

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Profesional de Química



**INFORME DE SUFICIENCIA PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE LICENCIADO EN QUÍMICA**

Titulado:

**QUITOSANO: UNA REVISIÓN DE SUS APLICACIONES EN LA
ACTUALIDAD**

Presentado por:

LUZ GIANINA GARCÍA CASTILLO

Asesor:

Mg. CHRISTIAN JACINTO HERNÁNDEZ

LIMA-PERÚ

2013

DEDICATORIA

Dedico este informe a mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en mi educación académica, así como el de la vida, por su incondicional apoyo que se mantiene a través del tiempo. Y aquellas personas que con una pequeña ayuda hicieron posible un gran anhelo.

A mi hijo la razón de mi existir, sé que se sentirá orgulloso de lo que logré y a la vez sé que él será aun más grande.

“El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad.”

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque debido a él puedo escribir este informe y culminar una etapa más de mi crecimiento profesional.

A mis padres; A mi padre por la fuerza y la perseverancia de seguir siempre adelante y a mi madre por el día a día que estuvo a mi lado enseñándome a dar mis primeros pasos hasta alcanzar mis objetivos.

A la persona por la cual me levanto todos los días con ganas de seguir adelante como profesional y como mamá a mi hijo Luis Luca Sebastián Miculicich García.

A mi hermano Luis Michel García Castillo porque siempre tendré alguien quien deba superar y la meta siempre la pone alta, y a mi hermano Luis Giovanni García Castillo quien tuvo que ceder la computadora en momentos más importantes de su vida social.

A mi tío Wilder García Haro quien con su apoyo pude lograr esta meta.

A Joseph Huallpa Phuyo por darme ánimos y no dejarme vencer porque el tiempo ya se cumplía.

A los profesores que para mí no fueron efímeros sino pude rescatar siempre una enseñanza de ellos sobre todo al profesor Christian Jacinto por el apoyo que me dio como asesor desde mi proyecto de tesis y ahora en esta etapa de la licenciatura.

ÍNDICE

RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVO	13
CAPITULO I CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL QUITOSANO	14
1.1 Obtención del Quitosano	15
1.2 Propiedades del Quitosano	19
1.2.1 Características físicas y Químicas.....	20
1.2.1.1 Grado de N-acetilación.....	21
1.2.1.2 Peso Molecular	23
1.2.1.3 Propiedades de Solvente y solución	24
1.2.2 Quitosano modificado.....	26
1.2.2.1 Modificación física.....	26
1.2.2.2 Modificación química.....	28
CAPITULO II.....	30
APLICACIONES DEL QUITOSANO.....	30
2.1 Aplicaciones	31
2.1.1 Nanomateriales	31
2.1.1.1 Preparación de nanopartículas de plata en presencia de quitosano por método electroquímico, Fikry M. Reicha, Afaf Sarhan, Maysa I. Abdel-Hamid, Ibrahim M. El-Sherbiny, Carbohydrate Polymers 89 (2012) 236-244	32
2.1.1.2 Propiedades protónicas conductoras de membranas nanocompuestas de quitosano, Veeresh T. Magalad, Seema S. Pattanashetti, Gavisiddappa S. Gokavi, Chemical Engineering Journal 189-190 (2012) 1-4.....	33
2.1.1.3 Nanofibras basadas en quitosano, revisión; Maher Z. Elsabee, Hala F. Naguib, Rania Elsayed Morsi; Materials Science and Engineering C 32 (2012) 1711–1726.....	34

2.1.2	Biomedicina.....	36
2.1.2.1	Características de liberación de vitamina E incorporada en microesferas de quitosano y la evaluación <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i> para la aplicación tópica, E. Yenilmez, E. Basaran, Y. Yazan, Carbohydrate Polymers 84 (2011) 807-811.....	37
2.1.2.2	Propiedad antifúngica del quitosano cuaternizado y sus derivados, Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Somsak Saesoo. International Journal of Biological Macromolecules 50 (2012) 263-269.....	38
2.1.2.3	El quitosano mejora la eficiencia de transfección de complejos polipéptidos catiónicos/ADN, Praneet Opanasopit, Jintana Tragulpakseerojn. International Journal of Pharmaceutics 410 (2011) 161–168.	39
2.1.2.4	Un nuevo nanocompuesto ternario NiFe ₂ O ₄ /CuO/FeO - quitosano como un biosensor colesterol, Jay Singh, Manish Srivastava, Prasanta Kalita, Bansi D. Malhotra, Process Biochemistry (2010), doi: 10.1016.....	40
2.1.3	Tratamiento de aguas.....	41
2.1.3.1	Caracterización de membranas de quitosano/montmorillonita como adsorbentes para el colorante Orange Bezactiv V-3R, Aleksandra R. Nesica, Sava J. Velickovicb. Journal of Hazardous Materials 209-210 (2012) 256-263.....	41
2.1.3.2	Remoción adsorptiva de iones hierro y manganeso desde soluciones acuosas con membranas microporosas mezcla de quitosano/polietilenglicol, Neama A. Reiad, Omar E. Abdel Salam. Journal of Environmental Sciences 2012, 24(8) 1425–1432.....	43
2.1.3.3	Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo para su aplicación en la adsorción de aniones metálicos. Abel E. Navarro, Ángela Manrique, Christian Jacinto. Rev Soc Quím Perú. 76 (4) 2010.	44
2.1.3.4	Las membranas de quitosano como adsorbentes para la determinación de elementos traza en aguas superficiales. Lisaveta K. Mladenova & Ivanka Grigorova Dakova & Irina B. Karadjova. Environ Sci Pollut Res (2011) 18:1633–1643.	45
2.1.4	Agricultura y Alimentos	46
2.1.4.1	Quitosan conjugados covalentemente a los esteroides con actividad agroquímica, Javier Pérez Quiñones, Richard Szopko. Carbohydrate Polymers 84 (2011) 858–864.	48

2.1.4.2 El uso de quitosano - Los recubrimientos comestibles en combinación con otros compuestos naturales, para el control de <i>Rhizopus stolonifer</i> y <i>Escherichia coli</i> DH5 α en los tomates frescos, Margarita Ramos-García, Elsa Bosquez-Molina, Jesús Hernández-Romano, Crop Protection 38 (2012) 1-6.....	49
2.1.4.3 Sensor que contiene microesferas de quitosano reticulado con ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico para la determinación de Cu(II) en café instantáneo, Luciano Vitali, Iolanda Cruz Vieira. Food Chemistry 126 (2011) 807–814.	51
2.1.4.4 Preparación y evaluación fisicoquímica de película ternaria de quitosano/poli(alcohol vinílico)/pectina para aplicaciones de alimentos envasados, Tripathi, G.K. Mehrotra. Carbohydrate Polymers 79 (2010) 711–716.	51
CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFIA	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Estructura de la Quitina y el Quitosano.....	15
Figura 1.2 Reacción de desacetilación del Quitosano.....	16
Figura 1.3 Esquema simplificado para la obtención de Quitosano.....	17
Figura 1.4 Modo de acción de la quitina desacetilasa de <i>Mucor rouxii</i> en oligómeros de quitina.....	19
Figura 1.5 Formas diferentes de modificación.....	27
Figura 1.6 Entrecruzamiento iónico del Quitosano y el TTP.....	29
Figura 2.1 Gráfico de Arrhenius de la conductividad protónica frente a la temperatura.....	34
Figura 2.2 Micrografías SEM de quitina y quitina desacetilada (quitosano) matriz de nanofibras.....	35
Figura 2.3 Cambios en parámetros de la piel.....	37
Figura 2.4 Actividad antifúngica del quitosano y sus derivados cuaternizados utilizando el método del disco.....	39
Figura 2.5 Cinética de adsorción de Bezactiv Orange en membranas quitosano/MMT con contenido de MMT en la membrana.....	42
Figura 2.6 Efecto de la concentración inicial de iones metálicos Fe(II) y Mn(II) removidos utilizando membranas CSB con diferente proporciones CS:PEG.....	44
Figura 2.7 Esquema de la reacción para la formación de quitosano cuaternario.....	45
Figura 2.8 Efecto del pH en la adsorción de iones AuCl_4^{-1} y iones $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$	45
Figura 2.9 Perfil de liberación in vitro a 30°C de la diosgenina monosuccinato unida con quitosano en solución tampón.....	48
Figura 2.10 Espectros FTIR de películas.....	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1: Métodos de caracterización para la determinación del grado de acetilación de quitina o quitosano.....	21
Tabla 2.1: Actividad antifúngica del Quitosano cuaternizado y sus derivados.....	38
Tabla 2.2: Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en actividades relacionadas con la agricultura.....	47
Tabla 2.3: Desarrollo in vitro de <i>Rhizopus stolonifer</i> en placas de Petri.....	50
Tabla 2.4 Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> DH5 α en placas Petri conteniendo agar MacConke y diferentes recubrimientos a base de quitosano.....	50

ABREVIATURAS Y TERMINOS UTILIZADOS

FA, DA: Grado de Acetilación.

DE: Grado de Desacetilación.

GAG: Glicosoaminoglicanos.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

DMF: N,N-Dimetilformamida.

NMP: N-Methyl-2-pirrolidina.

[η]: Viscosidad intrínseca.

FTIR: Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier

ATR-FTIR: Espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier-Reflectancia total atenuada.

ToF-SIMS: Espectroscopia iónica de masas secundario-Tiempo de vuelo.

XPS: Espectroscopia de fotoelectrones de rayos X.

XRD: Difracción de rayos X.

TG: Termogravimetría

TGA: Análisis Termogravimetría.

SEM: Microscopía electrónica de barrido.

TEM: Microscopía de Transmisión electrónica.

MMT: Tricarbonil metilciclopentadienil manganeso.

DMA: Dimetilacetamida.

GPC: Cromatografía de permeación en gel.

RESUMEN

Este informe tiene el propósito de dar a conocer las investigaciones más recientes que se han realizado en torno al Quitosano, en el campo de la agricultura, alimentos, tratamiento de aguas, biomedicina y aplicaciones analíticas.

En la última década la incursión del Quitosano en ámbitos como la nanociencia y la biomedicina entre otros está en crecimiento. Este biopolímero abunda en la industria procesadora de mariscos (Camarón, Cangrejos, etc.), debido a que es altamente generadora de desechos sólidos (conchas, cabezas y patas) esto se convierten en una carga económica para las industrias procesadoras, porque su eliminación es problemática y costosa; por ello en la actualidad se aprovecha estos desechos para su conversión en productos de utilidad como son la Quitina y el Quitosano

El quitosano, poli(β -1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa, se prepara por desacetilación de los grupos acetamida de la quitina, se describe como un biopolímero catiónico lineal, no tóxico, antibacteriano, biodegradable y biocompatible. Debido a estas propiedades, se han encontrado diversas aplicaciones para el quitosano solo o mezclado con otros polímeros naturales (almidón, alginatos, gelatina, etc.) y son ampliamente utilizados para aplicaciones biomédicas tales como andamios para la ingeniería de tejido, administración de fármacos, vendajes de heridas, membranas de separación y recubrimientos antibacterianos, recubrimientos de stent, y sensores. Por ejemplo en los años recientes, se ha encontrado una novedosa técnica como es el electrospinning para producir nanofibras de quitina y quitosano. Estas nanofibras obtenidas encuentran nuevas aplicaciones en el campo de la biomedicina y los nanomateriales, debido a su gran área superficial y porosidad.

INTRODUCCIÓN

La quitina es el más abundante amino polisacárido natural y se estima que se produce anualmente casi tanto como la celulosa. Se ha convertido de gran interés no solo como un recurso infrautilizado, sino también su derivado el Quitosano es un nuevo material funcional de alto potencial en diversos campos, y el progreso reciente en la química del Quitosano es bastante notable. El propósito de esta revisión es dar una mirada más cercana a las aplicaciones del Quitosano, sobre la base de las investigaciones actuales y los productos existentes.

El Quitosano es un polímero natural usado en campos como: biomédicos, biológicos, y muchas aplicaciones industriales tales como el tratamiento de aguas residuales debido al hecho de que pueden absorber y quelar muchos cationes metálicos. El electrospinning es un campo cada vez de mayor investigación para producir fibras submicrónicas con prometedoras aplicaciones en campos como la biomedicina: andamios de ingeniería de tejidos y la capacidad de curación de heridas.

En la industria alimentaria el quitosano tiene uso como aditivo en los alimentos (espesantes, gelificantes y emulsificantes), como recubrimiento protector comestible y en procesos industriales como la recuperación de proteína de desechos de ovoproductos para alimentación animal, como clarificador en industrias de bebidas (agua, vino, zumo de manzana y zanahoria) sin afectar el color.

En tratamiento de aguas, una de las áreas de mayor importancia ya que el quitosano es un material ambientalmente amigable, entre sus principales usos en esta área se tiene: como coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad; como floculante para remoción de partículas coloidales sólidas y aceites, y para la captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas.

En la agricultura, el quitosano y sus derivados son efectivos en el control de enfermedades y plagas vegetales. Sus mecanismos de acción están vinculados a su estructura química. Pueden actuar sobre el organismo patógeno, o inducir mecanismos defensivos en las plantas, contra varias enfermedades vegetales antes y después de la cosecha. La adición de quitosano y sus derivados al suelo, favorece el crecimiento y la actividad de muchos organismos quitinolíticos, por un efecto sinérgico. Estos

constituyen controles biológicos y enemigos naturales de muchos agentes causales de enfermedades y plagas vegetales.

Elegí presentar este tema como Informe de Suficiencia para optar por el título de Licenciado en Química, pues nuestro país tiene como parte de sus recursos naturales a los crustáceos, por ello podemos aprovechar esto, para transformarlo en investigaciones sobre el Quitosano y así dar soluciones a diversos temas en el mundo actual.

Estas soluciones involucran la utilización del conocimiento adquirido, la investigación en temas relacionados al problema y la aplicación exitosa de las futuras técnicas propuestas, resultados de dichos estudios. Los artículos mostrados en los capítulos siguientes, muestran que es posible desarrollar aplicaciones, y que empresas peruanas puedan desarrollar productos y tecnologías con resultados satisfactorios en calidad y tiempo.

OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL:

Dar a conocer el uso, la versatilidad y multifuncionalidad del Quitosano en investigaciones y desarrollo de la ciencia y tecnología.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Estudio de las características fisicoquímicas del quitosano.
2. Estudio bibliográfico de las aplicaciones del quitosano en Nanomateriales, Biomedicina, Tratamiento de aguas, Agricultura y Alimentos.

