METODOLOGÍA FACTIBLE PARA LA OBTENCIÓN DE QUITOSANO CON FINES AGRÍCOLAS

Ana Moreno^{1*}, O. Cartaya¹, Dianevys González-Peña¹, Inés Reynaldo¹, M. A. Ramírez¹

1) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Carretera Tapaste km 3½, 32700, San José de las Lajas, Provincia Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: amoreno@inca.edu.cu

Recibido: Diciembre 2011; Aceptado: Abril 2012

RESUMEN

El quitosano es un biopolímero lineal formado por monómeros de D-glucosamina con una importante aplicación en la agricultura por su actividad antifúngica y antibacteriana. Debido a la importancia de la implementación de metodologías de obtención económicas y factibles, se evaluaron tres alternativas diferentes para la obtención de quitosano caracterizándose los polímeros obtenidos en cuanto a su grado de desacetilación, la masa molecular viscosimétrica y la actividad biológica a partir de la inhibición del crecimiento de *Phytophthora nicotianae*. De las alternativas realizadas, la tercera presentó los mejores valores de las características químicas y biológicas evaluadas por lo que se le realizó un análisis económico con el objetivo de llevar a cabo una futura inversión. En este estudio financiero se calcularon el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa de Rentabilidad Interna (TIR); obteniéndose un Valor Actual Neto positivo que implica la obtención de ganancias por encima de la rentabilidad y la Tasa de Rentabilidad Interna resultó mayor que la tasa de interés aplicada. Debido a estos resultados se llega a la conclusión de que se puede realizar una inversión para garantizar la producción de quitosano con fines agrícolas bajo las condiciones de producción definidas en este trabajo.

Palabras claves: Factibilidad económica, VAN, TIR, inversión, quitosano.

ABSTRACT

Chitosan is a biopolymer composed of linear monomers D-glucosamine with an important application in agriculture for its antifungal and antibacterial activity. Due to the importance of the implementation of methodologies for obtaining economic and feasible, three alternatives were evaluated to obtain polymers of chitosan characterized as to their degree of deacetylation, viscosimetric molecular mass and biological activity from the inhibition the growth of *Phytophthora nicotianae*. Carried out alternatives, the third presented the best value chemical and biological characteristics evaluated by what an economic analysis is conducted with the objective of conducting a future investment. This study estimated the financial Net Present Value (NPV) and Rate of Return (IRR), yielding a positive NPV implies making a profit above the profit and the rate of return was greater than the internal interest rate applied. Because of these results leads to the conclusion that an investment may be performed to ensure the production of chitosan for agricultural purposes production under the conditions defined in this paper.

Key words: Economic feasibility, Net Present Value, Rate of Return, investment, chitosan.

1. INTRODUCCION

En el mundo actual, debido a los altos niveles de contaminación presentes, se hace cada vez más necesario el uso de materiales naturales biodegradables y de poco impacto ambiental [1], tanto asociados a composiciones de fertilizantes como a preparados protectores de semillas y plantas, con el fin de lograr incrementar los rendimientos de los cultivos [2].

El quitosano es un polisacárido lineal que está compuesto por dos tipos de unidades estructurales distribuidas de manera aleatoria (distribución *Bernouliana*) a lo largo de la cadena, la

N-acetil-D-glucosamina y la D-glucosamina, las cuales se encuentran unidas entre sí por enlaces del tipo β (1 \rightarrow 4) glicosídicos. Sus propiedades avizoran una mayor efectividad económica y práctica que otros agentes tradicionales, debido a su excelente capacidad de formación de películas, unido a que no produce contaminantes, es biocompatible, no presenta toxicidad [3], naturalmente abundante y renovable [4]. Muchas son las aplicaciones de este polímero en diversas esferas, tales como, la descontaminación de residuales industriales; como floculante, en la biotecnología y la industria alimentaria, en las industrias biomédica y farmacéutica [5]. Debido a su capacidad de promover el crecimiento de las plantas, inhibir el desarrollo microbiano e inducir resistencia contra patógenos presenta importantes usos en la agricultura [6–8].

Los oligosacáridos de quitosano pueden obtenerse por dos métodos fundamentalmente: químicos [9] y enzimáticos [10]. Sin embargo, la degradación enzimática de los polímeros de quitosano posee una mayor efectividad, debido a que el curso de la reacción de hidrólisis y la distribución de los productos de ella, están sujetos a un mejor control, además de propiciar este método un rendimiento mayor de los productos de hidrólisis [11]. El proceso químico se puede llevar a cabo de dos formas, homogéneo y heterogéneo. La desacetilación homogénea comienza con un pretratamiento de hinchamiento y la eventual disolución completa de la quitina en frío (0°C) mediante la utilización de una relación de quitina/NaOH de 1:10 (m/v). Luego se somete a desacetilación a temperaturas cercanas a la del ambiente durante períodos largos de tiempo. La desacetilación heterogénea, en algunos casos, se lleva a cabo en soluciones acuosas concentradas de bases como hidróxido de sodio o de potasio, bajo condiciones severas (100–160°C) [12].

