguiente tabla (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Porcentajes de los sistemas de riego para diferentes cultivos en Argentina⁸⁹.

<i>Cultivo</i>	<i>Gravitacional</i>	<i>Aspersión</i>	<i>Localizado</i>		
			<i>Goteo</i>	<i>Microaspersión</i>	<i>Otros</i>
<i>Cereales</i>	55	43	0	0	1
<i>Oleaginosas</i>	35	64	0	0	0
<i>Industriales</i>	87	10	3	0	0
<i>Frutales</i>	70	6	21	3	1
<i>Forrajeras</i>	91	8	0	0	0
<i>Otros Cultivos</i>	86	12	1	0	1

Como ya fue mencionado el sistema de riego por gravedad es aquel que se utiliza en mayor medida (70 % del riego corresponde a este sistema). Sin embargo, en su forma tradicional de aplicación posee una baja eficiencia. A pesar de que puede obtenerse altas eficiencias con sistemas de riego con goteros o microaspersores estos resultan en un costo demasiado elevado para ciertos productores o encarecen demasiado el valor del producto (Tabla 6.2).

Tabla 6.2. Eficiencia de los sistemas de riego⁸⁹.

Sistema	Eficiencia (%)	Sistema	Eficiencia (%)
Gravedad-Nivelado		Riego por aspersión	
Surcos	65-85	Estacionarios totales	65-85
Fajas	10-85	Estacionarios móviles	65-80
Inundación	70-90	Laterales ruedas	65-80
		Cañón	55-70
		Pivot-Avance	65-86
Gravedad Tradicional		Riego Localizado	
Surcos	40-70	Goteros (>= 3 por planta)	85-95
Fajas	45-70	Goteros (< 3 por planta)	80-90
Inundación	45-70	Microaspersores	85-95
Riego de Arroz	25-70	Línea continua	70-90

Teniendo en cuenta el crecimiento de hectáreas irrigadas, las problemáticas que surgen con los sistemas de riego en cuanto a la ineficiencia, el desaprovechamiento del agua, y sumado a las condiciones climáticas inciertas que produce el cambio climático, la comercialización del hidrogel se propone como complemento para mejorar las problemáticas mencionadas. Sin embargo, el mercado de hidrogeles en Argentina no se encuentra consolidado, y existe poca regulación en cuanto a su uso y composición. Por lo que el ingreso del producto al mercado y la consolidación de este deberán realizarse paralelamente.

Mercado Internacional

Las únicas dos regiones a nivel mundial con posibilidades de ampliar su área cultivada y de riego de manera sostenible, son África Sub-Sahariana y América Latina en la cual se riega solamente un 23 % de la superficie potencialmente irrigable (Fig. 6.5)⁸⁴.



Figura 6.5. Superficie apta para riego vs Superficie efectivamente regada⁹⁰.

En Latinoamérica (América del sur, Centroamérica y Caribe), la mayor superficie equipada para riego se encuentra en América del Sur con casi un 90 % de la superficie equipada en toda la región, concentrada en tres países, Argentina (15 % del total subregional), Brasil (34 %), y Perú (16 %). No obstante, el riego se practica sólo en un 11 % de la superficie cultivada en la región, lo que está por debajo del promedio mundial (21 %) (ver Tabla 6.3).

En términos absolutos Brasil tiene más superficie equipada para riego (5,4 millones de ha), seguido por Perú (2,5 millones de ha) y Argentina (2,36 millones de ha). Mientras que esto representa un 40 % de la superficie cultivada en Perú, en Argentina es tan sólo un 6 % y en Brasil un 7 %⁹⁰.

El riego por superficie es, por mucho, la técnica de riego más extendida en la región (ver Tabla 6.4). En algunas zonas de América del Sur, Centroamérica y el Caribe, la escasez de agua y las características de las explotaciones han conducido a una mayor utilización del riego presurizado (por aspersión y localizado).

Tabla 6.3. Superficies bajo riego América del Sur⁹⁰.

País	Sup. potencial de riego (ha)	Año	Sup. equipada para el riego (ha)	% de la sup. cultivada	% de la sup. potencial de riego	Incremento medio anual (últimos diez años)	% de la sup. equipada efectivamente regada
Argentina	1.600.000	2011	2.357.000	6	15	2,7	92
Bolivia	4.500.000	2011	297.000	7	7	2,5	100
Brasil	29.350.000	2010	5.400.000	7	18	5,4	97
Chile	2.500.000	2007	1.108.559	64	44	-	99
Colombia	7.600.000	2011	1.087.000	32	14	1,5	36
Ecuador	3.136.000	2010	1.500.000	58	48	6,0	63
Paraguay	4.500.000	2012	136.000	3	3	5,0	100
Perú	6.411.000	2012	2.579.000	40	40	2,3	70
Uruguay	1.760.000	2011	238.000	13	14	2,1	100
Venezuela	2.000.000	2008	105.524	31	53	6,4	93
Total América del Sur	78.271.000	2008	15.959.104	11	20	4,4	84

Tabla 6.4. Sistemas de riego en América del Sur⁹⁰.

País	Año	Superficie equipada para el riego (%)		
		Riego por superficie	Riego por aspersión	Riego localizado
Argentina	2011	82,7	11,9	5,4
Bolivia	2011	92,8	5,9	1,2
Brasil	2010	48,5	45,3	6,2
Chile	2007	72,3	5,2	22,5
Colombia	2011	96,0	3,4	0,6
Ecuador	2010	77,8	19,9	2,3
Paraguay	2012	100	-	-
Perú	2012	91,6	3,4	5,1
Uruguay	2011	84,0	7,6	8,4
Venezuela	2008	69,7	26,1	4,2
Total América del Sur	2008	72,0	22,1	6,0

En cuanto al mercado de hidrogeles, el mercado dominante actualmente es del Norteamérica. Es un mercado no se encuentra consolidado ni fragmentado. Se espera un crecimiento en el sector liderado por la región Asia–Pacífico. Este crecimiento será mayormente impulsado por productos de Higiene personal y cuidado de la piel. En cuanto a América Latina se espera un crecimiento leve⁹¹. Al igual que la situación en Argentina, el mercado de hidrogeles para su uso en el sector agrícola no se encuentra consolidado.

6.3.3 Segmentación del mercado

El producto forma parte del sector de insumos agrícolas. Estos se pueden agrupar en: fertilizantes y agroquímicos, semillas y materiales para la siembra, maquinaria y equipos y productos para la limpieza y desinfección. El mercado se compone de productores regionales y compradores minoritarios. La demanda se caracteriza por su rigidez y miedo al uso de productos innovadores. El mayor reto del producto es la inserción al mercado.

Como se desarrolló en la sección 6.3.2, existe un crecimiento en la superficie irrigada en América del Sur. El producto se plantea como un complemento para mejorar la eficacia del riego y aumentar la cantidad de agua que es posible retener en el suelo. Esto puede traducirse en un menor consumo de agua para el productor. Por las características biodegradables del producto, el productor no debe preocuparse por un tratamiento posterior a la recolección de la cosecha.

Se apunta a tres tipos de productores. El primero es aquel que utiliza una tecnología de riego, especialmente si es por gravedad, ya que este método resulta ineficiente y el 70 % del riego en América Latina utiliza esta tecnología⁹⁰. El segundo productor es aquel que utiliza hidrogeles a base de materiales que no son completamente biodegradables. La ventaja del producto como se mencionó previamente, es la falta de remoción del mismo posterior a la cosecha. El tercer productor es aquel que no utiliza tecnología de riego ni hidrogeles.

A pesar de ser un producto innovador, el cual se caracteriza por una entrada lenta al mercado por falta de confianza, las proyecciones de aumento de riego en el país y los factores de cambio climático resultan favorecedores a la hora de crear una estrategia de inserción.

6.3.4 Competencia nacional e internacional

Como fue mencionado anteriormente, el mercado de hidrogeles para su utilización en agricultura no está consolidado. La tarea de cuantificar y caracterizar la competencia, es decir, aquellos productores cuyos bienes ofrecidos compiten directamente con aquel confeccionado por la empresa, resulta compleja. Se mencionan y describen algunos de los actores del mercado que se creen de mayor impacto.

Algunas de las empresas extranjeras que comercializan hidrogeles Projar (España)⁹², Lluvia Solida (México)⁹³ y SOCO (China)⁹⁴. De estas tres empresas mencionadas, Projar realiza envíos a la Argentina y es distribuido en el país. En cuanto a Lluvia Solida posee distribuidores en países como Chile y Brasil, pero no en Argentina.

La principal competencia es Rinda⁸², una empresa nacional, con su producto Agua sólida. Rinda se localiza en Buenos Aires y posee distribuidores en Mendoza, Santiago del Estero, Tucumán y Salta.

Ninguno de los hidrogeles que producen las empresas mencionadas es completamente biodegradable. Todos se encuentran compuestos a base de poliacrilatos y presentan su producto como sustentable. Sin embargo, no existe un hidrogel compuesto por polímeros naturales en el mercado actual.

6.3.5 Participación objetivo en el mercado

La demanda del hidrogel va a depender directamente de la cantidad de hectáreas cultivadas, especialmente aquellas que son irrigadas, y la cantidad de producto que deba aplicarse por hectárea.

La superficie sembrada nacional y mundial se encuentra en constante crecimiento desde hace años. Debido a su crecimiento estimar con el último valor disponible resultaría erróneo, tal que resulta necesario estimar su crecimiento.

Teniendo en cuenta la tendencia creciente de los datos, para proyectar valores futuros se utilizó la técnica de regresión lineal en base a las estimaciones de superficies sembradas publicadas por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (Fig. 6.6).