CAPÍTULO I

**CARACTERÍSTICAS
GENERALES DEL
QUITOSANO**

1.1 Obtención del Quitosano

[1,2,3] La obtención del quitosano a partir de la quitina se realiza por desacetilación de la misma. La desacetilación, consiste en la pérdida del resto aceto del grupo amido, dejando libre el grupo amino del carbono 2, este proceso nunca llega al 100% de rendimiento.

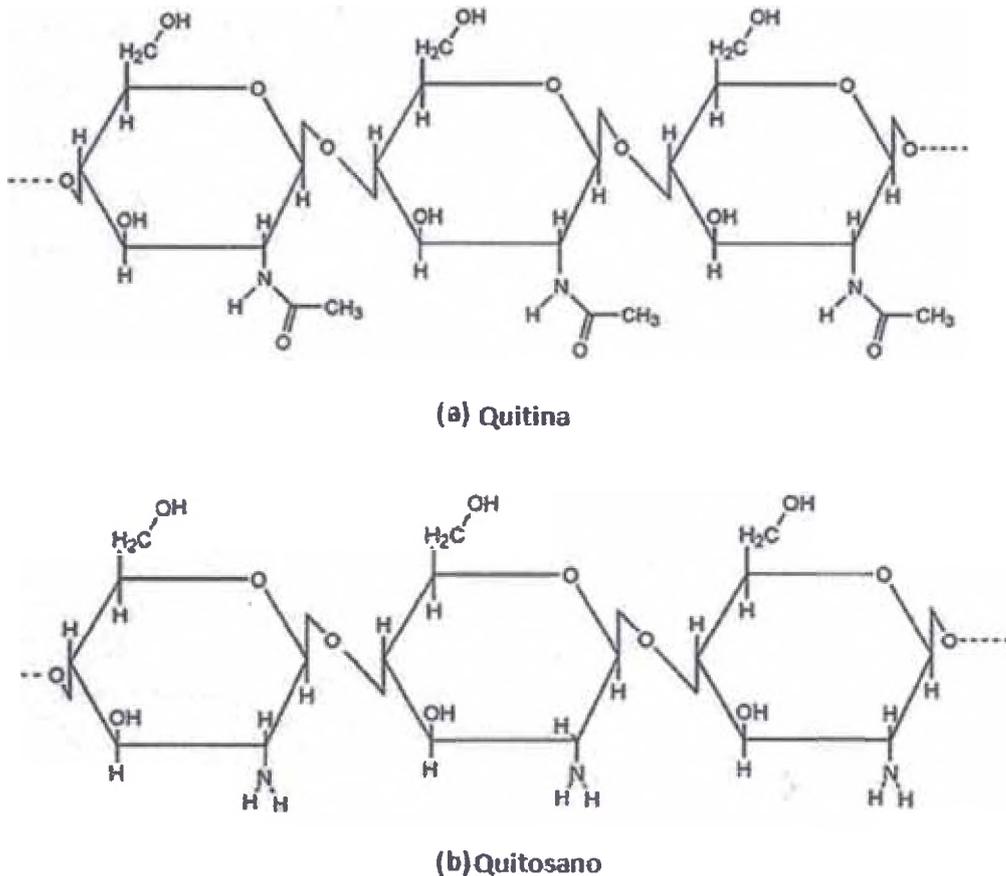


Figura 1.1: Estructura de la Quitina y el Quitosano

Actualmente, la quitina y el quitosano se obtiene del exoesqueleto de los crustáceos industrialmente procesados, tales como gambas, cangrejos, insectos y camarones; también es el director polimérico fibrilar en la pared celular de algunos hongos; realizándose un procedimiento termoquímico. En primer lugar, las conchas se desproteinizaron en condiciones alcalinas, y posteriormente son desmineralizadas para eliminar CaCO_3 en condiciones ácidas, para producir quitina pura. La N-desacetilación de la quitina se realiza ya sea heterogéneamente u homogéneamente. En el método heterogéneo, la quitina se trata con una solución caliente (temperaturas superiores a 60°C), se concentra con NaOH y el quitosano es producido como un precipitado

insoluble. El quitosano preparado por este método es de ~85-93% desacetilado. De acuerdo al método homogéneo, la quitina también se trata con NaOH, pero bajo condiciones más suaves. Este método da un quitosano soluble con un grado medio de desacetilación de 48-55% .

La fuente y el método de obtención determinan la composición de las cadenas de quitosano y su tamaño. Las principales propiedades fisico-químicas del quitosano que determinan sus propiedades funcionales son su grado de desacetilación y su peso molecular promedio, aunque la cristalinidad, el contenido de agua, cenizas y proteínas también son características fisico-químicas a considerar para la aplicación de un quitosano específico.

El uso creciente de la quitina, a si como sus derivados, ha sido motivado por el hecho de que, al contrario de los derivados del petróleo, esta se obtiene de los subproductos de la industria pesquera, fuente naturalmente renovable, no tóxica y no alérgica, entre otras cosas.

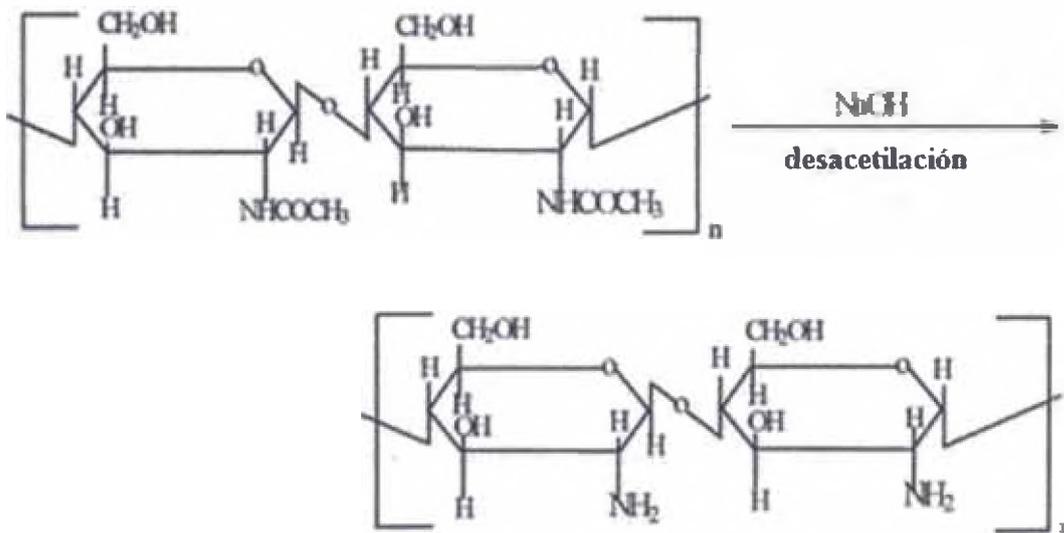


Figura 1.2 Reacción de desacetilación del Quitosano

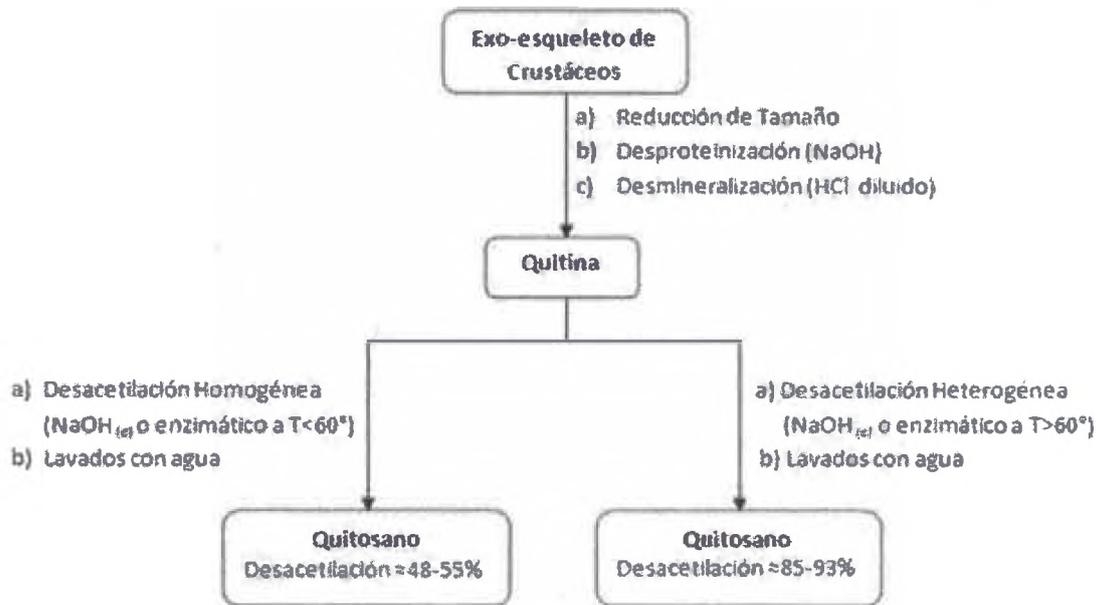


Figura 1.3 Esquema simplificado para la obtención de Quitosano

Es importante recordar que además del grado de acetilación, la distribución de los grupos acetilo en la cadena de quitosano varía con el método de preparación. Muestras de quitosano desacetilado homogéneamente, con FA variando en el intervalo de 0.04 a 0.49, mostraron que las frecuencias de distribución $^1\text{H-RMN}$ eran aleatorias (Bernoullian). A la inversa, muestras de quitosano dentro del mismo rango de F_A , pero producidas en condiciones heterogéneas, parecía tener una distribución ligeramente mejor en bloques. Esto parece ser dependiente del grado de acetilación, como se sabe la reacción alcalina procede preferentemente en las regiones amorfas, y por quitosanos con $F_A > 0.44$, esto también procedió en las regiones cristalinas para dar tipos de copolímeros aleatorios. Esto dará como resultado por lo tanto, la existencia de una polidispersidad con respecto al DA entre diferentes cadenas de una muestra de quitina o quitosano. Una conclusión importante que surge también a partir de estos resultados es que el valor del DA medido en una solución preparada heterogéneamente tiene carácter promedio.

Sin embargo, ambos métodos tienen tres inconvenientes importantes:

- (1) que consumen considerables cantidades de energía;
- (2) que pierden una gran cantidad de solución alcalina concentrada, resultando en un incremento en el nivel de protección de contaminación, y

(3) que conducen a productos con una amplia gama de pesos moleculares y un grado de desacetilación heterogéneo.

Sin embargo, un material uniforme con propiedades físicas y químicas específicas es requerido para muchas aplicaciones biomédicas. Además, el grado y la distribución de desacetilación se ha encontrado que influyen en las propiedades físicas y químicas, así como en las actividades biológicas de este polímero y posteriormente las propiedades de los fármacos u otras formulaciones industriales que están basadas en el quitosano.

A fin de superar estos inconvenientes en la preparación del quitosano, una alternativa es el método enzimático. La eficacia de quitina desacetilasa para la preparación de quitosano se ha probado utilizando una enzima aislada del hongo *M. rouxii*. La quitina, tanto en su cristalino y su forma químicamente modificada, quitina amorfa, se ha utilizado como sustrato. Los grados de desacetilación obtenidos fueron 0.5% y 9.5%. Estos grados relativamente bajos de desacetilación indican que la enzima no es muy eficaz. Resultados similares fueron también obtenidos utilizando desacetilasas de quitina aisladas de diferentes fuentes. El pre tratamiento de sustratos de quitina cristalina antes de la adición de enzimas parece ser necesaria a fin de mejorar la accesibilidad de los grupos acetilo a la enzima y por lo tanto mejorar el rendimiento y la tasa de la reacción de desacetilación. Los experimentos también se han realizado utilizando la quitina desacetilasa a partir de *M. rouxii* y quitosanos solubles en agua parcialmente desacetilados como sustratos. Se demostró que la enzima fue eficaz en la desacetilación de polímeros, con un máximo de 97% desacetilación, aunque este procedimiento todavía no ha sido optimizado. Además, debido a que la desacetilación enzimática no es un proceso aleatorio como la desacetilación química, nuevos polímeros con diferentes características físicas y químicas pueden ser producidos.

Las ventajas de un proceso enzimático son más evidentes en la desacetilación de oligómeros de quitina. Estos compuestos, en contraste con sus correspondientes polímeros, son solubles en solución acuosa y por lo tanto más accesible para la acción enzimática. Además, oligómeros desacetilados enzimáticamente, en comparación con oligómeros desacetilados químicamente, se pueden producir fácilmente y tienen una distribución diferente de residuos *N*-desacetilados. Una variedad bien definida de oligómeros quitosano pueden ser producidos a partir de una desacetilación enzimática de una sola etapa (Figura 1.4).

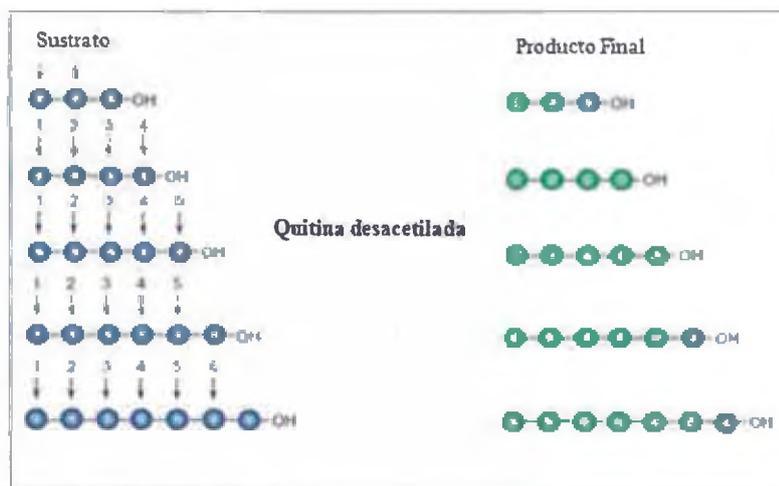


Figura 1.4 Modo de acción de la quitina desacetilasa de *Mucor rouxii* en oligómeros de quitina. Las esferas azules corresponden a residuos *N*-acetil-D-glucosamina; las esferas verdes a sus homólogos desacetilados (D-glucosamina). Las flechas numeradas indican el orden y el sitio de desacetilación.