Además de todas los beneficios que presenta el empleo del quitosano, debemos tener en cuenta la efectividad económica de una posible inversión para su producción ya que la alternativa más efectiva es aquella que mezcla tanto el aspecto técnico con el económico [13,14]. Teniendo en cuenta este criterio, se recomienda la realización de una valoración de la inversión, para lo cual existen diversos métodos o modelos de valoración de inversiones. De ellos, los métodos dinámicos, son más empleados por la variación del dinero en el tiempo.

El Valor Actual Neto (VAN) es conocido bajo distintos nombres, es uno de los métodos más aceptados y se entiende como la suma de los valores actualizados de todos los flujos netos de caja esperados del proyecto, deducido el valor de la inversión inicial.

Se denomina Tasa Interna de Rentabilidad (TIR) a la tasa de descuento que hace que el Valor Actual Neto (VAN) de una inversión sea igual a cero (VAN = 0). Este método considera que una inversión es aconsejable si el TIR resultante es igual o superior a la tasa exigida por el inversor [15–17].

Debido a la importancia que presenta la implementación de metodologías económicas y factibles para la obtención de productos, en este trabajo se hizo la valoración económica a una metodología de producción de quitosano teniendo en cuenta solamente el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa de Rentabilidad Interna (TIR), además del tiempo en que se recupera la inversión.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de quitosano. Los quitosanos se obtuvieron en el *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas* a partir de la quitina comercial cubana suministrada por el *Laboratorio Farmacéutico Mario Muñoz* obtenida específicamente de carapacho seco de langosta. En las alternativas de producción de quitosano se variaron los parámetros operacionales: tiempo de reacción y el tamaño de partículas (T_p), según la Tabla 1. El producto se lava primeramente con agua hasta pH neutro y luego con alcohol. Después se seca en una estufa a 37 °C. Se realizaron tres repeticiones por cada alternativa.

Tabla 1. Parámetros operacionales utilizados en la obtención de quitosano.

Experiencia	Tamaño partículas µm	Tiempo de reacción horas
Q–I	$420 \le T_p$ $T_p \le 420$	6
Q–II	≥ 420	5
Q–III	≥ 420	6

2.2. Caracterización de los quitosanos.

- **2.2.1. Grado de acetilación.** El grado de acetilación se determinó por valoración potenciométrica, de acuerdo a *Muzarelli* [18]. Para ello, se disolvió 0,25 g del polímero en 30 mL de ácido clorhídrico (HCl) 0,3 N y se valoró con NaOH 0,2 N. La valoración se lleva a cabo midiendo el cambio de pH cada 2 mL de base añadida, la adición se realiza de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. Las medidas se realizan tres veces para cada muestra.
- **2.2.2. Masa molecular.** La viscosidad específica, como medida del peso molecular viscosimétrico, se determinó a disoluciones del polímero 1% (m/v) en HAc 1% (v/v) agua, para lo cual se empleó un viscosímetro *Ostwald* y un baño termostatado a una temperatura de 25 ± 0.2 °C.

Para el cálculo se utilizó la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada

$$[\eta] = K M_{\nu}^{\alpha} \tag{1}$$

siendo M_v el peso molecular promedio viscosimétrico, K y α dos constantes que dependen de la naturaleza del polímero, del disolvente utilizado y de la temperatura. Para este caso tienen valores de $1.81 \cdot 10^{-3}$ y 0.93 respectivamente según *Ravi Kumar* [19].

- **2.2.3. Actividad biológica.** Se evaluó la actividad biológica de las quitosanos mediante la siembra de *Phytophthora nicotianae* en placas conteniendo el medio de cultivo Agar V–8 y se le aplicaron los diferentes quitosanos obtenidas para evaluar la capacidad de inhibición de estas sobre el crecimiento del microorganismo.
- **2.3.** Valoración económica. Se calcularon el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa de Rentabilidad Interna (TIR) de la mejor alternativa obtenida. Para estos cálculos se utilizó como herramienta matemática el programa *Excel* y se tuvieron en cuenta para la valoración 10 años de análisis con una tasa de interés de 10%.

Valor Actual Neto:

$$VAN = \sum_{t=1}^{n} \frac{V_t}{(1+k)^t} - I_0$$
 (2)

 V_t representa los flujos de caja en cada periodo t, I_0 es el valor del desembolso inicial de la inversión, n es el número de períodos considerado, el tipo de interés es k.