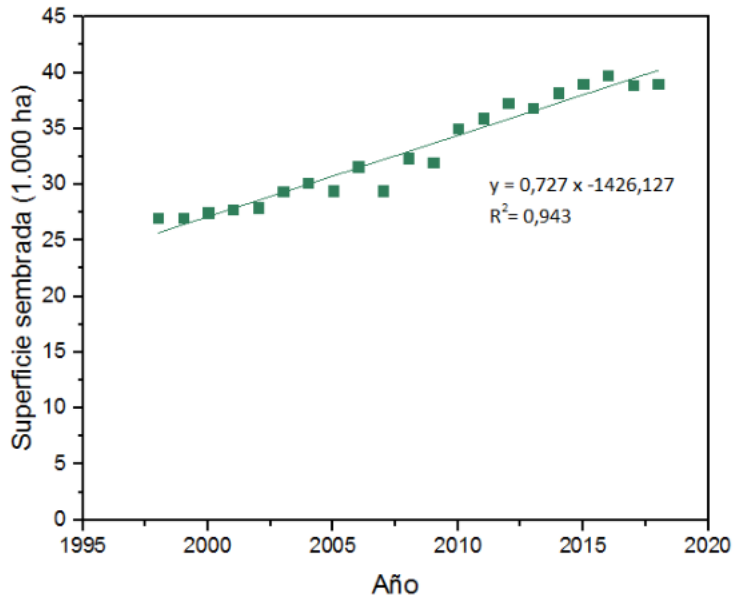


Figura 6.6. Superficie sembrada en Argentina)⁹⁵.

A partir de la figura 6.6 se estimaron los valores de superficie sembrada en la Argentina para el año actual y los próximos cinco años, expresados en millones de hectáreas (Tabla 6.5).

Tabla 6.5. Proyecciones de la superficie sembrada en Argentina (en millones de hectáreas).

Año	2021	2022	2023	2024	2025
Sup. Sembrada	42,6	43,1	43,8	44,5	45,3

Además, en la sección 6.3.2 se mencionó que la cantidad de hectáreas irrigadas en 2014 era de 2,1 millones. Teniendo en cuenta el valor de la superficie de riego en 2002 (1.356.000 ha) y la estimación de la superficie en 2014 (2.079.447 ha), puede calcularse una nueva tasa de crecimiento. Dicha tasa posee un valor del 3,63 % y será utilizada para proyectar la superficie de riego en el rango de estimación propuesto para la superficie de siembra (Tabla 6.6).

Tabla 6.6. Proyecciones de la superficie de riego en Argentina (en millones de hectáreas).

<i>Año</i>	<i>2021</i>	<i>2022</i>	<i>2023</i>	<i>2024</i>	<i>2025</i>
<i>Superficie de riego</i>	<i>2,67</i>	<i>2,77</i>	<i>2,87</i>	<i>2,97</i>	<i>3,08</i>

Para determinar la demanda nacional se considera que la empresa tendrá una participación determinada a partir de la cantidad de superficie sembrada y de superficie de riego. Se considera una participación del 0,001 % de la superficie sembrada, siendo este segmento perteneciente al grupo de productores que no necesariamente poseen tecnología de riego o no utilizan hidrogeles actualmente. Además, se considera una participación del 1 % de la superficie de riego, para el caso de productores que poseen tecnología de riego. Los resultados se presentan en la Tabla 6.7.

Tabla 6.7. Proyecciones de la superficie de venta en Argentina (en hectáreas).

<i>Año</i>	<i>2021</i>	<i>2022</i>	<i>2023</i>	<i>2024</i>	<i>2025</i>
<i>Superficie Total</i>	<i>31.375,2</i>	<i>32.351,3</i>	<i>33.362,5</i>	<i>34.410,3</i>	<i>35.495,8</i>

En cuanto al mercado internacional, a partir de los datos de la Tabla 6.3, se estimó la cantidad de hectáreas irrigadas para cada país (Tabla 6.8). Se consideró a los países limítrofes y Ecuador, Perú y Colombia, debido a la cercanía, la tasa de crecimiento anual y la superficie irrigada. Debido a que Chile no presenta datos sobre la tasa de crecimiento anual se consideró que era nula.

Tabla 6.8. Proyecciones de la superficie sembrada internacional (en hectáreas).

Ecuador	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	2,85	3,02	3,20	3,39	3,59
Brasil	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	10,19	10,80	11,45	12,14	12,87
Paraguay	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	0,21	0,22	0,23	0,24	0,26
Colombia	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	1,34	1,37	1,39	1,42	1,45
Bolivia	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	0,37	0,37	0,38	0,39	0,40
Uruguay	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	0,29	0,30	0,31	0,31	0,32
Perú	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	3,17	3,24	3,31	3,39	3,47
Chile	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	1,11	1,11	1,11	1,11	1,1
TOTAL	Año	2021	2022	2023	2024	2025
	Superficie de riego	19,52	20,43	21,39	22,40	23,47

Al igual que el mercado nacional, la participación en el mercado internacional se calcula como un porcentaje de la superficie. En este caso solo se tiene en cuenta la superficie de riego, por ser las ventas internacionales dependientes de las políticas de comercio exterior. Se estima una participación del 0,01 % de la superficie de riego total de los países mencionados en la Tabla 6.9.

Tabla 6.9. Proyecciones de ventas internacionales (en hectáreas).

Año	2021	2022	2023	2024	2025
Superficie Total	1.952,3	2.043,1	2.138,8	2.239,9	2.346,6

La cantidad de producto que se utiliza por hectárea varía según la textura del suelo, en Kalhapure y col. (2016)¹⁵ se recomiendan 2 kg.ha⁻¹ para suelos arcillosos y 5 kg.ha⁻¹ para suelos arenosos. Considerando el promedio de ambas estimaciones serían 3,75 kg.ha⁻¹. Según las Tablas 6.7 y 6.9,

de las superficies de venta nacional e internacional, teniendo en cuenta la cantidad de producto por hectárea se obtiene la estimación de ventas por año (Tabla 6.10).

Tabla 6.10. Proyecciones de las ventas nacionales e internacionales (en hectáreas).

Año	<i>2021</i>	<i>2022</i>	<i>2023</i>	<i>2024</i>	<i>2025</i>
Ventas	<i>33.327</i>	<i>34.394</i>	<i>35.501</i>	<i>36.650</i>	<i>37.842</i>

6.4 Plan de negocios

Debido a que muchos productores no utilizan hidrogeles en su producción o algunos poseen una falta de compromiso con el cuidado ambiental, la introducción del producto al mercado puede ser compleja. Por tal motivo resulta necesario asociarse con una empresa que se encuentre instalada en el mercado de agroinsumos.

La empresa argentina Agrofina se dedica a producir y comercializar distintos productos para el desarrollo de una agricultura sustentable. En 2015 logro la séptima facturación más elevada de la Argentina y en 2018 fue reconocida por la Revista Fortuna como la Mejor empresa Química de Argentina. Comercializan en todo el país e internacionalmente, en varias provincias especialmente en el centro y norte del país cuentan con asesores para determinar el producto conveniente para cada cliente⁹⁶.

La venta de SEAGEL se realizará directamente a la empresa Agrofina. La entrega se realizará a su sede en Buenos Aires y estos envasarán el producto con su marca. Los gastos de marketing correrán por cuenta de Agrofina ya que la venta al consumidor se realizará bajo su nombre.

6.5 Análisis económico a escala industrial

6.5.1 Industrialización del proceso productivo

Descripción del proceso productivo

El proceso de producción para la obtención de hidrogeles parte de la preparación de una solución de alginato 2 % m/v en agua destilada en un reactor. Dicha solución se agita a temperatura ambiente hasta completar su disolución (4 horas). En otro reactor, se prepara una solución 0,25 mol.L⁻¹ de cloruro de calcio en agua destilada. A continuación, la solución de alginato es vertida en el segundo reactor que contiene la solución de cloruro de calcio. Para obtener hidrogeles es necesario adicionar al reactor un cabezal que contenga agujeros un diámetro tal que se formen las gotas (aproximadamente 1 mm). La mezcla es agitada por 20 minutos a 250 rpm. Luego, se pasa a un tamizador, donde se separa a los hidrogeles del líquido. En el mismo equipo, se ingresa agua para llevar a cabo el lavado. Una vez finalizado, los hidrogeles se depositan en placas de teflón y se secan al aire en el depósito (ver Fig. 6.7).

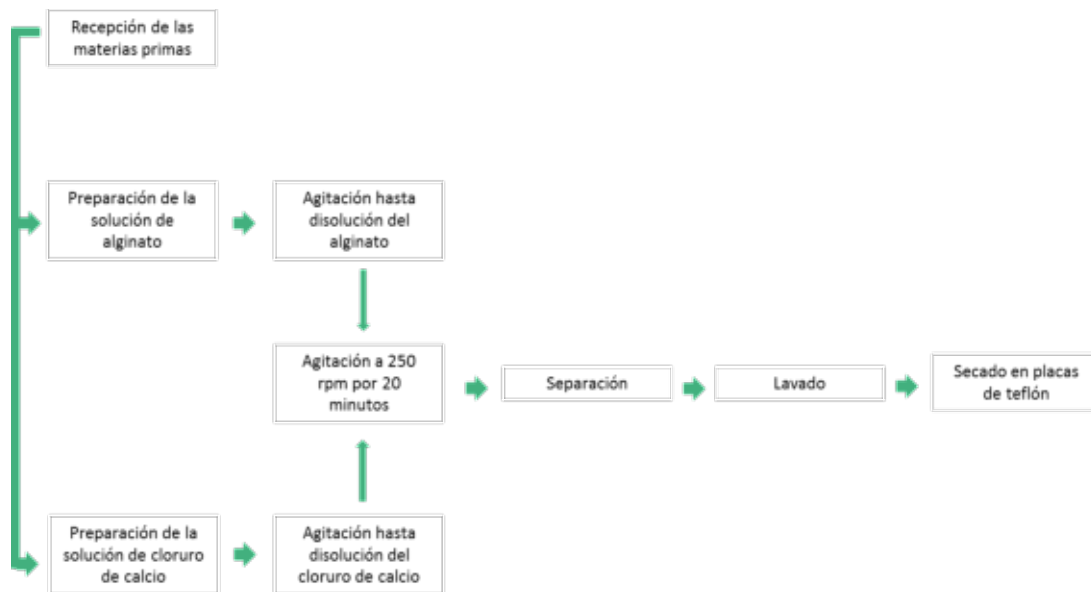


Figura 6.7. Diagrama del proceso productivo.