En conclusión, el desarrollo de un proceso controlable utilizando la desacetilación enzimática de sustratos de quitina presenta un procedimiento alternativo atractivo que puede, en principio, dar lugar a la preparación de nuevos polímeros y oligómeros de quitosano.

1.2 Propiedades del Quitosano

[4] El quitosano es un copolímero lineal de d -glucosamina y *N*-acetil d -glucosamina con un enlace β -(1-4), en la que la glucosamina es la unidad predominante de repetición. Se procesa fácilmente en películas, andamios-3D, nanofibras, y nanopartículas. Se forma complejos de polielectrolitos con polisacáridos, poliaminoácidos, proteínas y glycosoaminoglicanos (GAG).

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se estudian desde hace ya algún tiempo, por la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como la reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas entrecruzadas, etc., de las cuales se obtienen materiales con propiedades adecuadas para aplicaciones inmediatas y futuras en biotecnología, biomedicina, agricultura, etc.

Para finalizar esta breve reseña histórica es importante recalcar la febril actividad que se desarrolla en torno a estos materiales, lo que se ha traducido en la aparición de Congresos, Simposios, Conferencias, etc., dedicados exclusivamente a ellos. Su importancia adquirió matiz internacional como materiales poliméricos de primer orden, especialmente por su biodegradabilidad.

1.2.1 Características físicas y Químicas

[5] La diferencia entre la quitina y el quitosano es el grado de desacetilación y su respectiva solubilidad en medios ácidos diluidos. Aunque la cadena principal del polímero consiste en grupos funcionales hidrófilos y es de naturaleza hidrófoba, el quitosano es normalmente insoluble en agua a pH casi neutro y en los disolventes orgánicos más comunes (Por ejemplo, DMSO, DMF, NMP, alcoholes orgánicos, piridina). La insolubilidad del quitosano en disolventes acuosos y orgánicos es el resultado de su estructura cristalina, que se atribuye a un extenso enlace intramolecular e intermolecular de hidrógeno entre las cadenas y las hojas, respectivamente.

El grado de desacetilación depende de la materia prima de la que se obtuvo la quitina y el procedimiento experimental para la obtención del quitosano y está a su vez controla la fracción de grupos aminos libres que estarán disponibles para interacciones con los iones metálicos. Cuando el grado de desacetilación de la quitina es mayor que 40-50%, el quitosano se hace soluble en medios ácidos. La solubilización se produce por la protonación de los grupos NH_2 en la posición C2 de la unidad D-glucosamina, aunque la distribución de los grupos acetilo a lo largo de la cadena puede modificar la solubilidad. La presencia de grupos aminos en quitosano lo hace un polielectrolito catiónico ($\text{pK}_a = 6.5$), uno de los pocos encontrados en la naturaleza.

La capacidad de adsorción del quitosano depende del origen del polisacárido y de las condiciones experimentales en la preparación, que determinan el grado de acetilación, peso molecular, cristalinidad, hidrofiliidad, etc. La adsorción de metales en quitosano o derivados de quitosano supone ahora que se produzca a través de varias interacciones simples o mixtas: quelación o la coordinación de grupos aminos de forma colgante o en combinación con grupos hidroxilo vecinales, atracción electrostática en medios ácidos o de intercambio iónico con grupos aminos protonados a través de intercambio de

protones o de intercambio aniónico, el ión contador se intercambia con el ion metálico. Es importante señalar, que diferentes tipos de interacciones pueden actuar simultáneamente y que el enlace de hidrógeno debido a los grupos amino también puede estar implicado en el proceso de adsorción.

1.2.1.1 Grado de N-acetilación

^[1,3,4] El grado de acetilación se define como la fracción o porcentaje de unidades glicosídicas *N*-acetilados en el quitosano. Se designa indistintamente como FA o DA (aunque DA a veces también se expresa como DA en porcentaje). También es habitual expresar este parámetro como grado de desacetilación ($= 1 - FA$ o $DE = 100 - DA$ porcentaje). La tabla 1.1 muestra un resumen de métodos espectroscópicos, titulación, dicroísmo circular, enzimático, cromatográfico, y térmicos analíticos que han sido documentados para la determinación de DA en muestras de quitina y quitosano.

Tabla 1.1: Métodos de caracterización para la determinación del grado de acetilación de quitina o quitosano

Método	Condiciones analíticas	Notas
I. Muestras solubles		
Espectroscopia de campo alto ¹ H RMN	Muestras de quitosano despolimerizado en D ₂ O (ρD 3-4) a 90°C Muestras nativas de quitosano en DCI 2% a 70°C; secuencia de pulsos: τ=40s, θ=45° Muestras nativas de quitosano en DCI 2% a 27°C; secuencia de pulsos: τ=13s, θ=90°	En todos los casos, DA es calculada desde las áreas relativas de resonancia del H-1 de A y/o D o en combinación con grupos resonantes <i>N</i> -acetil para el total de áreas de resonancia Adquisición optimizada de tiempo basada en mediciones inversión recuperación T ₁
Espectroscopia UV	Quitosano disuelto en ácido acético en 0.01 M; curva de calibración con <i>N</i> -acetil glucosamina	Primera derivada de absorbancia UV es registrada en el punto de contribución nula del ácido acético (λ~200nm)
Dicroísmo circular	Quitosano disuelto en ácido acético; curva de calibración con <i>N</i> -acetil glucosamina	Basada en transiciones n-π* de grupos amidas con una banda c.d. localizada en la región de λ~211 nm
Potenciometría	Quitosano disuelto en exceso de HCl	Titulación con NaOH, medida de consumo de HCl necesaria para protonar los grupos aminos
Conductimetría	Quitosano disuelto en exceso de HCl	Titulación con NaOH necesaria para neutralizar los grupos aminos libres

		en el quitosano
Método enzimático	Quitosano disuelto en 0.2% de ácido acético e incubado con 5 unidades de cada α -D-glucosaminidasa, β -N-acetilhexoaminidasa y quitosanas por 12h a 40°C	Cantidades liberadas de monosacáridos glucosamina y N-acetil glucosamina son determinadas por colorimetría específica o método HPLC
II. Muestras insolubles		
Espectroscopia FTIR	Muestras molidas son mezcladas con KBr seco (~1:100)(NB: finas películas también se pueden convertir desde soluciones concentradas de muestras solubles)	Varios conjuntos de mediciones y bandas de referencia calibradas con DA determinada por espectroscopia RMN y UV y métodos de titulación
^{13}C CP-MAS RMN	No preparación de muestras	Demora de relajación optimizadas. DA es calculado desde las áreas relativas de CH_3 para el total de resonantes
^{15}N CP-MAS RMN	No preparación de muestras	No es adecuado para DA < 10%. Particularmente útil para complejos quitina/ quitosano asociados con otros polisacáridos
Análisis elemental Análisis térmico	Polvo analizado directamente Polvo analizado directamente	Calculada desde la proporción C/N Basada en la Entalpia de degradación de la muestra
Pirolisis-GC	Pirolisis a 450°C bajo He	DA calculado desde muestras de programas y de N-acetil glucosamina
HPLC	Muestras hidrolizadas con H_2SO_4 2.41 M	Basada en la determinación de grupos acetilos liberados

Aunque la lista de métodos para cada uno no es exhaustiva, pretende presentar una visión general del estado de las distintas técnicas, con el fin de servir como una guía para ayudar a elegir el mejor método para satisfacer necesidades específicas. En gran medida, el método preferido es influenciado por la disponibilidad instrumental y la solubilidad de la muestra. Por tanto, hemos separado los diversos métodos analíticos e instrumentales en dos categorías, a saber, aquellas que son adecuadas para el análisis de muestras en solución y las que son adecuadas para las muestras en estado sólido. Los primeros son los más adecuados para el análisis de quitosano y el segundo tanto para quitina y quitosano, con independencia de su solubilidad. Para fines analíticos de rutina de quitosano soluble, la medición del contenido N-acetil por la primera derivada del método UV da muy buenos resultados, mientras que la espectroscopia IR sigue siendo el método más sencillo y fiable para muestras de quitina o quitosano en estado sólido.

El grado de acetilación influye en muchas propiedades, incluyendo la capacidad para apoyar la adhesión celular, la proliferación y la diferenciación, la respuesta inflamatoria y la velocidad de degradación. El porcentaje de grupos amino que quedan libres en la molécula de quitosano es lo que se denomina grado de desacetilación y está estrechamente vinculado con su solubilidad. Como consecuencia de la hidrólisis del grupo N-acetilo, aumenta la capacidad hidrofílica del quitosano y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas (acético, fórmico, clorhídrico, entre otros) ya que el pKa del grupo amino del quitosano es de 6.5. La protonación de los grupos amino del quitosano en medio ácido le confiere un carácter altamente reactivo.

1.2.1.2 Peso Molecular

^[3,4] El quitosano es un polímero formado por unidades repetidas de D glucosamina, por lo que la longitud de la cadena y por tanto, su peso molecular, es una característica importante de la molécula. Dependiendo de la fuente y el procedimiento de preparación, su peso molecular puede variar de 300 a más de 1000 kD con una DE de 30% a 95% (Dornish et al., 2001; VandeVord et al., 2002). El peso molecular promedio de la quitina es de 1.03×10^6 a 2.5×10^6 , pero la reacción de *N*-desacetilación reduce esto a 1×10^5 a 5×10^5 .

El peso molecular y su distribución afectan las propiedades físicas, químicas y biológicas del quitosano, tales como:

- (i) las propiedades mecánicas de los hidrogeles,
- (ii) el tamaño de los poros de las membranas, armazones y microcápsulas,
- (iii) el tamaño de la partícula y las propiedades de liberación de fármaco de nanopartículas,
- (iv) el efecto del quitosano sobre la permeabilidad de las células epiteliales
- (v) y su actividad antimicrobiana.

Los principales métodos utilizados para determinar el peso molecular del quitosano son similares a los utilizados para cualquier polímero, es decir, viscosimetría, dispersión de

luz, cromatografía de filtración en gel, osmometría y equilibrio de sedimentación por ultracentrifugación.

Hablaremos de la técnica más empleada:

La viscosimetría es el método que se utiliza principalmente para determinar el peso molecular del quitosano debido a su simplicidad. El método tiene la desventaja de no ser absoluta porque se basa en la correlación entre los valores de viscosidad intrínseca con los de peso molecular, tal como se determina por un método absoluto, por fracciones de un polímero dado. Esta relación está dada por la conocida ecuación Mark-Houwink-Sakurada.

$$[\eta]=KM_v^a$$

Donde M_v es el peso molecular promedio en el viscosimétrico, K y a son constantes que dependen de la naturaleza del polímero, el sistema disolvente y la temperatura. Experimentalmente, la viscosidad intrínseca de las soluciones de quitosano se calcula usando las ecuaciones de Huggins y Kraemer.

Otro parámetro directamente relacionado con el grado de N-acetilación, y que es posible estimar a partir del mismo, es la masa molar del equivalente-amino. Esta masa molar se calcula según la siguiente relación:

$$M_{NH_2} = \frac{203.19 \times DA + 161.15 \times (1 - DA)}{(1 - DA)}$$

1.2.1.3 Propiedades de Solvente y solución

[6,3] En su forma cristalina, el quitosano es normalmente insoluble en solución acuosa por encima de pH 7, sin embargo, en los ácidos diluidos (pH < 6.0), los grupos amino protonados libres sobre la glucosamina facilitan la solubilidad de la molécula. Generalmente, el quitosano tiene tres tipos de grupos funcionales reactivos, un grupo amino, así como grupos hidroxilo primarios y secundarios en las posiciones C (2), C (3), y C (6), respectivamente.

Debido a su alta energía cohesiva relacionada con fuertes interacciones intermoleculares a través de enlaces de hidrógeno, la quitina como la celulosa son difíciles de disolver. Roberts ha agrupado los sistemas de disolventes para la quitina en tres categorías a saber: soluciones acuosas de sales neutras, disolventes ácidos y disolventes orgánicos. En contraste con la quitina, la presencia de grupos amino libres a lo largo de las cadenas del quitosano permite a esta macromolécula disolverse en disolventes ácidos acuosos diluidos a través de la protonación de estos grupos y de la formación de la correspondiente sal de quitosano. Por tanto, es importante darse cuenta de que el carácter polielectrolito del quitosano es influenciado por las propiedades de la solución.

En cuanto a la composición química, los dos factores que deben tenerse en cuenta al examinar la rigidez de las cadenas de quitosano, son: (i) la presencia de unidades acetiladas deben aumentar la rigidez debido a razones estéricas y/o de enlace de hidrógeno entre dos restos adyacentes y (ii) el carácter polielectrolito de este biopolímero derivado desde la presencia en la solución de iones de amoníaco tienden a expandir las cadenas a una fuerza iónica baja o moderada, aumentando así el volumen excluido por repulsiones electrostáticas. Es evidente que cada uno de estos dos factores se incrementa cuando la otra disminuye, a veces de contrabalance entre sí dependiendo de su fuerza relativa. El análisis del parámetro de rigidez, B , propuesto por Smidsrød y Haug para muestras de quitosano con diferentes grados de acetilación dio lugar a una conclusión importante. Al contenido de grupos amino de alrededor del 80 por ciento no hay efecto de la composición química sobre la rigidez de la cadena. Sin embargo, cuando el contenido de residuos N-acetilglucosamina aumenta, la rigidez del polisacárido aumenta lo que indica que el papel de los grupos acetilo predomina sobre el efecto de polielectrolito. (Se debe recordar que cuanto mayor es la rigidez de la cadena de polielectrolito, menor es el valor B). Una posible explicación para este comportamiento es que si el parámetro carga de una cadena de quitosano totalmente protonada se evalúa, el resultado es que para $DA \geq 0.28$, $\xi \geq 1$. Por el contrario, cuando $DA < 0.28$, entonces $\xi < 1$, haciendo que la baja densidad de carga y el papel de los grupos acetilo más importantes que el efecto de polielectrolito.

Un estudio llevado a cabo con muestras de quitosano preparadas por procesos tanto homogéneos y heterogéneos ayuda a comprender la función del contenido de grupos N-

acetilo y su distribución sobre la rigidez de las cadenas de polímero. Datos teóricos y experimentales han demostrado que la persistencia de longitud intrínseca permanece constante ($L_P = 110 \text{ \AA}$) para quitosanos heterogéneos con grados de acetilación inferior al 25 por ciento. Para quitosanos homogéneos, L_P aumenta con el grado de acetilación. La rigidez de cadenas de quitosano parece ser mayor para quitosano N-reacetilado homogéneamente.