Tasa de Rentabilidad Interna: Su cálculo se realiza teniendo en cuenta una serie de iteraciones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de las cadenas del quitosano como sus dimensiones suelen variar en dependencia del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención, por lo que la determinación del grado de acetilación y su masa molecular son dos parámetros de obligatorio conocimiento para caracterizar una muestra de estos polisacáridos, ya que ambas tienen una gran incidencia en sus propiedades [5].

Al analizar el comportamiento de la masa molecular (Figura 1) en la experiencia II se obtuvieron los mayores valores de masa molecular, lo que está de acuerdo al comparar con las otras experiencias, en está fue donde se empleo el menor tiempo de reacción, sin embargo, al

comparar las experiencias I y II que presentan el mismo tiempo de reacción la QI que tiene el menor tamaño de partículas se vio más influenciada la degradación de la quitina de ahí que se obtengan esos valoras tan bajo de masa molecular.

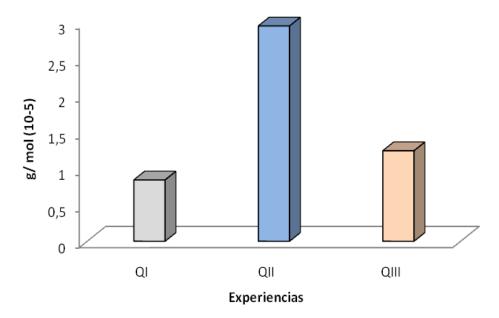


Figura 1. Masa molecular viscosimétrica de los quitosanos obtenidos.

En el caso del grado de acetilación (Figura 2) se puede apreciar que las experiencias II y III fueron las de mejores valores, en ambos casos se utilizo el mismo tamaño de partículas, variando el tiempo de reacción, aspecto que se debe tener muy en cuenta para lograr un quitosano con el grado de desacetilación deseado.

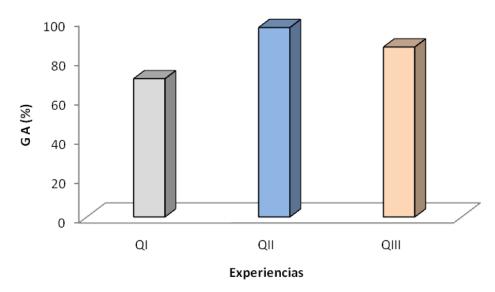


Figura 2. Grado de acetilación de los quitosanos producidos.

Al estudiar la influencia de estos parámetros operacionales en el proceso de obtención de quitosano a partir de quitina, se desprenden dos conclusiones importantes: a) que existe un compromiso entre el grado de acetilación y el peso molecular final, es decir, mientras mayor es la desacetilación alcanzada, mayor es el peso molecular, y b) que el aumento del tamaño de partículas aumenta el grado de acetilación y el peso molecular final.

Al realizar el estudio sobre la capacidad de la quitosano de inhibir el crecimiento de *Phytophthora nicotianae*, de todas las quitosanos obtenidas, la experiencia III fue la que mostró las mejores condiciones, inhibiendo el crecimiento de este patógeno en su totalidad (Tabla 2) esto se debe a que la actividad antimicrobiana del quitosano depende en gran medida del grado de desacetilación y la masa molecular que ayudan a acentuar las cargas positivas en la cadena del biopolímero [20]. En ese sentido, la dependencia de la carga con respecto al grado de desacetilación es lineal debido a que los quitosanos más desacetilados tendrán mayor número de grupos aminos libres para ionizar; asimismo, un peso molecular mayor implicará una molécula con más grupos cargados y una mayor interacción electrostática con grupos cargados negativamente [8].

Tabla 2. Inhibición del crecimiento *Phytophthora nicotianae* por los quitosanos.

	Q– I	Q–II	Q–III
Inhibición de	++	+	++++
crecimiento		,	

Por inhibir totalmente el crecimiento del microorganismo y presentar características químicas favorables, el quitosano III, se seleccionó como la mejor de los polímeros obtenidos para su empleo en la agricultura, por lo que la valoración económica de la inversión se le realizó al procedimiento de obtención de la misma.

Tabla 3. Valores de VAN en moneda nacional (MN), moneda libremente convertible (CUC) y moneda única (MU) para la producción del Quitosano III.

VAN (\$)	MN	CUC	MU
	8 490,77	1 282,17	1 763,97
Recuperación de la inversión (años)	2–3	2–3	5–6

Como resultados se obtuvieron, que para esta alternativa, en todas las monedas los VAN son positivos (Tabla 3) implicando ganancias por encima de la rentabilidad y se recupera la inversión entre los 2–3 años para la moneda nacional y la moneda libremente convertible mientras que para la moneda única entre 5–6 años.