Debido a que los tiempos de disolución del alginato de sodio en agua son largos (4 horas aproximadamente), deberá contarse con el doble de tanques para que la producción sea eficaz. Mientras la mitad de los tanques se encuentran disolviendo, la otra mitad abastece la producción. Esto hace posible que la jornada laboral sea de 8 horas.

Requerimientos de materia prima

Las materias primas necesarias son: alginato de sodio, cloruro de calcio y agua destilada. Según la demanda propuesta, los requerimientos se detallan en la Tabla 6.11

Tabla 6.11. Estimación de los requerimientos de materia prima en base a las ventas. Valores en toneladas y litros.

<i>Año</i>	<i>2021</i>	<i>2022</i>	<i>2023</i>	<i>2024</i>	<i>2025</i>
<i>Ventas</i>	125,0	129,0	133,1	137,4	141,9
<i>Alginato de sodio</i>	138,9	143,3	147,9	152,8	157,7
<i>Cloruro de calcio</i>	50,0	51,6	53,3	55,0	56,8
<i>Agua destilada</i>	20.829.648	21.496.449	22.188.357	22.906.352	23.651.452

Todas las materias primas pueden conseguirse de proveedores locales. Sin embargo, por los volúmenes necesarios, el alginato de sodio resulta más barato si se adquiere de China. Debido al volumen de agua destilada necesario, se adquirirá en camiones y se colocará un tanque de agua en la fábrica donde se almacenará semanalmente la cantidad necesaria para la producción.

Descripción de equipos

Para llevar a cabo la producción de hidrogeles serán necesarios los siguientes equipos:

- 1) Elevador eléctrico: se utilizará para el transporte de materia prima, especialmente contenedores de agua.
- 2) Elevador hidráulico manual: se utilizará para el transporte de materias primas o productos terminados.

- 3) Tanque de agua: Debido a los volúmenes de agua necesarios para la producción resulta necesario adquirir un tanque de agua donde se almacene la cantidad de agua necesaria para la producción semanal. Luego se trasladará a la zona de producción en contenedores de menor capacidad.
- 4) Tanques: en estos se preparan las soluciones. En el primer tanque se prepara la solución de alginato de sodio. En el segundo la de cloruro de calcio, para luego verter la solución de alginato y crear los hidrogeles. La capacidad de los tanques será de 500 y 1000 litros respectivamente debido a que en volúmenes mayores se corre el riesgo de obtener hidrogeles heterogéneos o aglomeración de estos.
- 5) Tamizadora: La función del tamizador es separar los hidrogeles de la mezcla. Se contará con un nivel de tamizado. En el tamiz se realizará el lavado de la muestra por lo que deberá adicionarse una conexión de agua. Para realizar el lavado se utilizarán una vibración tal que los hidrogeles no se desintegren, ya que luego de su preparación al encontrarse en su máxima capacidad de absorción son frágiles y blandos.

Para el secado no se utilizará ningún equipo. Los hidrogeles serán secados al aire tal como se realizó a escala laboratorio. Para esto se utilizarán placas de teflón de 1 m x 1 m que serán almacenadas en el área de secado.

Diseño preliminar y localización de la planta

Con el fin de determinar la superficie necesaria para llevar a cabo el proceso productivo se diseñó la distribución óptima de las instalaciones (Fig. 6.8). Para la creación del diseño se tuvieron en cuenta: el tamaño de los equipos, el almacenamiento necesario para materias primas y productos terminados, la cantidad de empleados y los sectores complementarios para estos.

- Almacén de materias primas (800 cm x 800 cm): Se almacenarán únicamente los insumos para la producción (alginato de sodio, cloruro de calcio, tanques de agua destilada, etc). Posee un acceso desde el exterior para la recepción de materia prima y se conecta con la zona de producción mediante un pañol.
- Pañol (400 m x 800cm): Se almacenarán todos aquellos insumos relacionados con la producción, mantenimiento y limpieza de la planta.
- Zona de producción (1300 cm x 2000cm): Se encontrarán los reactores y tamices. Además, se realizará el envasado del producto. Por ese motivo, existe una conexión al exterior a fin de cargar los camiones con el producto terminado.

- Zona de secado (1200 cm x 2000cm): Se dispondrá mobiliario que contenga de a 8 placas de teflón para permitir el secado. Se controlará la temperatura con el uso de aires acondicionados.
- Laboratorio (500 cm x 500 cm): Se llevarán a cabo las labores de investigación y desarrollo.
- Sectores del personal: el resto de la superficie será ocupada por sectores para el personal: oficinas, comedor, baños y vestuarios.

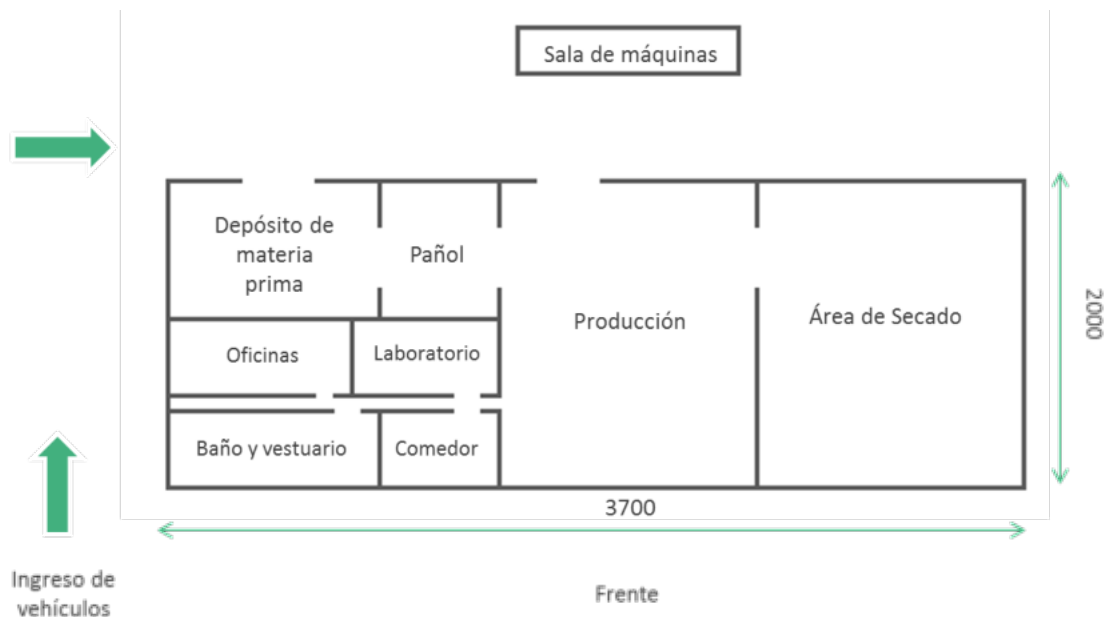


Figura 6.8. Diseño preliminar de la planta.

Para determinar la localización más conveniente para la planta debe tenerse en cuenta la cantidad de metros cuadrados, la disponibilidad de servicios, la legislación municipal y la cercanía a los proveedores y el mercado objetivo (Buenos Aires). Teniendo en cuenta estos factores las opciones más convenientes son el Parque Industrial General Savio (opción A) y la Avenida Champagnat (opción B).

Para determinar cuál es la mejor opción, se aplica el método de cálculo de puntuaciones ponderadas, mediante una matriz de referencias. El mismo consiste en identificar los factores importantes que condicionan la localización, asignando a cada uno un factor de ponderación relativo a los demás. Luego se asigna un puntaje (en este caso, de 1 a 5) para cada factor y cada opción (A y B), teniendo en cuenta que tanto satisfacen. Por último, se multiplica cada puntaje por

su valor correspondiente de ponderación, y se suman todos los puntajes. De esta manera, se selecciona la mejor opción, que es aquella que tiene mayor sumatoria de puntajes ponderados⁹⁷. En la Tabla 6.12 se muestra el resultado de dicho análisis.

Tabla 6.12. Valor y ponderación de factores según el método de cálculo de puntuaciones ponderadas.