1.2.2 Quitosano modificado

[5] Una de las ventajas del quitosano que atrae mayor interés es su versatilidad. Este polímero puede ser fácilmente modificado por procesos químicos o físicos para preparar derivados de quitosano. El material puede ser rápidamente modificado físicamente y obtenido en diferentes formas, incluyendo polvo, nano partículas, perlas de gel, membranas, esponjas, en forma de panal, fibras o fibras huecas. La presencia de un alto porcentaje de grupos amino reactivos, generalmente mayor que 80%, distribuido en su matriz polimérica, permite que los cambios químicos que se lleven a cabo.

1.2.2.1 Modificación física

[5] La eficiencia de adsorción depende de las propiedades fisicoquímicas, principalmente superficie, porosidad y tamaño de las partículas adsorbentes. El quitosano tiene un área específica muy baja que oscila entre 2 y 30 m^2g^{-1} , mientras que la mayoría de carbones activados comerciales oscilan entre 800 y 1500 m^2g^{-1} . Materiales basados en quitosano se utilizan en los diferentes campos de aplicación en forma de polvo, escamas y ante todo, como geles: perlas, membranas, esponjas, fibras, fibras huecas, etc. Formas en escamas y polvo de quitosano no son adecuados para ser utilizados como adsorbentes debido a su baja área superficial y no porosidad. Escamas de quitosano modificado en perlas son esenciales para la mejora del rendimiento de adsorción. Existen muchos estudios que describen la preparación de geles de quitosano. Fabricación de gránulos de gel permite una expansión de la red de polímero mejorando el acceso a los sitios internos de sorción y la mejora de la difusión mecanismos.

A pesar del alto rendimiento de perlas de quitosano, ha habido dificultades en la transferencia del proceso a las aplicaciones industriales, probablemente porque son

frágiles en la naturaleza en términos de resistencia mecánica y presentan una baja estabilidad en medios ácidos. El método de evaporación del disolvente se utiliza principalmente para la preparación de membranas y películas de quitosano. El quitosano sólido se obtiene cuando una solución ácida de quitosano se mezcla con álcali. Este método se utiliza también para producir membranas de quitosano, fibras, pero sobre todo perlas esféricas de diferentes tamaños y porosidades. Además, esponjas porosas tridimensionales se pueden preparar mediante secado por congelación, donde las soluciones o geles de quitosano se congelan seguidas de una liofilización. La porosidad y morfología del material producido depende del peso molecular del quitosano y de la composición y concentración de la solución de partida, y lo más importante la temperatura de congelación y la velocidad de congelación.

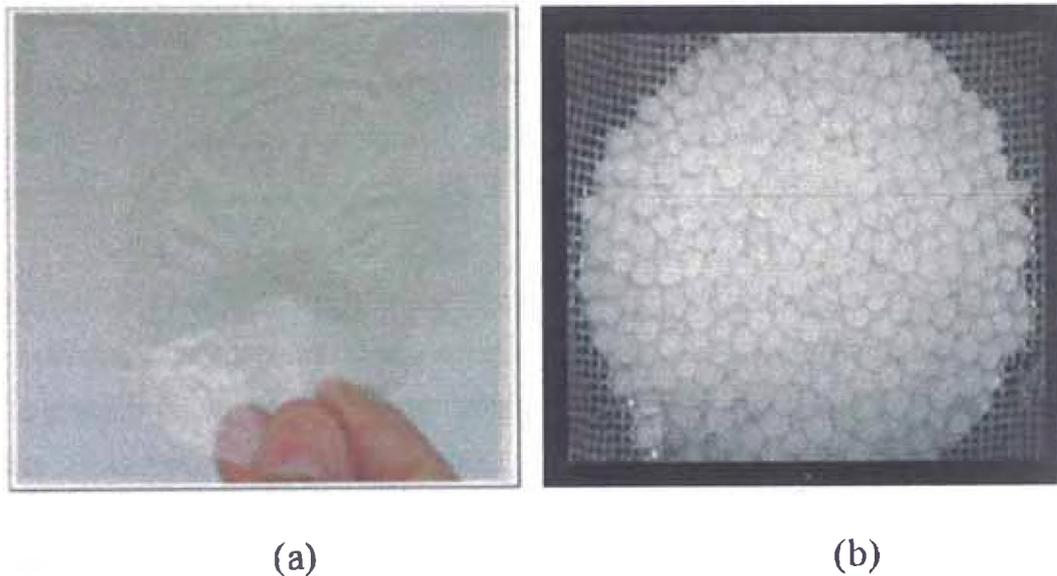


Figura 1.5 Se observan dos formas diferentes de Modificación Física: **(a)** Película de Quitosano e **(b)** Hidrogel de Quitosano

Características de porosidad y relacionados se pueden manipular usando separación criogénica de fases, por agentes de entrecruzamiento, la incorporación de metales espaciadores que luego pueden ser retirados, por la inclusión de hidrocarburos tales como cloruro de nonanilo para reducir el efecto hidrófobo y mediante el injerto de compuestos que contienen grupos funcionales en quitosano. Un aumento en la difusión intrapartícula se puede conseguir a través de la reducción de la cristalinidad mediante la

disolución de quitosano (en solución ácida), seguido de un proceso de coagulación para la preparación de perlas gel o por liofilización directa de la solución del polímero [11].

1.2.2.2 Modificación química

[7,5] La modificación química del quitosano es de interés ya que la modificación no cambiaría la estructura fundamental del quitosano, pero producirá nuevas o mejoradas propiedades. Un gran número de derivados de quitosano se han obtenido con el objetivo de adsorber iones metálicos mediante el injerto de nuevos grupos funcionales en la cadena principal de quitosano. Los nuevos grupos funcionales se incorporan para aumentar la densidad de sitios de adsorción, para cambiar el intervalo de pH para el metal a ser adsorbido y para cambiar los sitios de adsorción con el fin de aumentar la selectividad del metal objetivo. La modificación química proporciona una amplia gama de derivados con propiedades modificadas para aplicaciones específicas, y su uso en diversas áreas, principalmente de los campos farmacéuticos, biomédicos y biotecnológicos.

La modificación química del quitosano tiene dos objetivos principales: (a) para mejorar las propiedades de adsorción de metal y (b) para cambiar las propiedades de solubilidad del quitosano en agua o en medio ácido. Las reacciones químicas que implican la sustitución del grupo NH_2 en la posición C2 o los grupos OH en las posiciones C3 y C6 de las unidades acetiladas y desacetiladas. La reacción principal se realiza fácilmente implica al grupo NH_2 en la cuaternización de los grupos amino o la aminación reductora en la que una función aldehído reacciona con el grupo NH_2 . El injerto de quitosano permite la formación de derivados funcionales mediante la unión covalente de una molécula, el injerto, sobre la cadena principal de quitosano. Las propiedades de los copolímeros de injerto resultantes son controladas por las características de las cadenas laterales, incluyendo la estructura molecular, la longitud y número.

Los agentes de reticulación están compuestos generalmente por grupos funcionales separados por algunas moléculas espaciadas que se pueden estructurar en diversas formas (anillos, cadenas lineales, cadenas ramificadas). Los agentes de reticulación pueden ser de longitud variable y pueden contener otros grupos funcionales a los involucrados en la reticulación. La reticulación parcial por reactivos di/polifuncionales

permite el uso del quitosano para la adsorción del metal en medio ácido. De una manera general, la capacidad de adsorción disminuye con el grado de reticulación ya que disminuyen los sitios reactivos en el polímero de quitosano sino que también, se puede mejorar la capacidad de adsorción, en función de los grupos funcionales en el agente de reticulación. Varios agentes de reticulación bi o polifuncionales se han utilizado, tal como el glutaraldehído (GLA), éter diglicídico de etilenglicol (EGDE), glioxal, epíclorhidrina (EPI), benzoquinona, ciclodextrina (CD), etc. El hecho de que los agentes de reticulación antes citados son ni seguros ni respetuosos del medio ambiente, ha conducido al uso de agentes de reticulación solubles en agua tales como trimetafosfato de sodio, tripolifosfato de sodio, o ácidos carboxílicos.

La identificación de quitosano y derivados el quitosano ha sido llevado a cabo por diferentes técnicas no destructivas: difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido acoplado con energía de dispersión de espectroscopia de rayos X (SEM-EDX), difracción de rayos X de ángulo ancho (WAXRD), espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), espectroscopia de fluorescencia de rayos X (XRF), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), micro reflectancia total atenuada - transformada de Fourier infrarroja (ATR-FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), resonancia magnética nuclear (RMN), pulso giratorio ángulo mágico y polarización cruzada de espectroscopia de resonancia magnética nuclear (^{13}C -CPMAS-RMN), cromatografía de tamaño exclusión (SEC), etc.

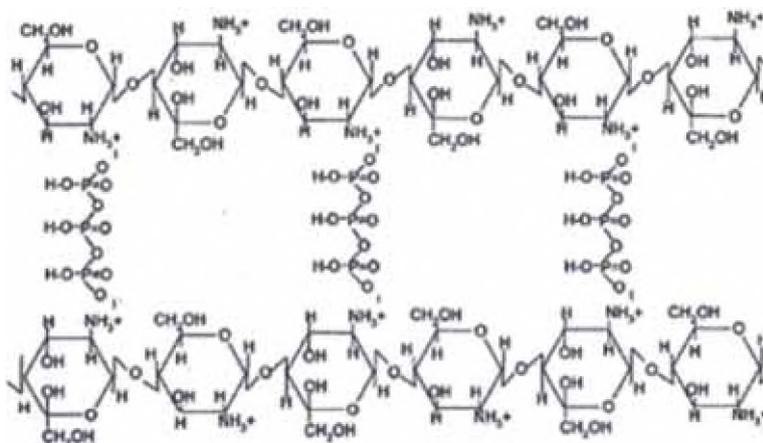


Figura 1.6 Entrecruzamiento iónico del Quitosano y el TTP (Tripolifosfato Sódico)

CAPITULO II

APLICACIONES DEL QUITOSANO

2.1 Aplicaciones

[5-10] El quitosano es un biopolímero que en los últimos años ha encontrado gran cantidad de aplicaciones, especialmente en la industria alimentaria y en la biotecnológica. Algunas de las propiedades funcionales del quitosano son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesión, capacidad filmogénica, hemostático, promotor de absorción, actividad antimicrobiana, anticolesterolémica y antioxidante. Estas propiedades funcionales han promovido su utilización en distintos campos como son agricultura, industria y medicina. En agricultura, el quitosano se ha utilizado como antiviral en plantas y como aditivo en fertilizantes. Así mismo se ha investigado como agente quelante de metales en agricultura e industria y como agente filmogénico en cosmética. También ha sido utilizado en la industria papelera, en la textil y en el tratamiento de aguas residuales. En la industria alimentaria se puede utilizar como ingrediente funcional y como fibra alimentaria. Además, tiene la capacidad de unirse a grasas, por lo que se utiliza como agente hipocolesterolémico en productos dietéticos. Ha sido altamente utilizado en el campo de la biomedicina debido a su actividad inmuno estimuladora, propiedades anticoagulantes, acción antibacteriana y antifúngica y por su acción como promotor de la cicatrización de heridas. Debido a su carácter catiónico y a sus propiedades gelificantes y filmogénicas, el quitosano ha sido estudiado en la industria farmacéutica por su potencial en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos.

2.1.1 Nanomateriales

[11] La quitina y el quitosano son polímeros naturales con un potencial enorme en numerosos campos, a saber, biomédicas, biológicas, y muchas aplicaciones industriales tales como el tratamiento de aguas residuales debido al hecho de que pueden absorber y quelar muchos cationes metálicos. El electrospinning es un campo cada vez de mayor investigación para producir fibras submicrónicas con prometedoras aplicaciones en campos como la biomedicina, como armazones de ingeniería de tejidos y la capacidad de curación de heridas.

Ambos polímeros de quitina y quitosano fueron obtenidos de forma muy difícil por electrospun, sin embargo, muchos investigadores logran producir nano-fibras utilizando

disolventes especiales, por ejemplo, 90% de ácido acético fue utilizado para reducir la tensión superficial haciendo factible electrospinning. Mezclas de ácidos orgánicos se utilizaron también para producir fibras homogéneas y uniformes. Mayor atención se prestó al electrospinning de derivados solubles tales como dibutilil y carboximetil quitina.

Más derivados de quitosano fueron investigados para producir nano-fibras tales como hexanoil, polietilenglicol, carboximetilcelulosa, y una serie de derivados de quitosano cuaternizado. Las nano-fibras obtenidas se encontraron que tienen mejores cualidades que las fibras de un quitosano normal. Varias mezclas de polímeros de quitina quitosano con muchos polímeros comerciales se han encontrado que son susceptibles por electrospinning para producir perlas uniformes libres.

2.1.1.1 Preparación de nanopartículas de plata en presencia de quitosano por método electroquímico, Fikry M. Reicha, Afaf Sarhan, Maysa I. Abdel-Hamid, Ibrahim M. El-Sherbiny, Carbohydrate Polymers 89 (2012) 236-244

^[12] El presente estudio involucra el desarrollo estabilizador y densamente disperso de nanopartículas de quitosano - Ag utilizando un enfoque basado en electroquímica de oxidación / complejación proceso seguido de reducción por radiación UV. La formación de las nanopartículas se confirmó por la aparición de plasmones de superficie que absorben alrededor de 420 nm. Las nanopartículas fueron caracterizadas usando TEM, XRD, FTIR, análisis elemental, absorción atómica, energía dispersiva de rayos X, espectrofotometría UV- visible. Las nanopartículas obtenidas fueron uniformes y esféricas con un tamaño promedio de 2-16 nm. Se encontró que aumentando el contenido de Ag en las películas a base quitosano-Ag tiende a disminuir sus valores de equilibrio de hinchamiento.

Las nanopartículas también demostraron una actividad antibacteriana relativamente alta contra bacterias *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con la de quitosano y la actividad antibacteriana se incremento con el aumento de nanopartículas en la concentración. Los resultados obtenidos revelaron que las

nanopartículas preparadas podrían ser adaptadas y utilizadas en diversas aplicaciones biomédicas.