El TIR para todas las monedas fue mayor que la tasa de interés aplicada en la valoración de inversiones (Tabla 4) por lo que estamos ante un proyecto rentable, que supone un retorno de la inversión.

Tabla 4. Valores de la Tasa de Rentabilidad Interna en moneda nacional (MN), moneda libremente convertible (CUC) y moneda única (MU) para la producción de quitosano IV.

TID (0/)	MN	CUC	MU
TIR (%)	23	27	20

4. CONCLUSIONES

De las alternativas de producción de quitosano realizadas, la tercera resultó la de mejores características químicas y biológicas y al realizar la valoración financiera, es efectiva técnica y económicamente por lo que se puede llevar a cabo una inversión para garantizar la producción de quitosano con fines agrícolas bajo las condiciones de producción definidas ya que el Valor Actual Neto es positivo implicando la obtención de ganancias por encima de la rentabilidad y la Tasa de Rentabilidad Interna es mayor que la tasa de interés aplicada. A pesar de estos resultados se recomienda continuar con la investigación de esta producción con el fin de obtener una metodología reproducible para el registro de un producto que presente como principio activo esta quitosano.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Lárez C "Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro", *Avances en Química*, **1(2)**, 15, 2006.
- 2. Hirano S, Hayashi M, Nishida T, Yamamoto T "Chitinase activity of some seeds during their germination process, and its induction by treating with chitosan and derivatives", en Chitin and Chitosan Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications, GS Bræk, T 3. Anthonsen y P Sandford (Editors). Elsevier Applied Science. Londres, 1989.
- 3. Rinaudo M, Milas M, Dung P "Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion", Intern. J. Biolog. Macromolecules, 15, 281 (1993)
- 4. Singla AK, Chawla M "Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects—an update", J. Pharm. Pharmacol., **53**, 1047, 2001.
- 5. Peniche C. "Estudio sobre Quitina y Quitosano". Tesis Doctoral, 2006.
- 6. Zheng LY, Zhu JF "Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights", Carbohydrate Polymers, **54(4)**, 527, 2003.
- 7. Helander IM, Nurmiaho-Lassila EL, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S "Chitosan disrupts the barrier

- properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria", Intern. J. Food Microbiology, 71, 235,
- 8. Velásquez Cristóbal L "Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica", Revista UDO Agrícola 8(1), 1, 2008.
- 9. Allan G, Peuron M "Depolymerization of chitosan by means of nitrous acid", en "Chitin Handbook", Oxford. Editorial Oxford University Press, 1998.
- 10. Goycoolea FM, Higuera-Ciapara I, Hernández JL, García KD "Preparation of chitosan from squid (Loligo spp.) pen by a microwave accelerated thermochemical process. Advances in Chitin Science, Domard A, Roberts G, Varum K (Editors). Jacques Andre Publisher, Lyon, Francia, 1998.
- 11. Muzzarelli RAA, Satanic V, Ramos V "Enzymatic depolymerization os chitins and chitosans. Methods in Biotecnology", **10**, 197, 2000. 12. Hernández I "La quitosano: un producto bioactivo de diversas aplicaciones", Revisión bibliográfica,
- Cultivos Tropicales, 25(3), 97, 2004.
- 13. Holland FA, Wilkinson JK, Process Economics, en R.H Perry, D. W. Green y J. O. Malooe, Perry's Chemical Engineers Handbook, 7^a Edition, Mcbraw–Hill, Inc., New York, 1999.
- 14. Vélez-Pareja JA "Decisiones de inversión", 3ª. Ed., CEJA, Bogotá, 2002.
- 15. Kall JP, Longlykke AF "Cost Estimation for Biotechnology Projets", en A. L. Demain y N. A. 16. Solomon (Editores), Manual for Industrial Microbiology and Biotechnology, Capítulo 26, ASM, Washington D. C., 1986.
- 17. Peters MS, Timmmerhaus KD "Plant Design and Economics for Chemical Engineers", 4th Edition, McGraw-Hill Inc., New York, 1991. Principles of Costing and Economics Evaluation for Bioprocesses. A Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook, Capítulo 19, 1995
- 18. Muzzarelli RAA, Rocchetti R, Stanic V, Weckx M "Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan", en RAA. Muzzarelli, MG Peter (Editores), Chitin Handbook (p. 109). Grottammare: European Chitin Society Atec, 109, 1997
- 19. Ravi Kumar MNV "A review of chitin and chitosan applications", Reactive and Functional Polymers, **46.** 1 (2000)
- 20. Struszczyk H, Pospieszny H, Kotlinski K "Some new applications of chitosan in agriculture, in Chitin and Chitosan Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications", GS Bræk, T Anthonsen, P. Sandford (Editores). Elsevier Applied Science. Londres, 1989