<i>Factor de localización</i>		<i>Ponderación</i>	<i>Puntuación del factor</i>		<i>Ponderación del factor</i>	
			<i>A</i>	<i>B</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Geográfico	<i>Clima</i>	1	1	1	1	1
	<i>Comunicaciones</i>	3	4	5	12	15
	<i>Impacto social</i>	6	5	3	30	18
Institucional	<i>Tratamiento impositivo</i>	9	5	4	45	36
	<i>Marco legal</i>	9	5	4	45	36
	<i>Políticas de desarrollo industrial</i>	9	5	4	45	36
Social	<i>Facilidad habitacional</i>	3	2	4	6	12
	<i>Educación, salud, seguridad</i>	3	2	4	6	12
	<i>Aceptación social</i>	3	2	4	6	12
Económico	<i>Disponibilidad y costo de MO</i>	6	4	5	24	30
	<i>Disponibilidad y costo de MP</i>	9	5	4	45	36
	<i>Terrenos</i>	5	5	3	25	15
Comercial	<i>Proximidad a mercados</i>	6	3	3	18	18
	<i>Proximidad proveedores</i>	6	4	3	24	18
Laboral	<i>Capacitación de MO</i>	5	4	5	20	25
	<i>Clima sindical</i>	2	3	3	6	6
Infraestructura	<i>Disponibilidad de servicios</i>	5	3	5	15	25
Operacional	<i>Facilidad para eliminación de desechos</i>	6	5	4	30	24
	<i>Cercanía a canales de distribución</i>	4	5	5	20	20
Total		100			423	395

Del análisis surge que resulta más conveniente la ubicación del Parque Industrial General Savio. Sera necesario un terreno con una superficie mayor a los 740 m² en dicha ubicación.

6.6 Justificación económica

6.6.1 Estimación de la inversión requerida

En la sección 6.6.1 se describieron los equipos y sus características. En la siguiente tabla (Tabla 6.13) pueden verse los costos de cada uno de ellos.

Tabla 6.13. Precios de los equipos en dólares. Fuente: Cotizaciones TodoAgroYa (2020)⁹⁸, Rex (2020)⁹⁹, Equus (2020)¹⁰⁰, Haisun machinery (2020)¹⁰¹, Filtra Vibración (2020)¹⁰².

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Inversión (USD)</i>	<i>Valor con instalación o traslado (US)</i>
<i>Tanque de agua</i>	<i>1</i>	<i>2.932</i>	<i>3.518</i>
<i>Zorra hidráulica manual</i>	<i>1</i>	<i>2.644</i>	<i>3.173</i>
<i>Zorra eléctrica</i>	<i>1</i>	<i>450</i>	<i>540</i>
<i>Tanque principal</i>	<i>4</i>	<i>2.700</i>	<i>3.247</i>
<i>Tanque secundario</i>	<i>8</i>	<i>5.000</i>	<i>6.000</i>
<i>Tamizadora</i>	<i>4</i>	<i>7.690</i>	<i>9.228</i>
<i>Secado</i>	<i>-</i>	<i>8.853</i>	<i>-</i>

Una vez recibidos los equipos deberán ser instalados. Primero deberán posicionarse los equipos, se deben fabricar estructuras de soporte y calibrarlos. Se debe tener en cuenta la mano de obra especializada y las conexiones a los servicios. Esto puede estimarse según el tipo de ingeniería del proceso. En este caso la ingeniería es inmediata y puede estimarse la instalación como el 20 % del valor de cada equipo¹⁰³. Así, la inversión de equipos es de USD 102.973.

Para estimar la inversión fija se utilizará el método de los factores. En las siguientes tablas se muestran los valores para los factores directos e indirectos (Tablas 6.14 y 6.16).

Tabla 6.14. Factores directos de la inversión.

Factores	Clasificación	Fi
Tuberías de proceso	<i>Proceso mixto</i>	<i>0,2</i>
Instrumentación	<i>Control poco automatizado</i>	<i>0,035</i>
Edificios de fabricación	-	<i>0</i>
Plantas de servicios	<i>Plantas de servicios totalmente nuevas</i>	<i>0,625</i>
Conexiones entre unidades	<i>Entre las unidades de servicios</i>	<i>0,025</i>

Los factores tienen en cuenta la instalación de los servicios (agua, gas, luz), un compresor, caldera y una planta de tratamiento de residuos y sus respectivas conexiones a los servicios, entre otros. A partir de la inversión de equipos y los factores directos se calcula la inversión directa. El valor es de USD 194.105.

Para la planta se prevé construir un galpón metálico. Según el Consejo profesional de Agrimensores, Ingenieros y Profesiones afines, el costo del m² es de USD 330, como puede observarse en la Tabla 6.15.

Tabla 6.15. Costos de construcción en Mar del Plata¹⁰⁴.

COSTO POR m² MES DE ABRIL 2020			
Tipo	Superficie	Costo total	Costo por m²
Vivienda FONAVI *	44 m ²	\$ 1,802,041.84	\$ 40,995.50
Vivienda 2 Plantas	249 m ²	\$ 10,188,971.86	\$ 40,919.57
Galpón H° A°	660 m ²	\$ 16,888,395.50	\$ 25,588.48
Galpón Metálico	660 m ²	\$ 15,941,425.95	\$ 24,153.68
Edificio	1.620 m ²	\$ 71,998,520.75	\$ 44,443.53
(*) La vivienda tipo FONAVI tiene incorporado el I.V.A. de 10.5 % y no se considera el Impuesto a las Actividades Económicas por estar exenta			

Teniendo en cuenta la cantidad de metros especificados en la sección 6.5.1, 740 m², se obtiene el valor de edificación, que es de USD 244.940.

Tabla 6.16. Factores indirectos de la inversión.

<i>Factores</i>	<i>Clasificación</i>	<i>Fi</i>
<i>Ingeniería y construcción</i>	<i>Ingeniería inmediata</i>	<i>0,275</i>
<i>Factores de tamaño</i>	<i>Unidad comercial mediana</i>	<i>0,1</i>
<i>Contingencias</i>	<i>Variaciones imprevistas</i>	<i>0,25</i>

Luego con los factores indirectos y la inversión directa se calcula la inversión fija sin terreno, que resulta en USD 713.448.

En el caso del valor del terreno, el Municipio de General Pueyrredón otorga terrenos de forma gratuita en caso de que el proyecto tienda al desarrollo económico de la región¹⁰⁵. Debido a que no es claro el criterio de elección de estos proyectos y tampoco se encuentran disponibles precios estimativos, se considera un costo de terreno de USD 100.000.

Por último, para obtener la inversión fija total es necesario incluir el capital de trabajo. Este valor se calculó como un 10 % de la Inversión fija, y corresponde a los gastos necesarios para la puesta en marcha de la planta y producir hasta recibir los primeros ingresos por ventas. Finalmente, la inversión fija total es de USD 894.793.

6.6.2 Costos de producción

Costos variables

1) Materia prima: Se estimaron los costos de materia prima para las cantidades especificadas en la Tabla 6.11 y el precio unitario de las mismas (Tabla 6.17).

Tabla 6.17. Costos de materia prima en dólares. Cotizaciones: CBH China¹⁰⁶, Biopack¹⁰⁷ y Química delta¹⁰⁸.

	Precio unitario (USD.kg⁻¹)	2021	2022	2023	2024	2025
Alginato de sodio	10,0	1.388.643	1.433.097	1.479.224	1.527.090	1.576.763
Cloruro de calcio	15,0	749.867	773.872	798.781	824.629	851.452
Agua destilada	0,013	274.951	283.753	292.886	302.364	312.199
Costo anual de MP		2.479.116	2.490.722	2.570.891	2.654.083	2.740.415

El proceso de envasado quedará a cargo de Agrofina, ya que comercializarán el producto con su marca. Se transportará el producto a granel en bolsas de 25 kg. Las bolsas son de plástico reciclable para evitar que adquieran humedad los hidrogeles y en consecuencia se modifique su volumen, peso y evitar roturas del empaquetado en el transporte. El valor de las bolsas es de aproximadamente USD 1¹⁰⁹.

2) Mano de obra: El personal de la empresa se encuentra conformado por 8 operarios, un responsable del abastecimiento, un encargado del laboratorio, un jefe de producción y un gerente administrativo. Dos de los operarios se encargarán de las tareas de transporte, tanto de materia prima como de producto terminado y su envasado. Además, deberán mantener el almacén y depósitos ordenados y limpios. Dos operarios serán los encargados de los tanques, y deberán contar con capacitación para manejar los equipos. Otros dos operadores se encargarán de los equipos de tamización, también deberán contar con capacitación. Los últimos dos operarios se encargarán del sector de secado. Los costos de mano de obra de los operarios se presentan en la Tabla 6.18.

Tabla 6.18. Costos de mano de obra en pesos argentinos para operarios vigentes a partir de mayo 2020¹¹⁰.

Empleado	Salario básico	Suma fija solidaria	Salario bruto	Cargas sociales (40 %)	Costo total
Operario cat. B	27.781	6.117	33.898	13.559	47.457
Operario cat. A	30.095	6.117	36.212	14.485	50.696

Los cuatro operarios que no deberán contar con capacitación se encuentran en la categoría B y los cuatro que deberán contar capacitación en la categoría A. Teniendo en cuenta la cotización del dólar el costo de la mano de obra de los operarios es de USD 64.451 el primer año.

3) Supervisión: El costo de supervisión surge directamente del sueldo del jefe de producción, quien supervisará la planta y será el responsable de su correcto funcionamiento. Debido a que dicho cargo no forma parte del convenio, se estima que el jefe de producción tendrá un sueldo un 30 % mayor que los operarios de categoría A.

4) Servicios auxiliares: La demanda eléctrica de la planta es menor a 50 KW. Por tal motivo se calculan los gastos con el cuadro tarifario para la categoría de demandas medianas (Fig. 6.10).