2.1.1.2 Propiedades protónicas conductoras de membranas nanocompuestas de quitosano, Veeresh T. Magalad, Seema S. Pattanashetti, Gavisiddappa S. Gokavi, Mallikarjuna N. Nadagoudac, Tejraj M. Aminabhavi, Chemical Engineering Journal 189-190 (2012) 1-4.

^[13] Las membranas nanocompuestas de quitosano preparadas en nuestro anterior trabajo mediante la incorporación de diferentes concentraciones de Preyssler tipo heteropoliácido, nanopartículas $H_{14} [NaP_5W_{30}O_{110}] (H_{14}-P_5)$ han sido caracterizadas por espectroscopía de infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR), termogravimetría (TGA) y análisis térmico mecánico dinámico (DMTA). Los datos de conductividad protónica de estas membranas medidas a diferentes temperaturas han mostrado una mejora sistemática de la conductividad sobre la naciente de la membrana de quitosano. Asimismo la conductividad se ve influenciada por el contenido de agua de la matriz del polímero, debido al aumento en la movilidad de los iones en la fase acuosa. Sin embargo, en el caso de los presentes NCMs, el incremento adicional de la conductividad de protones es debido a la presencia de nanopartículas de HPA que actúan como centros de conductividad protónica. Valores de los parámetros de activación de Arrhenius resultantes han sido discutidos en términos de conducción de los mecanismos transporte.

Para entender mejor la influencia de la temperatura en la conductividad protónica, los gráficos de Arrhenius se construyeron teniendo el logaritmo de la conductividad frente a $1/T$, siguiendo la siguiente ecuación:

$$\sigma = \sigma_0 e^{-(E_a/RT)}$$

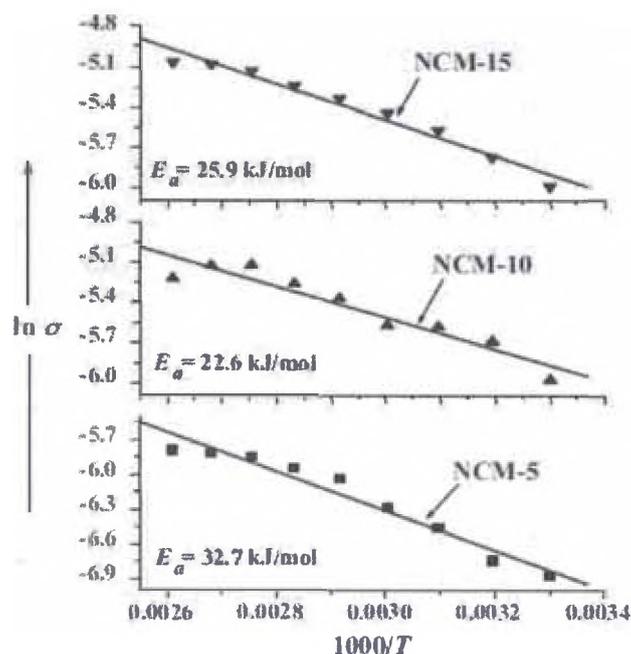


Figura 2.1 Gráfico de Arrhenius de la conductividad protónica frente a la temperatura.

2.1.1.3 Nanofibras basadas en quitosano, revisión; Maher Z. Elsabee, Hala F. Naguib, Rania Elsayed Morsi; Materials Science and Engineering C 32 (2012) 1711–1726.

[14] El quitosano fue tratado por electrospun en varios sistemas de disolventes a través de una amplia gama de concentraciones, sin embargo, no se obtuvieron fibras ultrafinas incluso a las concentraciones en las que las cadenas de quitosano eran ampliamente enredadas. Por lo tanto, el trabajo se dirige a obtener la matriz de nanofibras de quitosano desde la forma neutral no iónica de la quitina a través de la desacetilación por electrospun de la matriz de quitina. Las nanofibras de quitina se regeneraron en nanofibras de quitosano a través de desacetilación heterogénea utilizando 40% en peso de NaOH a una alta temperatura (100 °C), el grado de desacetilación aumento rápidamente hasta 85% dentro de 2 h. Este resultado indica que la quitina en la forma de nanofibra desacetilada es mucho más rápida que en la forma de polvo habitual bajo estas condiciones. La transformación estructural de la quitina a quitosano fue confirmada por FTIR y WXRD. Micrografías SEM y las correspondientes distribuciones de diámetro de quitina y quitina desacetilada, quitosano, nanofibras (Figura 2.2) no mostraron cambios significativos en la morfología.

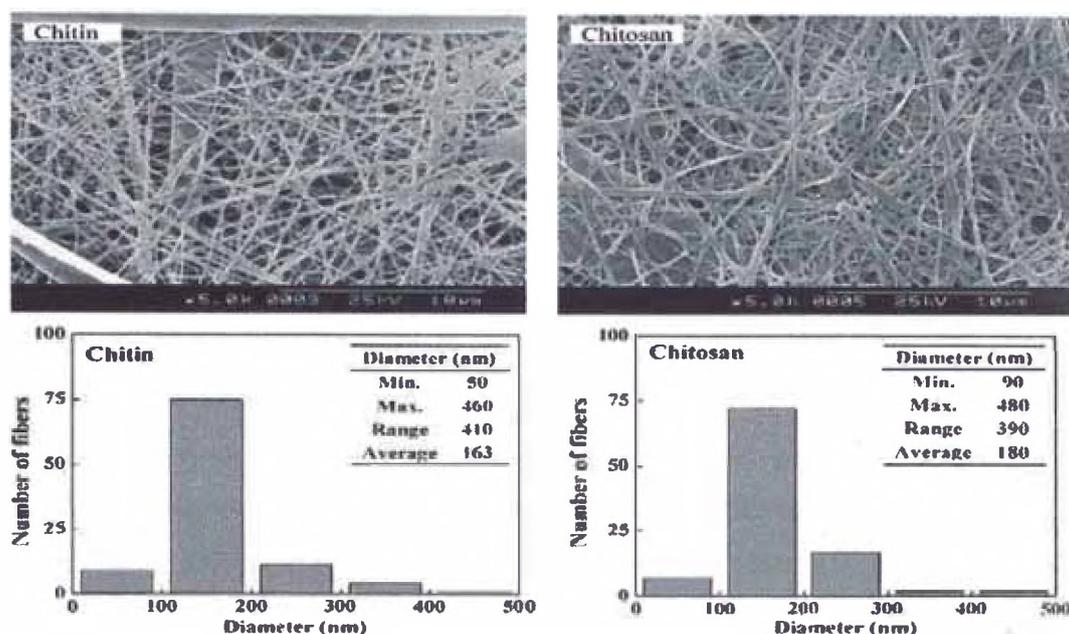


Figura 2.2 Micrografías SEM de quitina y quitina desacetilada (quitosano) matriz de nanofibras, antes y después de la reacción de desacetilación de 150 min a 100 ° C.

En otro estudio, nanofibras de quitosano fueron trabajadas por electrospun a partir de una solución acuosa de quitosano utilizando solución de ácido acético concentrado como disolvente. A la concentración de ácido acético de 30% o más, varias nanofibras finas de alrededor de 40 nm de diámetro promedio fueron producidas inicialmente junto con las perlas grandes y a la concentración de 90% de ácido el diámetro de las fibras se incrementó a 130 nm sin formación de perlas. Una alfombra uniforme de nanofibras de diámetro promedio de fibra de 130 nm fue obtenida por electrospun en solución 7% de quitosano en ácido acético acuoso al 90% dentro de un campo eléctrico 4 kV/cm. Uno de los resultados más interesantes de estos estudios es que la concentración de ácido acético en agua influencio fuertemente la tensión superficial de las soluciones de quitosano, lo que fue notablemente importante dentro del quitosano por electrospinning. Como la concentración de ácido acético aumentó de 10% a 90%, la tensión superficial disminuyó de 54,6 dinas/cm a 31,5 dinas/cm sin cambio significativo de la viscosidad. La densidad de carga neta de la solución de quitosano también aumentó con el aumento de la concentración de ácido acético en agua dando como resultado más iones cargados disponibles para la repulsión de la carga.

2.1.2 Biomedicina

[6,15] Esta revisión describe los nuevos avances del quitosano basados en bioaplicaciones. En la última década, la investigación de biomateriales funcionales ha desarrollado nuevos sistemas de liberación de fármacos mejorados y armazones mejorados para la medicina regenerativa que es actualmente uno de los campos de más rápido crecimiento en las ciencias de la vida. El objetivo es restablecer o reemplazar partes dañadas del cuerpo u órganos perdidos mediante el trasplante de armazones de apoyo con las células adecuadas que en combinación con las biomoléculas generan un nuevo tejido. Este es un campo altamente interdisciplinario que abarca la síntesis de polímeros y su modificación, cultivo celular, la terapia génica, la investigación con células madre, la clonación terapéutica y la ingeniería de tejidos.

En ese sentido, el quitosano, como un compuesto derivado biopolimérico macromolecular, tiene una implicación importante. El quitosano es un polielectrolito con grupos funcionales reactivos, capacidad de formación de gel, alta capacidad de adsorción y la biodegradabilidad. Además, es innatamente biocompatible y no tóxico para los tejidos vivos, así como tener actividad antibacteriana, antifúngica y antitumoral. Estas características destacan la idoneidad y extensas aplicaciones que tiene el quitosano en la medicina. Micro/nanopartículas e hidrogeles se utilizan ampliamente en el diseño de quitosano basados sistemas terapéuticos. La estructura química y propiedades biológicas relevantes del quitosano para la medicina regenerativa se han resumido así como los métodos para la preparación de dispositivos de liberación de fármacos controlados y sus aplicaciones.

A continuación revisaremos investigaciones actuales sobre el quitosano en el campo de la Biomedicina.

2.1.2.1 Características de liberación de vitamina E incorporada en microesferas de quitosano y la evaluación *in vitro* - *in vivo* para la aplicación tópica, E. Yenilmez, E. Basaran, Y. Yazan, Carbohydrate Polymers 84 (2011) 807-811.

[16] La vitamina E (VE) se conoce que es un antioxidante natural al eliminar los radicales libres y lleva a un efecto de antienvjecimiento. El quitosano (CS), un biopolímero excelente obtenible a partir de fuentes renovables, ha sido de gran interés como nuevo material funcional de gran potencial en diversos campos. El uso de VE en los productos cosméticos es limitado debido a su baja estabilidad. En este estudio, el objetivo es resolver el problema de la estabilidad, la VE fue exitosamente incorporada en microesferas de CS. La caracterización de las partículas y los estudios de liberación *in vitro* se realizaron detalladamente. Resultados de los análisis *in vivo* mostraron que la formulación VE preparada mejoro la humedad y elasticidad de la piel mientras que disminuye el volumen de arrugas lo que significa que microesferas de CS que contienen VE es un candidato prometedor como un producto de antienvjecimiento.

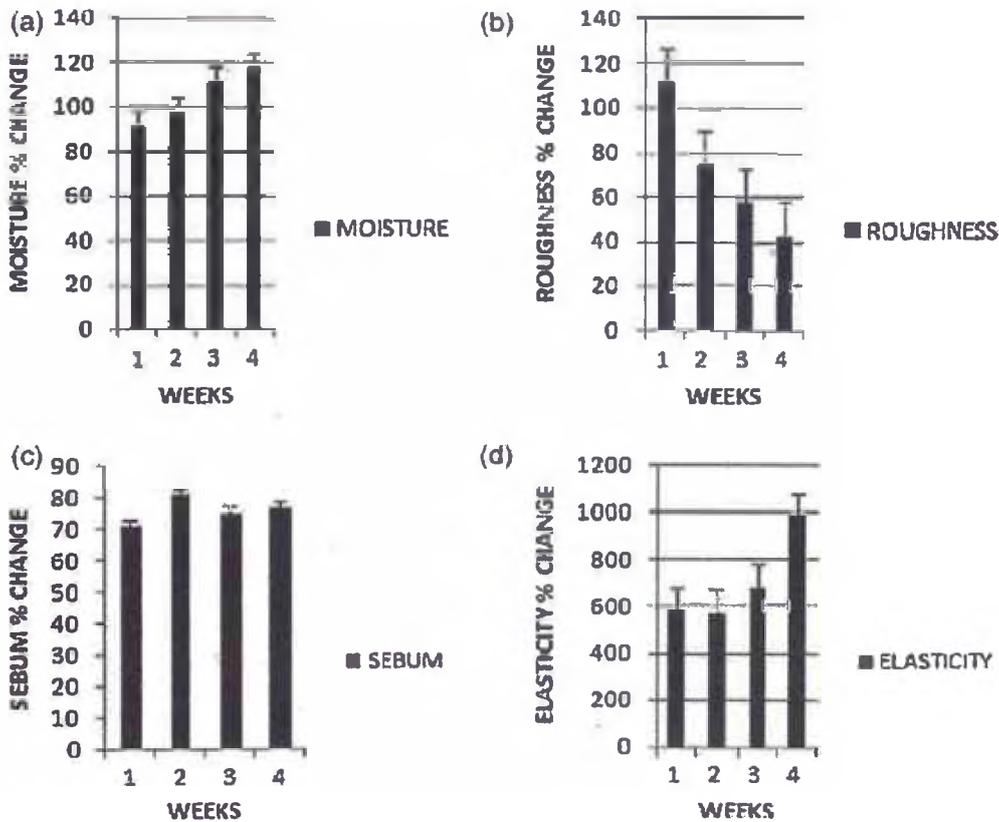


Figura 2.3 Cambios en parámetros de la piel: a) Humedad de la piel, b) Arrugas en la piel, c) Grasa de la piel y d) Elasticidad de la piel.

2.1.2.2 Propiedad antifúngica del quitosano cuaternizado y sus derivados, Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Somsak Saesoo, Chitchamai Ovatlarnporn. International Journal of Biological Macromolecules 50 (2012) 263-269.

[17] Cinco derivados acuosos de quitosano se llevaron a cabo ya sea por cuaternización del cloruro de yodometano N-(3 -cloro-2-hidroxipropil) trimetilamonio (Quat188) como un agente de cuaternización en condiciones básicas. El grado de cuaternización (DQ) varió entre el $28 \pm 2\%$ y $90 \pm 2\%$.