T2 - MEDIANAS DEMANDAS			
(de 10 KW a menos de 50 KW de demanda)			
	T2BT	T2MT	
CARGO FIJO	863,37	1308,14	\$/mes
CARGO POR POTENCIA EN PICO	261,51	197,84	\$/KW mes
CARGO POR POTENCIA FUERA PICO	181,08	153,83	\$/KW mes
CARGO VARIABLE POR ENERGÍA EN PICO	2,7342	2,6748	\$/KWh
CARGO VARIABLE POR ENERGÍA FUERA DE PICO	2,6100	2,5828	\$/KWh

Figura 6.10. Cuadro Tarifario de Edea¹¹¹.

Se tiene en cuenta la tarifa de bajo consumo (T2BT). Además, se consideró que todos los equipos trabajan en horario de resto o fuera de pico (de 8 a 17 h), En base a esto y el consumo de los equipos se creó la Tabla 6.19, de donde se obtiene el costo de electricidad de los equipos. En la Tabla 6.20, en base a la iluminación que establece la legislación para sectores industriales, se obtiene el consumo de electricidad por iluminación.

Tabla 6.19. Costo de electricidad por equipo.

Equipo	Potencia (KW)	Cantidad	h en uso	Consumo (kW.día ⁻¹)	Cargo por potencia (\$·KW ⁻¹ ·mes ⁻¹)	Cargo variable (\$·kW ⁻¹ ·mes ⁻¹)	Costo (\$·mes ⁻¹)
Tanque secundario	0,5	3	4	6,0	2,48	0,035	6,68
Tanque secundario*	0,5	3	5	7,5	2,48	0,035	7,73
Tanque principal	1,0	3	2	6,0	2,48	0,035	6,68
Tamizadora	0,525	3	2	3,15	2,48	0,035	4,685

Tabla 6.20. Costo de electricidad por iluminación para cada sector.

Sector	Iluminación	Superficie (m ²)	Potencia (W)	Consumo (kW.día ⁻¹)	Cargo por potencia (\$·kW ⁻¹ ·mes ⁻¹)	Cargo variable (\$·kW ⁻¹ ·mes ⁻¹)	Costo (\$·mes ⁻¹)
<i>Producción</i>	400	260	1.156	8	9,2	2,48	0,035
<i>Depósito</i>	100	96	107	8	0,9	2,48	0,035
<i>Área Secado</i>	200	240	533	8	4,3	2,48	0,035
<i>Laboratorio</i>	500	25	139	8	1,1	2,48	0,035
<i>Otras áreas</i>	200	119	264	8	2,1	2,48	0,035

El consumo de agua se consultó la Ordenanza Municipal del año 2018 en la cual se reglamentan las tarifas de Obras sanitarias (OSSE) para la ciudad de Mar del Plata. Dichas tarifas no se encuentran vigentes actualmente ya que el consejo deliberante aprobó una suba de tarifas del 37 % en 2019 y del 49,5 % en el año 2020¹¹². Existe un cargo fijo según la categoría. Este cargo esta expresado en metros cúbicos y deberán agregarse al consumo final de la empresa, y con dicho caudal total calcular el consumo total de agua (Fig. 6.11). Debido a que el agua es utilizada como elemento necesario o interviene en el proceso se considera de categoría D.

CATEGORÍA	AGUA	CLOACA
A	30	30
B	30	30
C	40	40
D	44	44
E	-	30

Figura 6.11. Tarifa fija de agua de OSSE expresando en m³ ¹¹³.

La liquidación del servicio de agua se efectúa aplicando las tarifas por metro cúbico de agua fijadas para cada categoría según la Tabla 6.12.

Categoría	Tarifa por m3 de agua -17	Tarifa por m3 de agua -18
A	\$ 3.01	\$ 3.94
B	\$ 1.92	\$ 2.52
C	\$ 4.62	\$ 6.05
D	\$ 5.26	\$ 6.89
E	\$ 3.67	\$ 4.81

Figura 6.13. Tarifa variable de agua de OSSE según categorías¹¹³.

Por lo que teniendo un consumo de 6.570 m³ de agua por bimestre añadiendo el costo fijo de 44 m³, siendo la tarifa del m³ de agua para el 2020 de USD 0,18, se obtiene un costo mensual de USD 386. Resultando el costo anual de USD 4.633,7.

4) Mantenimiento: Se estimó el costo de mantenimiento como un 5 % de la inversión fija ya que se trata de un proceso de complejidad intermedia. Este gasto contempla los materiales y mano de obra para llevar a cabo el mantenimiento de la planta.

5) Suministros: Se estimó el costo de suministros como un 1 % de la inversión fija. Este gasto contempla los materiales para los equipos (ej. aceites), materiales para el personal (ej. guantes), materiales que no fueron contemplados en las materias primas y materiales de limpieza.

6) Laboratorio: Se instalará dentro de la planta un laboratorio de análisis de calidad, investigación y desarrollo. Para este rubro se considerará un 10 % del costo de mano de obra para los gastos. Además, se abonará mensualmente el salario del encargado del laboratorio. Nuevamente como no se encuentra este valor en el convenio, se estimará un sueldo un 15 % mayor que los operarios de categoría A.

Tabla 6.21. Costos variables del proyecto. Valores en dólares.

	2021	2022	2023	2024	2025
Materia prima	2.413.462	2.490.722	2.570.891	2.654.083	2.740.415
Empaque	4.999	5.159	5.325	5.498	5.676
Mano de obra	64.451	66.348	66.360	66.372	66.384
Supervisión	10.819	11.139	11.143	11.147	11.151
Servicios	6.385	6.942	7.162	7.392	7.849
Mantenimiento	40.672	40.672	40.672	40.672	40.672
Suministros	7.134	7.134	7.134	7.134	7.134
Laboratorio	6.445	6.445	6.445	6.445	6.445
Total	2.554.367	2.634.562	2.715.134	2.798.742	2.885.727

Costos fijos

1) Seguros: Se estimó el costo de seguros como 1 % de la inversión fija. Resulta necesario por el valor de los equipos, en caso de daño o incendio, y los insumos, en caso de robo o incendio.

2) Impuestos fijos: Debido a la localización de la planta en el Parque Industrial Gral. Savio, la planta se verá exenta de pagar una cantidad considerable de impuestos o se verá beneficiada con descuentos en alguno de ellos. Por tal motivo se considera a los impuestos como un 0,5 % de la inversión fija.

3) Administración: El costo de administración incluye el salario del Gerente de administración, el salario del responsable de abastecimiento y los servicios e insumos necesarios para llevar a cabo su función, desde telefonía hasta papelería. El responsable del abastecimiento será el encargado de asegurar el stock necesario de materias primas, productos de limpieza y cualquier material requerido en la planta, como de su recepción en el establecimiento. El gerente administrativo se encargará de tareas administrativas, desde sueldos, contacto con proveedores, logística de transporte, entre otras. Los salarios serán estimados se estimaron considerando un 40 % extra a los salarios de los operarios de categoría A en el caso del gerente administrativo y un 15 % en el caso del responsable de abastecimiento.

4) Costos de depreciación: Se estimó el costo de depreciación con el método de la línea recta. Se consideró un valor residual del 30 % de la Inversión fija.

5) Ventas: No se consideran costos de ventas ya que al asociarse con Agrofina todas las ventas se dirigen a dicha empresa.

6) Investigación y desarrollo: Se llevará a cabo el desarrollo y la optimización de hidrogeles. Como fue mencionado previamente, el encargado de laboratorio llevará a cabo la investigación. Serán necesarios equipos, materia prima y se tercerizarán los ensayos que no puedan realizarse en la empresa. Para este costo se considera un 0,5 % de los ingresos por ventas.

Tabla 6.22. Costos fijos del proyecto. Valores en dólares.

	2021	2022	2023	2024	2025
Seguros	7.134	7.134	7.134	7.134	7.134
Impuestos	3.567	3.567	3.567	3.567	3.567
Administración	21.286	21.919	21.929	21.939	21.951
Investigación y desarrollo	18.404	18.993	19.605	20.239	20.898
Depreciación	99.883	99.883	99.883	99.883	99.883
TOTAL	150.274	151.497	152.118	152.763	153.433

6.7 Rentabilidad

Teniendo en cuenta lo desarrollado previamente, se obtuvo el cuadro de flujo de fondos (Tabla 6.23) del proyecto con el objetivo de obtener los flujos de caja. Para las ventas se consideró un precio de USD 29,45.

Tabla 6.23. Cuadro de fuentes del proyecto. Valores en millones de dólares.

	2021	2022	2023	2024	2025
Ingresos anuales					
Capital propio	894.793				
Ingresos anuales	3.680.856	3.798.688	3.920.956	4.047.835	4.179.503
Total A	4.575.648	3.798.688	3.920.956	4.047.835	4.179.503
Egresos anuales					
Activo fijo	813.448				
Activo de trabajo	81.345				
Costos de producción sin depreciación	3.599.434	2.786.059	2.867.252	2.951.505	3.039.160
Total B	4.494.227	2.786.059	2.867.252	2.951.505	3.039.160
Beneficio neto antes de impuestos (A-B)	81.422	1.012.628	1.053.704	1.096.330	1.140.343
Impuestos	28.498	354.420	368.796	383.715	399.120
Beneficio neto	52.924	658.208	684.908	712.614	741.223
Depreciación	99.883	99.883	99.883	99.883	99.883
Flujo de caja	152.807	758.091	784.790	812.497	841.106

Se consideró como tasa de rentabilidad mínima aceptable la tasa de inflación 43,4 %¹¹⁴. A través de los flujos de caja y mediante el método de la tasa interna de retorno se puede estimar el valor de la TIR como medida de la rentabilidad del proyecto. Este valor fue de 53 %.

Además, se calculó con los flujos de caja y la inversión inicial, el tiempo de repago. Se presenta en la siguiente figura (Fig. 6.14) el flujo de caja acumulado en función de los años de proyecto.

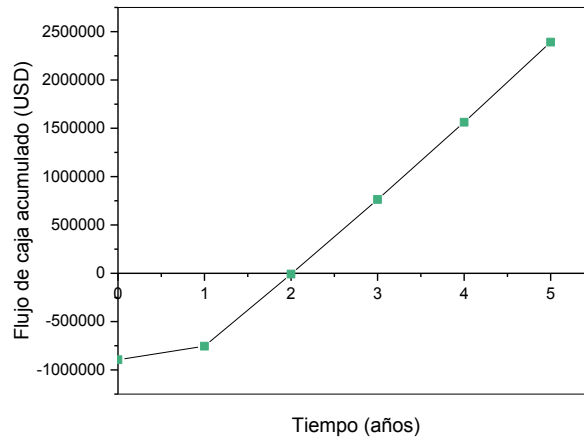


Figura 6.14. Flujo de caja acumulado en función para cada año del proyecto.

En la figura 6.14 se visualiza que la curva corta al eje en el año 2022. Esto indica que se recuperaría la inversión del proyecto a los 2 años de la puesta en marcha de la planta.

Teniendo en cuenta que la TIR es mayor a la tasa de inflación y que el tiempo de repago es menor a la mitad de la vida útil del proyecto (5 años), el proyecto resulta rentable.

6.8 Conclusiones

El mercado de hidrogeles para su uso en agricultura no se encuentra desarrollado, tanto en la Argentina como en América Latina. Existen pocos competidores y los hidrogeles comerciales son a base de polímeros que no son biodegradables y cuyos monómeros representan un riesgo para la salud de los consumidores de los alimentos con los que estos se encuentran en contacto. La dificultad surge no por los competidores sino por los productores agrícolas, que no implementan actualmente el uso de hidrogeles o no tienen conciencia ambiental o del riesgo de los hidrogeles comerciales. El proyecto deberá ser acompañado de la implementación de este nuevo insumo junto con la concientización sobre el ambiente. Esto será posible si se utiliza como estrategia principal la venta para superficies irrigadas, siendo el hidrogel biodegradable un complemento de esta tecnología e informando a los productores sobre sus ventajas.

En cuanto al análisis económico, el proyecto resulta rentable, por ser la TIR posee un superior a la TRMA y el tiempo de repago menor a la mitad de la vida del proyecto (5 años).

Debido a que los volúmenes que se utilizan de agua destilada son altos, sería factible pensar en la incorporación de una planta de tratamiento de agua. Esto requeriría de una mayor inversión inicial, pero reduciría los costos de materia prima.

Otra alternativa, en caso de que no sea posible realizar el proyecto de creación y puesta en marcha de la planta, es un acuerdo de licencia tecnológica. Por lo cual se otorgaría los derechos de propiedad intelectual o parte de ellos a un tercero, conservando la titularidad y el control de la propiedad intelectual. Se realiza un contrato de la transferencia de la propiedad por regalías y se fijan según diferentes modalidades o combinación de las mismas como a partir de cantidades de producto, un porcentaje de las ventas o ligadas a la consecución de ciertos hitos. No resulta requisito que la propiedad intelectual se encuentre inscrita en el Registro de la propiedad industrial. Desde el punto de vista de la empresa SEAGEL, este contrato se considera como un estadio intermedio entre la exportación y la inversión de capital en el extranjero. De ahí, que se denomine también licencia de exportación a este tipo de contrato¹¹⁵.

Conclusiones generales y trabajos futuros

Los resultados y conclusiones más importantes del trabajo realizado se resumen a continuación.

- Se obtuvieron hidrogeles a base de quitosano mediante el método de separación de fases. Se observaron grados de hinchamiento de aproximadamente 100 %. El objetivo de esta instancia de la investigación no se cumplió ya que los hidrogeles reportaron valores bajos en comparación a los hidrogeles superabsorbentes que se utilizan en la agricultura (1.000 – 100.000 %).
- Se decidió incorporar alginato a la formulación, otro polímero natural y biodegradable, a través de dos métodos. Mediante la formación de un complejo electrolito se lograron obtener hidrogeles a base de quitosano/alginato con un grado de hinchamiento de aproximadamente 3.000 %.
- Se analizaron los efectos significativos de distintos parámetros de la preparación sobre las propiedades de hinchamiento y fracción gel mediante el Método Taguchi. Se seleccionaron dos formulaciones (A2.0 y A3.5) obteniendo hidrogeles con grados de hinchamiento similares y diferente fracción gel con el fin de evaluar el efecto sobre su desempeño como acondicionadores de suelo en ensayos en plantas de lechuga. Los resultados de hinchamiento obtenidos para el hidrogel A3.5 no corroboraron el modelo obtenido por Taguchi posiblemente porque este método desprecia efectos de tercer orden que podrían ser significativos en este caso. Sin embargo, se considera que se cumplió el objetivo de optimizar la formulación del hidrogel ya que se obtuvieron materiales con grados de hinchamiento significativamente mayores que en las instancias previas de investigación.
- Se obtuvieron hidrogeles con grados de hinchamiento de aproximadamente 7.000 % para los hidrogeles A2.0 y A3.5. Estos valores son similares o mayores a otros hidrogeles a base de quitosano y alginato reportados en bibliografía. En relación a los hidrogeles que se utilizan en agricultura, resultan competitivos por estar formados 100 % por polímeros naturales.
- Se logró caracterizar cualitativamente a los hidrogeles, su morfología y propiedades térmicas. Mediante la caracterización cualitativa y morfológica se confirmó la presencia de quitosano en la superficie externa de los hidrogeles. Las propiedades térmicas variaron levemente con su presencia.
- Se relacionó la morfología de los hidrogeles con su capacidad de hinchamiento. Los hidrogeles A3.5 reportaron valores de grado de hinchamiento menores que el hidrogel A2.0 posiblemente por la formación de una membrana externa más rígida producto del aumento en la concentración de alginato.
- Se caracterizó el comportamiento de los hidrogeles en plantas de lechuga. En la condición de estrés hídrico cumplió el objetivo de mejorar el control de humedad y el crecimiento de la planta en comparación a una muestra control. En la condición de riego controlado, no

se logró cumplir con este objetivo. Esto puede deberse a que la elevada concentración de quitosano presente en los hidrogeles inhibió el crecimiento de las plantas.

- Se realizó un estudio de factibilidad analizando la rentabilidad de la creación y puesta en marcha de una planta de obtención de hidrogeles. El proyecto resultó rentable por ser la TIR (53 %) mayor a la TRMA (43,4 %) y el tiempo de repago (2 años) menor a la mitad de la vida útil del proyecto (5 años).

A partir de los resultados presentados se proponen los siguientes trabajos a futuro:

- Ajustar nuevamente la formulación del hidrogel a base de alginato y quitosano para lograr mejorar el crecimiento en plantas. Para ello, se puede utilizar el Método Taguchi con los cuatro factores que resultaron significativos para obtener modelos más exactos o el Método de Superficie de Respuesta, reduciendo las concentraciones de quitosano.
- Caracterizar el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles en diferentes medios acuosos, con diferente pH y salinidad, simulando los diferentes tipos de aguas que pueden entrar en contacto con el material. Además, evaluar dicho comportamiento en ciclos de absorción/desorción.
- Realizar ensayos de biodegradación, de ser posible en suelos y en presencia de cultivo.
- Evaluar diferentes técnicas de secado y cómo afectan a la estructura y propiedades del hidrogel.

Bibliografía

1. Lehman, H., Clark, E. A. & Weise, S. F. Clarifying the definition of Sustainable agriculture. *J. Agric. Environ. Ethics* **6**, 127–143 (1993).
2. DeLonge, M. S., Miles, A. & Carlisle, L. Investing in the transition to sustainable agriculture. *Environ. Sci. Policy* **55**, 266–273 (2016).
3. Alcamo, J., Henrichs, T. & Rösch, T. World's Water in 2025. *Kassel World Water Ser.* 2 47 (2000).
4. Tomadoni, B., Casalengué, C. & Alvarez, V. A. Biopolymer-Based Hydrogels for Agriculture Applications: Swelling Behavior and Slow Release of Agrochemicals. *Polym. Agri-Food Appl.* 99–125 (2019) doi:10.1007/978-3-030-19416-1_7.
5. Ould Ahmed, B. A., Inoue, M. & Moritani, S. Effect of saline water irrigation and manure application on the available water content, soil salinity, and growth of wheat. *Agric. Water Manag.* **97**, 165–170 (2010).
6. Abobatta, W. Impact of hydrogel polymer in agricultural sector. *Adv. Agric. Environ. Sci. Open Access* **1**, 59–64 (2018).
7. Takigami, H., Taniguchi, N., Shimizu, Y. & Matsui, S. Toxicity assays and their evaluation on organic polymer flocculants used for municipal sludge dewatering. *Water Sci. Technol.* **38**, 207–215 (1998).
8. Joshi, S. J. & Abed, R. M. M. Biodegradation of Polyacrylamide and Its Derivatives. *Environ. Process.* **4**, 463–476 (2017).
9. Wilske, B. *et al.* Biodegradability of a polyacrylate superabsorbent in agricultural soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **21**, 9453–9460 (2014).
10. Mai, C., Schormann, W., Majcherczyk, A. & Hüttermann, A. Degradation of acrylic copolymers by white-rot fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **65**, 479–487 (2004).
11. Niaounakis, M. Definitions of Terms and Types of Biopolymers. in *Biopolymers: Applications and Trends* (ed. Niaounakis, M.) 1–90 (William Andrew Publishing, 2015). doi:10.1016/B978-0-323-35399-1.00001-6.
12. Varghese, S. A., Rangappa, S. M., Siengchin, S. & Parameswaranpillai, J. *Natural polymers and the hydrogels prepared from them. Hydrogels Based on Natural Polymers* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/B978-0-12-816421-1.00002-1.
13. Gross, R. A. & Kalra, B. 42. I. T. Horvath. *AIChE (Am. Inst. Chem. Eng.) J* **99**, 1–36 (1999).
14. Doppalapudi, S., Katiyar, S. & Domb, A. J. *Advanced Polymers in Medicine. Advanced Polymers in Medicine* (2015). doi:10.1007/978-3-319-12478-0.
15. Kalhapure, A., Kumar, R., Singh, V. P. & Pandey, D. S. Hydrogels: A boon for increasing agricultural productivity in water-stressed environment. *Curr. Sci.* **111**, 1773–1779 (2016).
16. Hennink, W. E. & van Nostrum, C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **64**, 223–236 (2012).