La actividad antifúngica se evaluó utilizando el método de difusión en disco, la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínimo fungicida (MFC) para métodos contra: *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*), *Trichophyton mentagrophyte* (*T. mentagrophyte*) y *Microsporum gypseum* (*M. gypseum*) a pH 7.2. Todos los quitosanos cuaternizados y sus derivados mostraron mayor eficacia contra el *T. rubrum* que contra *M. gypseum* y *T. mentagrophyte*. Los valores de MIC y MFC se encontraron que oscilan entre 125-1000 $\mu\text{g/mL}$ y 500-4000 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente contra todos los hongos. Nuestros resultados indican que el cloruro de quitosano cuaternizado N-(4-N, N-dimetilaminocinnamyl) mostró la mayor actividad antifúngica contra el *T. rubrum* y *M. gypseum* en comparación con otros derivados cuaternizados de quitosano. La actividad antifúngica tiende a aumentar con un aumento en peso molecular, grado de cuaternización y resto hidrófobo contra el *T. rubrum*. Sin embargo, la actividad antifúngica estuvo dependiendo del tipo de hongo, así como de la estructura química de los derivados cuaternizado del quitosano.

Tabla 2.1 Actividad antifúngica del Quitosano cuaternizado y sus derivados

Compound	M _w (kDa)	DQ _T (%)	<i>T. rubrum</i>		<i>T. mentagrophyte</i>		<i>M. gypseum</i>	
			MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MFC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MFC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MFC ($\mu\text{g/mL}$)
Ch	276	-	-	-	-	-	-	-
1a	204	28 ± 2	250	1000	500	2000	500	2000
1b	78	28 ± 2	250	1000	500	2000	500	2000
1c	120	64 ± 2	250	1000	1000	4000	500	2000
1d	55	64 ± 2	500	1000	1000	4000	500	2000
2	70	90 ± 2	250	1000	500	2000	250	1000
3	63	78 ± 2	500	1000	1000	4000	1000	2000
4a	92	65 ± 2	250	1000	1000	4000	500	2000
4b	40	82 ± 2	125	500	1000	4000	250	1000
5	48	46 ± 2	500	1000	1000	2000	500	1000
QZ	-	-	0.97	7.8	7.8	31.3	7.8	15.6

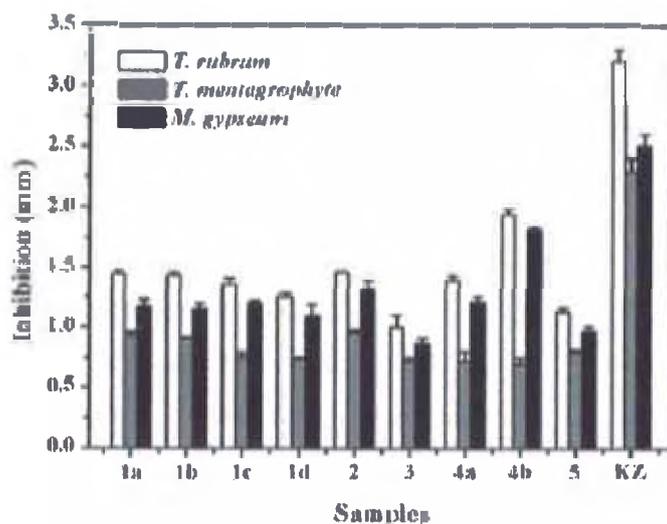


Figura 2.4 Actividad antifúngica del quitosano y sus derivados cuaternizados utilizando el método del disco.

2.1.2.3 El quitosano mejora la eficiencia de transfección de complejos polipéptidos catiónicos/ADN, Praneet Opanasopit, Jintana Tragulpakseerojn, Auayporn Apirakaramwong, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, International Journal of Pharmaceutics 410 (2011) 161–168.

[18] El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de los polipéptidos catiónicos mezclados con quitosano (CS) sobre la eficiencia de transfección in vitro y la citotoxicidad en células carcinoma humanas (células HeLa). Los complejos polipéptidos / ADN y los complejos ternarios (CS, polipéptidos y ADN) se formularon variando sus proporciones en peso y se caracterizaron usando electroforesis en gel. Sus tamaños de partículas y de carga fueron evaluados. El efecto del tipo y peso molecular (MW) de los polipéptidos, la relación en peso, el orden de mezclado, el pH y la eficiencia de transfección y citotoxicidad fueron evaluadas en células HeLa. Tres tipos de polipéptidos (poli-L-lisina; PLL, poli-L-arginina; PLA y poli-L-ornitina; PLO) fueron capaces de formar complejos completos con el ADN en una relación en peso por encima de 0.1. El PLA MW > 70 kDa mostró la mayor eficiencia transfección. El orden de mezclado entre CS, PLA y ADN afecta la eficiencia de transfección. La mayor eficiencia de transfección se observó en complejos ternarios de PLA / ADN / CS (2:1:4) igual para complejos PEI / ADN.

Para los estudios de citotoxicidad, más del 80% de las viabilidades celulares promedio de los complejos fueron observadas por el ensayo MTT. Este estudio sugiere que la adición de CS sobre PLA / ADN es fácil de preparar, seguro y exhibe mejora significativamente en la entrega potencial de ADN in vitro.

2.1.2.4 Un nuevo nanocompuesto ternario NiFe₂O₄/CuO/FeO - quitosano como un biosensor colesterol., Jay Singh, Manish Srivastava, Prasanta Kalita, Bansi D. Malhotra, Process Biochemistry (2010), doi: 10.1016.

^[19] Se presentan los resultados de los estudios relativos a la síntesis in situ de un nuevo nanocompuesto ternario NiFe₂O₄/CuO/FeO - quitosano, que podría ser utilizado como un biosensor de colesterol. La identificación de fase, la morfología y tamaño de partícula del nanocompuesto NiFe₂O₄/CuO/FeO se han investigado a través de un patrón de difracción de rayos X (XRD), microscopía de barrido electrónico (SEM), microscopía de alta resolución de transmisión electrónica (HR-TEM) y espectroscopia infrarroja con transformada Fourier (FTIR). La cuantificación del colesterol se llevó a cabo mediante la inmovilización del colesterol oxidasa (ChO_x) sobre un nanocompuesto de quitosano- NiFe₂O₄/CuO/FeO (NiFe₂O₄/CuO/FeO -CH NC) depositado sobre un cristal indio-estaño-óxido (ITO) a través de la técnica de sol-gel. Los resultados de los estudios electroquímicos de la biocompatibilidad del electrodo ChO_x/NiFe₂O₄/CuO/FeO-CH/ITO revelan una buena linealidad (50 a 5000 mg/L), un bajo límite de detección (313 mg/L), alta sensibilidad (0,043 $\mu\text{A}/(\text{mg/L cm}^{-2})$), un tiempo de respuesta rápido (10 s) y una vida útil de 3 meses. La baja constante de Michaelis-Menten (K_m) de 80 mg/L (0.21 mM) indica la alta afinidad de ChO_x para los analitos. Además, este bioelectródo se ha utilizado en aplicaciones clínicas para estimar los niveles de colesterol con interferencia insignificante (2%) de analitos presentes en muestras de suero humano.

2.1.3 Tratamiento de aguas

[5,8,7] Los metales pesados son una de las categorías importantes de contaminantes del agua, los cuales son tóxicos para los seres humanos a través de la pirámide de la cadena alimentaria (Pontius, 1990). Los iones de metales pesados existen en las aguas residuales de diversas industrias, tales como: metalurgia, minería, fabricación de baterías y curtiduría, esto plantea graves riesgos para el suelo y contaminación del agua subterránea y el agua superficial que conduce a los efectos graves en la salud de humanos y animales (Nasef y Yahya, 2009). Las aguas subterráneas y algo de agua de las zonas de fondo anóxico de depósitos a menudo contienen iones de hierro y manganeso o sus complejos con materia orgánica. (Zaw y Chiswell, 1999).

Por ejemplo un gran número de derivados de quitosano se han obtenido por reticulación con glutaraldehído o epíclorhidrina entre otros o por injerto de nuevos grupos funcionales en el quitosano como columna vertebral con el fin de adsorber Hg(II) protonados.

Entonces, la eliminación de metales tóxicos a través del proceso de adsorción sirve para propósitos ambientales, la recuperación de metales por separación en procesos de hidrometalurgia, y en métodos analíticos para una pre-concentración antes de usar análisis espectroscópicos.

A continuación haremos un repaso de algunas investigaciones actuales sobre el tema:

2.1.3.1 Caracterización de membranas de quitosano/montmorillonita como adsorbentes para el colorante Orange Bezactiv V-3R, Aleksandra R. Nesica, Sava J. Velickovicb, Dusan G. Antonovicb, Journal of Hazardous Materials 209-210 (2012) 256-263.

[10] En este trabajo fueron investigadas la síntesis, caracterización y aplicación ambiental de las membranas del quitosano/montmorillonita para la adsorción Bezactiv Orange V-3R. Las membranas del quitosano/montmorillonita fueron sintetizadas en diferentes proporciones, que va del 10-50% de montmorillonita (MMT) en la membrana. Estas membranas se caracterizaron el FTIR, TG y la SEM. La cinética de adsorción se

investigo utilizando tres diferentes concentraciones del colorante Bezactiv Orange (30, 50 y 80 mg/L). La capacidad de adsorción aumenta con una cantidad cada vez mayor de MMT en las membranas. Estas membranas muestran la mayor capacidad de adsorción cuando la concentración de colorante inicial fue de 80 mg/L. Los resultados muestran que la condición óptima para la adsorción de Bezactiv Orange es pH 6.

Una comparación de los modelos cinéticos se evaluó para la pseudo-primer y pseudo-segundo orden y la difusión intra-partículas. Los datos experimentales se ajustaron al pseudo segundo modelo de cinética de orden, y también seguido por la difusión intra-partículas. Las isothermas de adsorción de Langmuir y Freundlich se aplicaron a datos experimentales de equilibrio en diferentes concentraciones de la solución de colorante. Los resultados indicaron la competencia de membranas de quitosano/MMT adsorbentes para la adsorción Bezactiv Orange.

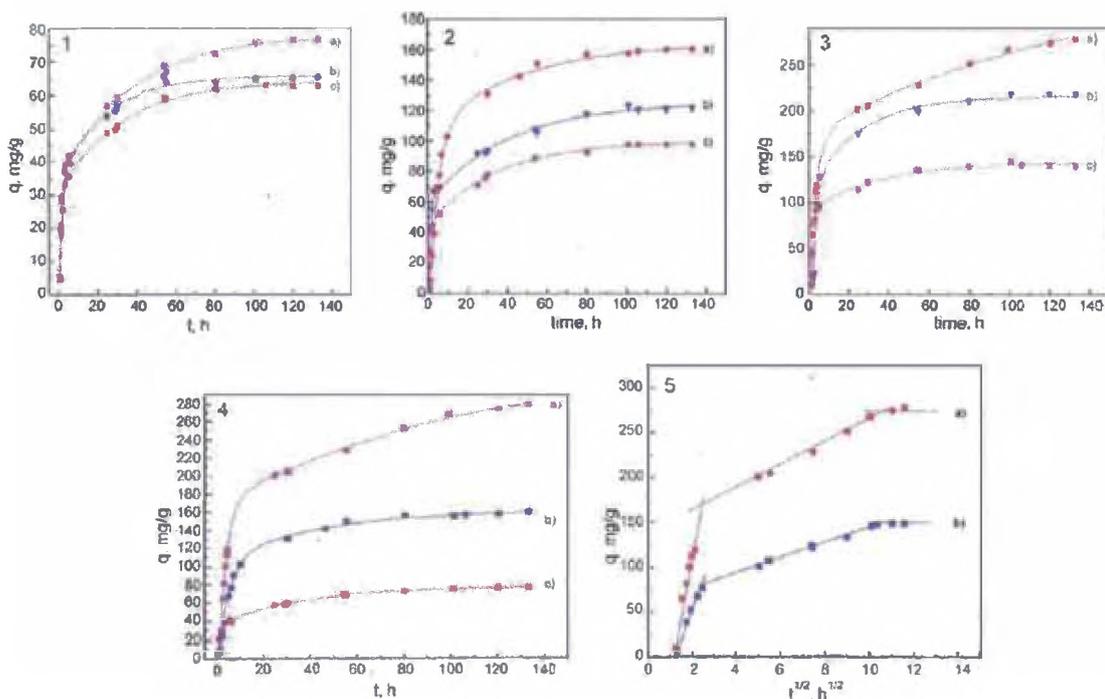


Figura 2.5 Cinética de adsorción de Bezactiv Orange en membranas quitosano/MMT con contenido de MMT en la membrana: a) 40%, b) 30%, y c) 10%. Condiciones iniciales: concentración de colorante: 6.1 30 mg/L, 6.2 50 mg/L, 6.3 80 mg/L; 6.4 cinética de adsorción de Bezactiv Orange en membranas de quitosano/MMT con contenido de MMT en membrana de 40%, y concentración del colorante azo: a) 80 mg/L, b) 50 mg/L, y c) 30 mg/L; 6.5 modelo de difusión intra-partículas de membranas de quitosano/MMT con contenido de MMT 40% a diferentes concentraciones de colorante: a) 80 mg/L y b) 50 mg/L. pH 6, el peso de adsorbente en un rango de 12-18 mg.

2.1.3.2 Remoción adsortiva de iones hierro y manganeso desde soluciones acuosas con membranas microporosas mezcla de quitosano/polietilenglicol, Neama A. Reiad, Omar E. Abdel Salam, Ehab F. Abadir, Farid A. Harraz, Journal of Environmental Sciences 2012, 24(8) 1425–1432.

[20] Las membranas de quitosano microporoso (CS) se prepararon directamente por extracción de poli(etilenglicol) (PEG) a partir de la mezcla de las membranas CS/PEG y fueron estudiadas para la eliminación de iones hierro y manganeso en soluciones acuosas. Las diferentes variables que afectan la capacidad de adsorción de las membranas, tales como tiempo de contacto, pH del medio de adsorción, y la concentración inicial de iones metálicos en la solución de alimentación se investigaron como un grupo de adsorción base.