17. Ahmed, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J. Adv. Res.* **6**, 105–121 (2015).
18. Redaelli, F., Sorbona, M. & Rossi, F. *Synthesis and processing of hydrogels for medical applications. Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications: From Fundamentals to Translational Medicine* (Elsevier Ltd, 2017). doi:10.1016/B978-0-08-100262-9.00010-0.
19. Tang, S., Zhao, L., Yuan, J., Chen, Y. & Leng, Y. *Physical hydrogels based on natural polymers. Hydrogels Based on Natural Polymers* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/B978-0-12-816421-1.00003-3.
20. Tanan, W., Panichpakdee, J. & Saengsuwan, S. *Novel biodegradable hydrogel based on natural polymers: Synthesis, characterization, swelling/reswelling and biodegradability. European Polymer Journal* vol. 112 (Elsevier Ltd, 2019).
21. Varma, A. J., Deshpande, S. V. & Kennedy, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives: A review. *Carbohydr. Polym.* **55**, 77–93 (2004).
22. El-banna, F. S., Mahfouz, M. E., Leporatti, S., El-Kemary, M. & Hanafy, N. A. N. Chitosan as a natural copolymer with unique properties for the development of hydrogels. *Appl. Sci.* **9**, 1–11 (2019).
23. Liu, L., Gao, Q., Lu, X. & Zhou, H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian J. Pharm. Sci.* **11**, 673–683 (2016).
24. Domalik-Pyzik, P., Chłopek, J. & Pielichowska, K. Chitosan-Based Hydrogels: Preparation, Properties, and Applications. 1–29 (2018) doi:10.1007/978-3-319-76573-0_55-1.
25. Katiyar, D., Hemantaranjan, A. & Singh, B. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. *Indian J. Plant Physiol.* **20**, (2015).
26. Nilsen-Nygaard, J., Strand, S. P., Vårum, K. M., Draget, K. I. & Nordgård, C. T. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers (Basel)*. **7**, 552–579 (2015).
27. Roh, I. J. & Kwon, I. C. Fabrication of a pure porous chitosan bead matrix: Influences of phase separation on the microstructure. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **13**, 769–782 (2002).
28. Paz, N. *et al.* Evaluación viscosimétrica del quitosano derivado de la quitina de langosta. *Rev. Iberoam. Polímeros* **14**, 84–91 (2013).
29. Cervera, M. F. *et al.* Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin. *Carbohydr. Polym.* **58**, 401–408 (2004).
30. Parada, L., Katime Amashta, I., Crespín, G. & Miranda, R. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Rev. Iberoam. Polímeros* **5**, 1 (2004).
31. Brugnerotto, J. *et al.* An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer (Guildf)*. **42**, 3569–3580 (2001).
32. Baxter, A., Dillon, M., Anthony Taylor, K. D. & Roberts, G. A. F. Improved method for i.r. determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* **14**, 166–

169 (1992).

33. Duarte, M. L., Ferreira, M. C., Marvão, M. R. & Rocha, J. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy. *Int. J. Biol. Macromol.* **31**, 1–8 (2002).
34. Renata, C.-B., Diana, J., Bozena, R., Piotr, U. & Janusz M., R. Determination of degree of deacetylation of chitosan - Comparison of methods. *Prog. Chem. Appl. Chitin its Deriv.* **17**, 5–20 (2012).
35. Minh, N. C., Van Hoa, N. & Trung, T. S. *Preparation, properties, and application of low-molecular-weight chitosan. Handbook of Chitin and Chitosan* (INC, 2020). doi:10.1016/b978-0-12-817970-3.00015-8.
36. Tavares, L., Esparza Flores, E. E., Rodrigues, R. C., Hertz, P. F. & Noreña, C. P. Z. Effect of deacetylation degree of chitosan on rheological properties and physical chemical characteristics of genipin-crosslinked chitosan beads. *Food Hydrocoll.* **106**, (2020).
37. Zohuriaan-Mehr, M. J., Omidian, H., Doroudiani, S. & Kabiri, K. Advances in non-hygienic applications of superabsorbent hydrogel materials. *J. Mater. Sci.* **45**, 5711–5735 (2010).
38. Vundavalli, R., Vundavalli, S., Nakka, M. & Rao, D. S. Biodegradable Nano-Hydrogels in Agricultural Farming - Alternative Source For Water Resources. *Procedia Mater. Sci.* **10**, 548–554 (2015).
39. Głowińska, A., Trochimczuk, A. W. & Jakubiak-Marcinkowska, A. Novel acrylate/organophosphorus-based hydrogels for agricultural applications. New outlook and innovative concept for the use of 2-(methacryloyloxy)ethyl phosphate as a multi-purpose monomer. *Eur. Polym. J.* **110**, 202–210 (2019).
40. Kiran, Tiwari, R., Krishnamoorthi, S. & Kumar, K. Synthesis of cross-linker devoid novel hydrogels: Swelling behaviour and controlled urea release studies. *J. Environ. Chem. Eng.* **7**, 103162 (2019).
41. Rehm, B. H. A. *Alginates: Biology and Applications: Biology and Applications. Microbiology Monographs* vol. 13 (2015).
42. Hay, I. D., Rehman, Z. U., Ghafoor, A. & Rehm, B. H. A. Bacterial biosynthesis of alginates. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **85**, 752–759 (2010).
43. Thakur, S. *et al.* Recent progress in sodium alginate based sustainable hydrogels for environmental applications. *J. Clean. Prod.* **198**, 143–159 (2018).
44. Drury, J. L., Dennis, R. G. & Mooney, D. J. The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials* **25**, 3187–3199 (2004).
45. Lee, K. Y. & Mooney, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* **37**, 106–126 (2012).
46. Lupo, B., González, C. & Maestro, A. Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Rev. Venez. Cienc. y Tecnol. Aliment.* **3**, 130–151 (2012).

47. Gurikov, P. & Smirnova, I. Non-Conventional Methods for Gelation of Alginate. *Gels* **4**, 14 (2018).
48. Draget, K. I. *Alginates: Fundamental Properties and Food Applications. Reference Module in Food Science* (Elsevier, 2016). doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.03182-6.
49. Grant, G., Morris, E., Rees, D., Smith, P. & Thom, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Lett.* **32**, 195–198 (1973).
50. Sirousazar, M., Kokabi, M., Hassan, Z. M. & Bahramian, A. R. Dehydration kinetics of polyvinyl alcohol nanocomposite hydrogels containing Na-montmorillonite nanoclay. *Sci. Iran.* **18**, 780–784 (2011).
51. Gonzalez, J. S., Ponce, A. & Alvarez, V. A. Preparation and Characterization of Poly (Vinylalcohol)/Bentonite Hydrogels for Potential Wound Dressings. *Adv. Mater. Lett.* **7**, 979–985 (2016).
52. Wasupalli, G. K. & Verma, D. Molecular interactions in self-assembled nano-structures of chitosan-sodium alginate based polyelectrolyte complexes. *Int. J. Biol. Macromol.* **114**, 10–17 (2018).
53. Mi, F. L., Sung, H. W. & Shyu, S. S. Drug release from chitosan-alginate complex beads reinforced by a naturally occurring cross-linking agent. *Carbohydr. Polym.* **48**, 61–72 (2002).
54. Napolitano Horacio. Diseño de experimentos. *Ind. Quim.* **354**, 17.
55. Tsui, K. L. An Overview of Taguchi Method and Newly Developed Statistical Methods for Robust Design. *IIE Trans. (Institute Ind. Eng.)* **24**, 44–57 (1992).
56. Semioshkina, N. & Voigt, G. An overview on Taguchi Method. *J. Radiat. Res.* **47 Suppl A**, A95–A100 (2006).
57. Dean, E. B. Taguchi approach to design optimization for quality and cost: An overview. 1–10 (1991).
58. Bickel, P. *et al. A Modern Theory of Factorial Designs. A Modern Theory of Factorial Designs* (2006). doi:10.1007/0-387-37344-6.
59. Antony, J. & Jiju Antony, F. Teaching the Taguchi method to industrial engineers. *Work Study* **50**, 141–149 (2001).
60. Smalheiser, N. R. Chapter 11 - ANOVA. *Data Lit.* 149–155 (2017) doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811306-6.00011-7.
61. Baysal, K., Aroguz, A. Z., Adiguzel, Z. & Baysal, B. M. Chitosan/alginate crosslinked hydrogels: Preparation, characterization and application for cell growth purposes. *Int. J. Biol. Macromol.* **59**, 342–348 (2013).
62. Rinaudo, M., Pavlov, G. & Desbrières, J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer (Guildf.)* **40**, 7029–7032 (1999).
63. Gåserød, O., Smidsrød, O. & Skjåk-Bræk, G. Microcapsules of alginate-chitosan - I. A

- quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials* **19**, 1815–1825 (1998).
64. Goldstein, J. I. *et al.* *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis* (2017). doi:10.1007/978-1-4939-6676-9.
 65. Bottom, R. Thermogravimetric Analysis. *Princ. Appl. Therm. Anal.* **1**, 87–118 (2008).
 66. Wu, X., Tang, Z., Liao, X., Wang, Z. & Liu, H. Fabrication of chitosan@calcium alginate microspheres with porous core and compact shell, and application as a quick traumatic hemostat. *Carbohydr. Polym.* 116669 (2020) doi:10.1016/j.carbpol.2020.116669.
 67. Iftime, M. M., Ailiesei, G. L., Ungureanu, E. & Marin, L. Designing chitosan based eco-friendly multifunctional soil conditioner systems with urea controlled release and water retention. *Carbohydr. Polym.* **223**, 115040 (2019).
 68. Song, B. *et al.* Hydrogel synthesis based on lignin/sodium alginate and application in agriculture. *Int. J. Biol. Macromol.* **144**, 219–230 (2020).
 69. Tomadoni, B., Salcedo, M. F., Mansilla, A. Y., Casalongué, C. A. & Alvarez, V. A. Macroporous alginate-based hydrogels to control soil substrate moisture: effect on lettuce plants under drought stress. *Eur. Polym. J.* 109953 (2020) doi:https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109953.
 70. Rajmohan, D. & Bellmer, D. Characterization of spirulina-alginate beads formed using ionic gelation. *Int. J. Food Sci.* **2019**, (2019).
 71. Lupo, B., Maestro, A., Gutiérrez, J. M. & González, C. Characterization of alginate beads with encapsulated cocoa extract to prepare functional food: Comparison of two gelation mechanisms. *Food Hydrocoll.* **49**, 25–34 (2015).
 72. Lawrie, G. *et al.* Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules* **8**, 2533–2541 (2007).
 73. Li, X., Xie, H., Lin, J., Xie, W. & Ma, X. Characterization and biodegradation of chitosan-alginate polyelectrolyte complexes. *Polym. Degrad. Stab.* **94**, 1–6 (2009).
 74. Barbosa, H. F. G., Francisco, D. S., Ferreira, A. P. G. & Cavaleiro, É. T. G. A new look towards the thermal decomposition of chitins and chitosans with different degrees of deacetylation by coupled TG-FTIR. *Carbohydr. Polym.* **225**, 115232 (2019).
 75. Dai, Y. N., Li, P., Zhang, J. P., Wang, A. Q. & Wei, Q. Swelling characteristics and drug delivery properties of nifedipine-loaded pH sensitive alginate-chitosan hydrogel beads. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* **86**, 493–500 (2008).
 76. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Factores ambientales. <http://www.fao.org/3/x8234s/x8234s08.htm>.
 77. dos Santos Araújo, P., Belini, G. B., Mambrini, G. P., Yamaji, F. M. & Waldman, W. R. Thermal degradation of calcium and sodium alginate: A greener synthesis towards calcium oxide micro/nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* **140**, 749–760 (2019).

78. Koc, B. *et al.* Production and characterization of chitosan-fungal extract films. *Food Biosci.* **35**, 100545 (2020).
79. Cannazza, G. *et al.* Experimental assessment of the use of a novel superabsorbent polymer (SAP) for the optimization of water consumption in agricultural irrigation process. *Water (Switzerland)* **6**, 2056–2069 (2014).
80. Fang, S. *et al.* Synthesis of superabsorbent polymers based on chitosan derivative graft acrylic acid-co-acrylamide and its property testing. *Int. J. Biol. Macromol.* **132**, 575–584 (2019).
81. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura-FAO. El futuro de la alimentación y la agricultura. *El Futur. la Agric. y la Aliment.* 44 (2017) doi:10.1515/nleng-2015-0013.
82. Rinda. Rinda SAP . <https://www.rinda.com.ar/rinda-sap> (2020).
83. FAO. *Agriculture and climate change – Challenges and opportunities at the global and local Level.* *Science* vol. 257 (2019).
84. Ministerio de Agroindustria & FAO/PROSAP. *Estudio del potencial de ampliación del riego en Argentina.* (2015).
85. Murgida, A. M., Travasso, M. I., González, S. & Rodríguez, G. R. Evaluación de impactos del cambio climático sobre la producción agrícola en la Argentina. 68 (2014).
86. Salinas, I. A. de Argentina y experiencia en la región central del país. 39–47 (2005).
87. Secretaría de Agricultura, G. y P. de la N. CNA 2002 Censo Nacional Agropecuario. https://sitioanterior.indec.gob.ar/cna_index.asp?_ga=2.102854336.1781820949.1594150621-1134440115.1593807402 (2002).
88. Sánchez, R. M., Guerra, L. & Scherger, M. Evaluación de las áreas bajo riego afectadas por salinidad y/o sodicidad en Argentina. *Programa Nac. Agua* (2015).
89. INTA. Eficiencia de aplicación riego gravitacional. (2014).
90. Aquastat, E. El riego en América del Sur , Centroamérica y Caribe en cifras. (2016).
91. Mordor Intelligence. Hydrogel Market | Growth, Trends, and Forecast (2019 - 2024). <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/hydrogel-market> (2019).
92. - PROJAR. <https://www.projar.es/>.
93. Lluvia Sólida - Innovación Mexicana en el sistema de Riego. <https://lluviasolida.com.mx/>.
94. SUPER SOCO. <http://www.supersoco.com/second-phase/en/index.php>.
95. Ministerio de Agricultura, G. y P. Estimaciones Agrícolas. <http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones> (2020).
96. Agrofina-Grupo Los Grobo. Agrofina . <https://www.agrofina.com.ar/> (2020).

97. Krajewski, R. y M. *Administración de operaciones* . (Pearson, 2008).
98. Todoagro Ya. Tanques de Plástico Verticales-Agroads.
<https://www.agroads.com.ar/detalle.asp?clasi=727099> (2020).
99. Rex. Zorra Hidraulica 3 Ton Lusqtoff - Rex - \$ 32.929,00 en Mercado Libre.
https://articulo.mercadolibre.com.ar/MLA-645610602-zorra-hidraulica-3-ton-1220x685-mm-lusqtoff-rex-_JM?quantity=1#reco_item_pos=0&reco_backend=machinalis-v2p-pdp&reco_backend_type=low_level&reco_client=vip-v2p&reco_id=67342b11-6ecc-4727-8358-d1e7cfe7fc07 (2020).
100. Equus. Zorra Hidraulica Equus Eléctrica 1.5 ton - \$ 193.000,00 en Mercado Libre.
https://articulo.mercadolibre.com.ar/MLA-751970277-zorra-hidraulica-equus-full-electrica-15ton-carro-_JM?quantity=1#position=1&type=item&tracking_id=65934247-4d1b-4267-b110-9f93737aadf1 (2020).
101. Haishun machinery. <https://spanish.alibaba.com/product-detail/500l-vessel-stainless-steel-liquid-mixing-tank-with-agitator-684761250.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.57d428b7rnZipZ>.
102. Filtra Vibración. ZEUS FTI-7550. www.filtrax.com.ar/zeus-fti-7550/
103. Catedra de Ingeniería económica, F. de I. (UNMdP). Inversión. (2018).
104. Consejo Profesional de Agrimensores, I. y P. A. Costos de la Construcción.
<http://www.copaipa.org.ar/costos-de-la-construccion/> (2020).
105. Municipio de General Pueyrredon. Parque Industrial General Savio .
<https://www.mardelplata.gob.ar/parqueindustrial> (2020).
106. CBH China. <https://spanish.alibaba.com/product-detail/sodium-alginate-food-grade-1388529616.html?spm=a2700.7735675.normalList.33.54ed52a6t0BPpz&s=p&s=p>.
107. Biopack® Productos Químicos. <https://www.biopack.com.ar/index.html>.
108. QUIMICA DELTA . <http://www.quimicadelta.com.ar/>.
109. Dalí Termoplásticos. <https://dalitermoplasticos.com/>.
110. Federación de sindicatos de trabajadores de industrias químicas y petroquímicas de la República Argentina. FEDERACION DE SINDICATOS DE TRABAJADORES DE INDUSTRIAS QUIMICAS Y PETROQUIMICAS DE LA REPUBLICA ARGENTINA 'SUMA FIJA SOLIDARIA' REMUNERATIVA MENSUAL. (2019).
111. Edea. Cuadro Tarifario. <https://www.edeaweb.com.ar/data/pdf/Edea - Cuadro Tarifario Hoja 1.pdf> (2020).
112. Quédigital. El Concejo también aprobó un aumento del 49,5% en la tarifa de OSSE - Qué digital. <https://quedigital.com.ar/politica/el-concejo-tambien-aprobo-un-aumento-del-495-en-la-tarifa-de-obras-sanitarias/> (2020).
113. Municipalidad del Partido de General Pueyrredon. *ANEXO A REGLAMENTO GENERAL DEL*

SERVICIO SANITARIO Sección I-Preliminar. (2018).

114. Banco Central de la República Argentina. Inflación interanual.
http://www.bcra.gov.ar/PublicacionesEstadisticas/Principales_variables_datos.asp (2020).
115. OMPI (Organización Mundial de la Propiedad Intelectual). Cómo negociar licencias tecnológicas. 53 (2004).