La afinidad de mezcla de membranas CS/PEG para adsorber iones Fe(II) es mayor que la de iones Mn(II), con el equilibrio de adsorción logrado después de 60 min para los iones Fe(II) y Mn(II). Al aumentar la proporción en la mezcla de la membrana CS/PEG la capacidad de adsorción de iones metálicos aumentó. Entre todos los parámetros, el pH tiene el efecto más significativo sobre la capacidad de adsorción, en particular en el rango de 2.9-5.9. El aumento de la relación CS/PEG se realizó para aumentar la capacidad de adsorción de las membranas. Los efectos de la concentración inicial de iones metálicos en la medida de remoción de los iones metálicos se han investigado en detalle. Los datos experimentales se ajustaron mejor a la ecuación de Freundlich que a la de Langmuir. Además, se encontró que los iones hierro y manganeso adsorbidos en las membranas puede ser desorbidos efectivamente en 0.1 mol/L de solución de HCl (hasta un 98% de eficiencia de desorción) y la mezcla de membranas se pueden reutilizar casi sin pérdida de la capacidad de adsorción de iones hierro y manganeso.

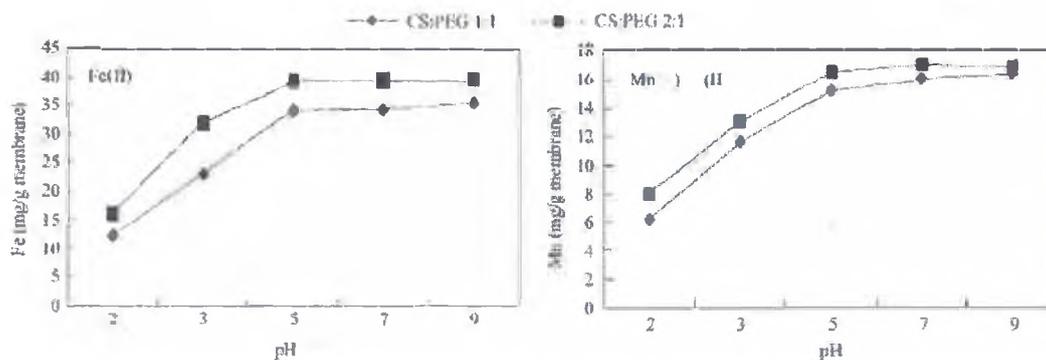


Figura 2.6 Efecto del pH sobre la eliminación de Mn (II) y Fe (II) usando membranas CSB con diferente proporción CS:PEG. Condiciones de adsorción: concentración inicial de 2.0 mg/L; volumen medio de sorción 250 ml, tasa de agitación de 300 r/min, temperatura 27°C, tiempo de contacto de 60 min.

2.1.3.3 Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo para su aplicación en la adsorción de aniones metálicos. Abel E. Navarro, Ángela Manrique, Ernesto Iparraguirre, Carlos Díaz, Christian Jacinto, Norma Cuizano, Bertha P. Llanos. Rev. Soc. Química Perú. 76 (4) 2010.

[21] La adsorción de aniones metálicos siempre ha constituido un problema en biosorción, debido a la escasez de adsorbentes cargados positivamente que permitan una adecuada interacción. La presente investigación tiene como objetivo presentar una nueva versión de adsorbentes mediante la modificación química de quitosano. Se han combinado dos reacciones para este fin: la cuaternarización mediante reacción con glicidiltrimetilamonio (QC1) y la cuaternarización acoplada a la reticulación con glutaraldehído (QC2). Se caracterizaron ambos adsorbentes mediante técnicas espectroscópicas, análisis termogravimétrico, superficie específica, microscopía de barrido electrónico y conductometría. La presente investigación fue completada con la evaluación de estos adsorbentes para la adsorción de iones oro y cromo. Los resultados son muy prometedores, sobre todo con oro (AuCl_4^{-1}), alcanzando una capacidad de adsorción de 45 mg de Au/g de adsorbente. El uso de estos adsorbentes constituyen una promesa en el área de la biosorción para la remoción de aniones de interés industrial y ambiental.

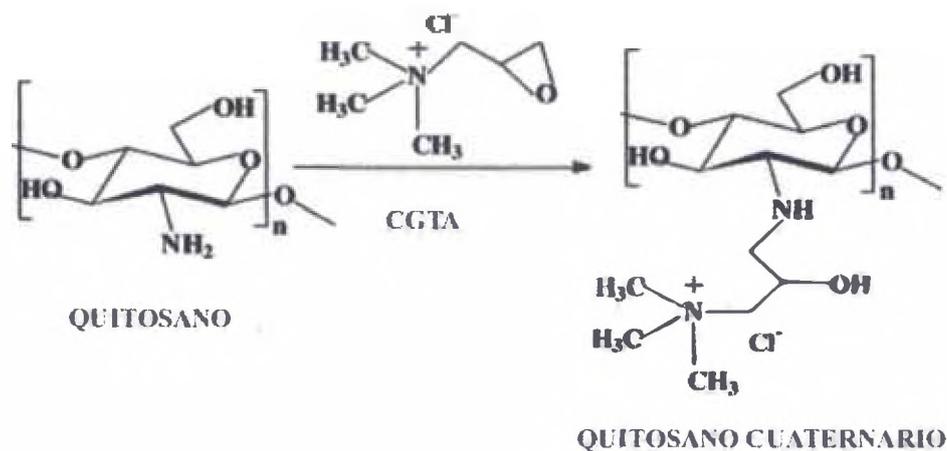


Figura 2.7 Esquema de la reacción para la formación de quitosano cuaternario (QC1)

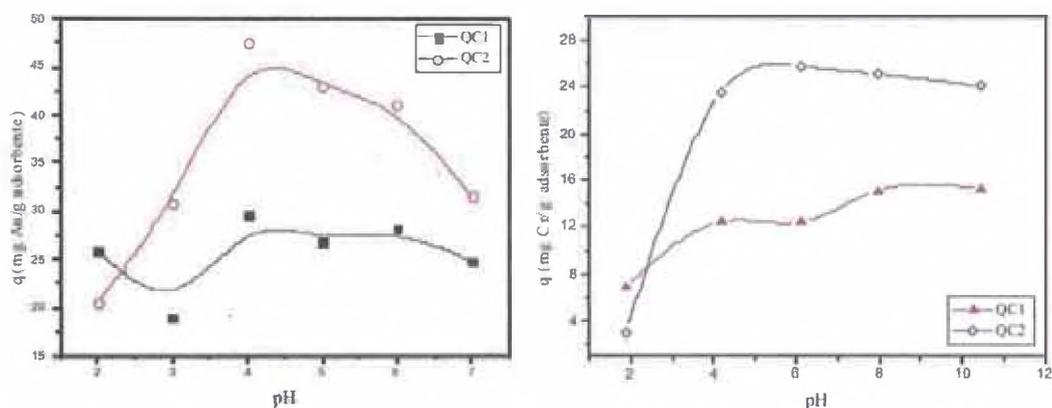


Figura 2.8 Efecto del pH en la adsorción de iones AuCl_4^{-1} (izquierda) y iones $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ (derecha) mediante QC1 y QC2.

2.1.3.4 Las membranas de quitosano como adsorbentes para la determinación de elementos traza en aguas superficiales, Elisaveta K. Mladenova & Ivanka Grigorova Dakova & Irina B. Karadjova. *Environ Sci Pollut Res* (2011) 18:1633–1643.

[22] Las membranas de quitosano (no reticulado, reticulado y modificado con L-cisteína) se evaluaron como adsorbentes previos para la espectrometría de absorción atómica electrotrémico (ETAAS) en la determinación del contenido total de metal disuelto en muestras de agua de superficie. Diferentes membranas de quitosano fueron preparados con diferentes tipos de métodos en presencia o en ausencia de L-cisteína. Los parámetros químicos para la adsorción / desorción cuantitativa de trazas analitos fueron optimizados.

El pH óptimo para la adsorción de Cd(II), Cu(II), Ni(II) y Pb(II) usando una membrana modificada de L-cisteína está entre 7 y 8.5 y coincide con el pH del agua superficial, permitiendo la pre-concentración de los analitos in situ sin tratamientos previos adicionales a las muestras de agua. La membrana de quitosano no reticulado podría ser utilizada para muestreo simultáneo, transporte y determinación en laboratorio de Hg(II). Los límites de determinación (calculado como 10σ) conseguidos con metales totales disueltos son: Cd 0.001 $\mu\text{g/L}$, Cu 0.02 $\mu\text{g/L}$, Ni y Pb 0.05 $\mu\text{g/L}$ y el nivel de las desviaciones relativas fueron 10-15% para todos los elementos a nivel de concentración 0.05-2 $\mu\text{g/L}$. El límite de determinación para obtener Hg(II) fue 0.012 $\mu\text{g/L}$ y las desviaciones estándar relativas a niveles de concentración 0.015-2 $\mu\text{g/L}$ se encontraban dentro de un 9% y 15%.

La membrana de quitosano no reticulada fue propuesta como un adsorbente eficaz de preconcentraciones de Hg(II) y su determinación en aguas de río y lago. Las membranas de quitosano modificado con L-cisteína se recomiendan para la extracción de la fase sólida de Cd(II), Cu(II), Ni(II) y Pb(II) en aguas superficiales (lagos, ríos y mar). La aplicación de las membranas de quitosano como adsorbentes para la preconcentración in situ de analitos y su posterior determinación por CVAAS y ETAAS en muestras de agua ha sido demostrada.

2.1.4 Agricultura y Alimentos

[^{23,24}] La capacidad del quitosano para inhibir el desarrollo de patógenos microbianos, se discute en términos de protección de cultivo y conservación de alimentos.

El Quitosano ha sido aprobado como un aditivo alimentario en Japón desde 1983. El quitosano se aplica sobre todo como un aditivo alimentario o un conservante, y como un componente de material de envasado, no sólo para retardar el crecimiento microbiano en los alimentos, también para mejorar la calidad y el tiempo de conservación de los alimentos (Giatrakou y Savvaidis, 2012).

El extraordinario interés del quitosano en la agricultura, la horticultura, ciencias del medio ambiente, la industria y la microbiología se atestigua por más de 17,000 documentos sobre este tema, de acuerdo con la base de datos Scopus a principios de 2011. De hecho, el quitosano tiene un efecto directo sobre la morfología del microorganismo tratado que refleja su fungistático o fungicida potencial. Además de su

actividad antimicrobiana directa, otros estudios indican que el quitosano induce una serie de reacciones de defensa en la planta destinado a aumentar la producción de glucanohidrolasas, compuestos fenólicos y la síntesis de específica fitoalexinas con actividad antifúngica, sino que además reduce la maceración de enzimas tales como metilesterasa, poligalacturonasas y pectina. Además, el quitosano induce barreras estructurales, por ejemplo, la inducción de la síntesis de lignina. Debido a su capacidad de formar un recubrimiento semipermeable, el quitosano extiende la vida útil de las frutas y hortalizas tratadas ya que minimiza la tasa de respiración y reduce la pérdida de agua. Como material biodegradable no es tóxico.

El uso del quitosano en actividades agrícolas es mucho más reciente pero, a pesar de ello, puede considerarse hoy en día abundante y en aumento. La Tabla 2.2 muestra algunas de las aplicaciones que se han ensayado para este biopolímero en actividades relacionadas con la agricultura.

Tabla 2.2 Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en actividades relacionadas con la agricultura.

Uso	Biopolímero	Propiedades aprovechadas	Referencias	Cultivo
Películas para recubrimiento de frutos, hojas, semillas y vegetales frescos	Quitosano	Antimicrobiana	Galed <i>et al.</i> , (2004), Srinivasa <i>et al.</i> , (2004), Ratanachinikom <i>et al.</i> , (2005) Hewajulige <i>et al.</i> , (2007), Devlieghere <i>et al.</i> , (2004)	Cítricos, mango, toronja, lechosa (papaya), fresa, tomate
Clarificación de jugos de fruta	Quitosano	Coagulante-Floculante	Chatterjee <i>et al.</i> , (2004), Boguslawski <i>et al.</i> , (1990), Root y Johnson, (1978), Hongfei y Hasbeng, (2003)	Pera, toronja, limón, manzana
Protección de plántulas	Quitosano	Fungicida	Barka <i>et al.</i> , (2004); Lafontaine y Benhamou, (1996)	Uva de vino, tomate
Liberación controlada de agroquímicos	Quitina y quitosano	Formación de hidrogeles, labilidad de derivados	Mc Connick <i>et al.</i> , (1982), Teixeira <i>et al.</i> , (1990), Hirano, (1978), Palma <i>et al.</i> , (2005)	Arándano
Estimulación del crecimiento	Quitosano	Bioestimulante	Nge <i>et al.</i> , (2006)	Orquídeas
Inhibidor del oscurecimiento de frutos y tubérculos	Quitosano	Biocida	Waliszewski <i>et al.</i> , (2002)	Banana, papa
Biocidas	Quitosano	Antimicrobiana	Liu <i>et al.</i> , (2007), Hadwiger y McBride, (2006), Baumsta-Baños <i>et al.</i> , (2006)	Tomate, papa, hortalizas
Corrección de sustratos de crecimiento	Quitina y quitosano	Fungicida, nematocida	Sneh y Henis, (1972), Abd-El-Kareem, (2002), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2002), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2004), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2006)	Lupino blanco (altramuz), guisante, tomate, papa, apto
Inductor de mecanismos de defensa	Oligómeros de quitina y quitosano	Inductor de resistencia	Khan <i>et al.</i> , (2003)	Soya

2.1.4.1 Quitosanos conjugados covalentemente a los esteroides con actividad agroquímica, Javier Pérez Quiñones, Richard Szopko, Claudia Schmidt, Carlos Peniche Covas. Carbohydrate Polymers 84 (2011) 858–864.

[25] El quitosano (CS) se vincula con monoésteres de diosgenina con potencial de actividad agroquímica empleado en varios métodos (es decir, síntesis en fase sólida asistida por microondas con activación carbodiimidada, método de cloruro de acilo y reacción homogénea con la activación de carbodiimidada en solución acuosa).

El contenido de esteroides encontrados por análisis elemental estaba entre 5 y 33% (w/w) y era dependiente de la naturaleza del enlace empleado y del método de preparación de los esteroides CS-conjugados. La vinculación se confirmó por espectroscopia IR. Estudios diferenciales de barrido calorimétrico se presentan. Los estudios de liberación in vitro llevados a cabo en agua a diferente pH indican una dependencia de la liberación del fármaco en el ácido dicarboxílico empleado como enlazador, el contenido de esteroides y la acidez de la solución. Los conjugados obtenidos pueden ser aplicados como películas, microesferas o geles para la entrega de los reguladores del crecimiento de plantas en la agricultura.

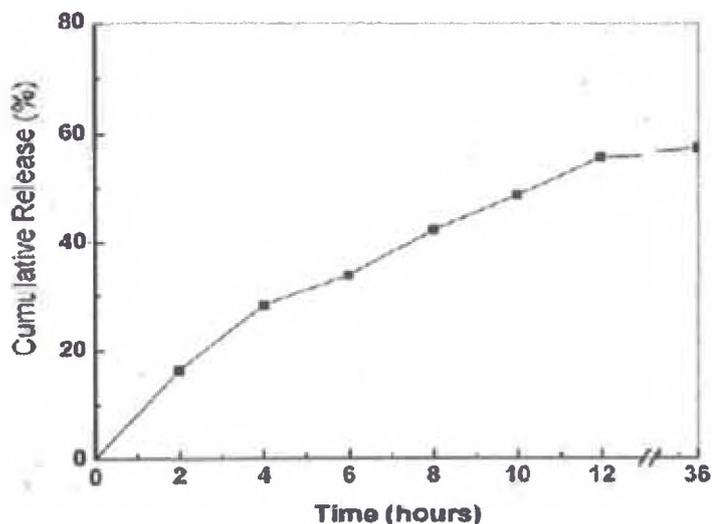


Figura 2.9 Perfil de liberación in vitro a 30°C de la diosgenina monosuccinato unida con quitosano en solución tampón (pH = 6,0)

2.1.4.2 El uso de quitosano - Los recubrimientos comestibles en combinación con otros compuestos naturales, para el control de *Rhizopus stolonifer* y *Escherichia coli* DH5 α en los tomates frescos, Margarita Ramos-García, Elsa Bosquez-Molina, Jesús Hernández-Romano, Guadalupe Zavala-Padilla, Eduardo Terrés-Rojas, Irán Alía-Tejacal, Laura Barrera-Necha, Mónica Hernández-López, Silvia Bautista-Baños, Crop Protection 38 (2012) 1-6.

[26] Durante el almacenamiento de los tomates, el *Rhizopus stolonifer* se propaga rápidamente hacia las frutas adyacentes causando severas pérdidas económicas mientras que la *Escherichia coli* puede causar graves enfermedades e incluso amenazar la vida. Los materiales de quitosano pueden ser usados como películas comestibles o recubrimientos para evitar la pérdida de agua y el deterioro microbiano. Ceras y aceites esenciales también pueden ser considerados para su uso como agentes antimicrobianos en el recubrimiento de quitosano.

En este estudio, diversas formulaciones a base de quitosano (1%) mezclada con cera de abejas (0.1%), ácido oleico (1.0%), y aceite esencial de tomillo o lima (0.1%) se ensayaron en el tomate en tres diferentes estados de madurez para controlar *R. stolonifer* y el *E. coli* DH5 α a temperaturas de almacenamiento de 12°C y 25°C. Los frutos de control se sumergieron en agua solamente. En general, las frutas fueron cortadas, recubiertas e inoculadas. El contenido aplicado fue, 20 μ L de esporas *R. stolonifer* en suspensión con concentración de 10^5 esporas por mL^{-1} y 35 μ L de solución bacteriana de *E. coli* DH5 α , a una concentración 10^5 ufc μL^{-1} , se dispersaron sobre la superficie de la herida. Los experimentos se llevaron a cabo in vitro, a pequeña escala y a nivel semi comercial. En general, el efecto de protección de las aplicaciones de revestimiento eran mejor contra *E. coli* DH5 α que el *R. stolonifer*. De los experimentos in vitro, los mejores recubrimientos son las de quitosano (1%) + cera de abejas (0.1%) + aceite esencial de lima (0.1%), ya que no hay crecimiento de *R. stolonifer* y *E. coli* DH5 α . Otros tipos de revestimiento que detuvieron el crecimiento de *R. stolonifer* fue el de quitosano (1%) + ácido oleico (1%) + aceite esencial de lima (0.1%), mientras que para el *E. coli* DH5 α fue el quitosano (1%) + cera de abejas (0.1%) + aceite esencial de tomillo (1%) y quitosano (1%) + cera de abejas (0.1%). La observación con

microscopio de barrido electrónico (SEM) mostraron micelios distorsionados y no hay desarrollo de esporangiosporas *R. stolonifer* y no hay crecimiento de *E. coli* DH5 α , cuando ambos microorganismos fueron cultivados en la formulación de quitosano (1%) + cera de abejas (0.1%) + aceite esencial de lima (0.1%). Para el *E. coli* DH5 α , esta misma formulación aplicada sobre tomates a una pequeña escala y a nivel semi comercial fue completamente controlada *E. coli* DH5 α de en ambas temperaturas de almacenamiento.

Tabla 2.3 Desarrollo in vitro de *Rhizopus stolonifer* en placas de Petri se incubaron durante 48 horas a 20° C que contiene PDA con diferentes recubrimientos a base de quitosano.

Recubrimientos	<i>Rhizopus stolonifer</i>	
	Crecimiento micelial ^a (mm)	Esporulación ^{a,b} (esporas ml ⁻¹)
1. Quitosano 1% + cera de abejas 0.1% + aceite esencial de lima 0.1%	0a	0a
2. Quitosano 1% + cera de abejas 0.1% + aceite esencial de tomillo 0.1%	47bc	5.4 x 10 ⁵ b
3. Quitosano 1% + ácido oleico 1% + aceite esencial de lima 0.1%	0a	0a
4. Quitosano 1% + ácido oleico 1% + aceite esencial de tomillo 0.1%	47bc	19.6 x 10 ⁵ c
5. Quitosano 1% + cera de abejas	45b	40 x 10 ⁵ d
6. Quitosano 1% + ácido oleico	50cd	50 x 10 ⁵ e
7. PDA (dextrosa agar de patata)	51d	50 x 10 ⁵ e

^a Los promedios seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (P = 0,05) determinado mediante la prueba múltiple de Tukey.

^b Los valores de P de la esporulación después de la transformación de raíz cuadrada.

Tabla 2.4 Crecimiento de *Escherichia coli* DH5 α en placas Petri conteniendo agar MacConke. y diferentes recubrimientos a base de quitosano y se incubaron durante 48 h

Coatings	<i>E. coli</i> colonies/plate
1. Chitosan 1% + beeswax 0.1% + lime essential oil 0.1%	0a ^a
2. Chitosan 1% + beeswax 0.1% + and thyme essential oil 0.1%	0a
3. Chitosan 1% + oleic acid 1% + lime essential oil 0.1%	300c
4. Chitosan 1% + oleic acid 1% + thyme essential oil 0.1%	300c
5. Chitosan 1% + beeswax	0a
6. Chitosan 1% + oleic acid	200b
7. MacConkey nutrient agar	211b

2.1.4.3 Sensor que contiene microesferas de quitosano reticulado con ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico para la determinación de Cu(II) en café instantáneo, Luciano Vitali, Iolanda Cruz Vieira, Almir Spinelli., Food Chemistry 126 (2011) 807–814.

^[8] Un nuevo electrodo de pasta de carbón que contiene microesferas de quitosano para la determinación de Cu(II) en café instantáneo por voltamperometría de redisolución anódica fue desarrollado. El quitosano fue reticulado con el agente quelante ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico y glutaraldehído. Las microesferas del biopolímero reticulado de quitosano se obtuvieron por la técnica de secado por pulverización y se emplean en la construcción del sensor. La solución de tampón de acetato (0.1 mol L^{-1} , pH 6.0), la curva de calibración obtenida fue lineal para concentraciones de 5.0×10^{-7} a $1.4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0.9990$), el límite de detección fue de $5.5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. La desviación estándar relativa ($n = 8$) fue inferior en 3.0% para las soluciones que contienen 6.0×10^{-6} , 5.0×10^{-5} y $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Cu(II).

El método fue empleado con éxito para la determinación de Cu(II) en el café instantáneo y los resultados obtenidos mostraron una buena concordancia cuando se comparan con los que usan la espectrometría de absorción atómica electrotermica.

2.1.4.4 Preparación y evaluación fisicoquímica de película ternaria de quitosano/poli(alcohol vinílico)/pectina para aplicaciones de alimentos envasados , S. Tripathi, G.K. Mehrotra, P.K. Dutta., Carbohydrate Polymers 79 (2010) 711–716.

^[27] La película ternaria de quitosano/poli(alcohol vinílico)/pectina se preparó en este estudio por el método de solución de moldeo. Para prepararlo se cogió un gramo de quitosano en polvo y se añadió en un 100 ml de 0,1 M ácido acético, la mezcla se agitó para formar un 1% en peso de solución de Quitosano. Mientras tanto, 1 g de PVA en polvo se cargó en 100 ml de agua purificada a 80 °C, mientras se agita para formar una solución de PVA al 1% claro. Entonces, las soluciones de quitosano y PVA se mezclaron juntos para formar una solución de mezcla binaria homogénea de quitosano / PVA. La pectina en polvo (1 g, 1,5 g, y 2 g) se agregó en 100 ml de agua purificada y se

agitó para formar un 1% en peso, 1,5% en peso, y 2% en peso de solución de pectina, respectivamente. Los diferentes porcentajes en peso de soluciones de quitosano / PVA y pectina fueron mezcladas homogéneamente para formar una solución ternaria. A continuación, después de 48 h, estas mezclas ternarias de quitosano/PVA/Pectina fueron burbujeadas y luego transferido a un horno de 60 ° C durante aproximadamente 24 h de secado. Después de eso, estas películas de mezclas se secaron al vacío durante 24 horas a 80 °C con el fin de eliminar los residuos de agua y ácido acético. La película ternaria preparada se caracterizo por FTIR, SEM y XRD. Los espectros IR y el cambio característico de formas se observan en un fuerte pico a 1620 cm^{-1} para los enlaces iónicos intercatenarios o intermoleculares entre los grupos aminos de quitosano y los grupos carboxilo de la pectina de la película ternaria.

El resultado XRD demuestra que la película ternaria de quitosano-poli(alcohol vinílico)-pectina es cristalino. El resultado de SEM indica que la superficie de la película ternaria de quitosano-poli(alcohol vinílico)-pectina es áspera y heterogénea. El TGA representa las pérdidas de peso a 200-300°C derivado de la película ternaria para la degradación de la molécula de quitosano. La detección microbiológica ha demostrado la actividad antimicrobiano de la película contra bacterias patógenas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, y *Candida albicans* contra la medición del diámetro de la zona transparente incluida diámetro de tiras de película, los valores de los que fueron siempre mayores que el diámetro de las tiras de película. En general, la película ternaria pasa a ser un material adecuado para aplicaciones de envasado de alimentos [31].

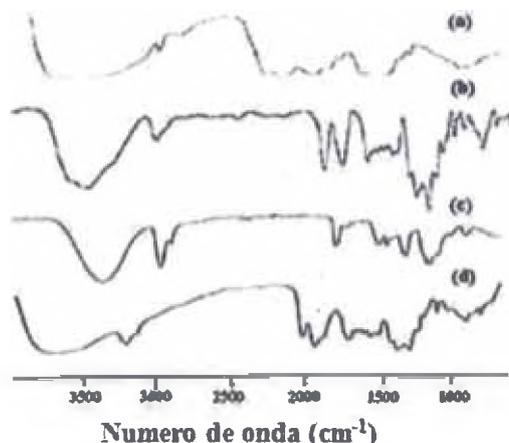


Figura 2.10 Espectros FTIR de películas (a) quitosano, (b) P3, (c) P0 y (d) P2.

CONCLUSIONES

El Quitosano tiene una amplia gama de aplicaciones, debido a que posee propiedades muy versátiles y estas se pueden emplear para resolver numerosos problemas, por lo que podemos concluir:

1. Su aplicación en Agricultura y Alimentos, es debido su capacidad antibacteriana, antifúngica y su uso como conservante.
2. Se aplica en biomedicina, debido a su biocompatibilidad y bioactividad lo cual hace que tenga efectos terapéuticos, también estabiliza y libera fármacos controladamente.
3. Su aplicación en nanomateriales, se da ya que posee una alta conductividad y adaptabilidad a diversas superficies, así como cambios conformacionales.
4. Se aplica en tratamiento de aguas ya que tiene una alta capacidad de absorción y la propiedad de poder acomplejarse, por ejemplo la alta selectividad para absorber los iones $Hg(II)$, la propiedad de enlazar grupos funcionales a su estructura, etc.

Así pues, este material puede ser un candidato muy interesante para ser usado como materia prima en los diferentes campos de la industria. El hecho de que el Quitosano se obtiene de fuentes naturales, y que sea un material ecológico de bajo costo, hace que su aplicación sea prometedora y beneficiosa para la industria.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Iason Tsigos, Aggeliki Martinou, Dimitris Kafetzopoulos and Vassilis Bouriotis. Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology, July 2000 (305-3119).
- [2] Juana M. Eloisa Becerra-Jiménez, Blanca Valdivia-Urdiales, Cristóbal N. Aguilar, José L. Martínez-Hernández, Juan C. Contreras-Esquivel y Cruz A. Cuellar Lozano. Quitosano Fúngico: Fuentes y Propiedades. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila 2011 Volumen 3, No. 5 (24-32).
- [3] C. Peniche, W. Argüelles-Monal and F.M. Goycoolea. Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications. Cap. 25 (517-542).
- [4] Majeti N.V. Ravi Kumar. A review of chitin and chitosan applications Reactive & Functional Polymers 46 (2000) 1–27.
- [5] P. Miretzky, A. Fernandez Cirelli. Hg(II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: A review Journal of Hazardous Materials 167 (2009) 10–23.
- [6] In-Yong Kim, Seog-Jin Seo, Hyun-Seuk Moon, Mi-Kyong Yoo, In-Young Park, Bom-Chol Kim, Chong-Su Cho. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications, Biotechnology Advances 26 (2008) 1–21.
- [7] Neama A. Reiad, Omar E. Abdel Sala, Ehab F. Abadir², Farid A. Harraz. Adsorptive removal of iron and manganese ions from aqueous solutions with microporous chitosan/polyethylene glycol blend membrane, Journal of Environmental Sciences 2012, 24(8) 1425–1432.
- [8] Luciano Vitali, Iolanda Cruz Vieira, Almir Spinelli. Sensor-containing microspheres of chitosan crosslinked with 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid for determination of Cu(II) in instant coffee, Food Chemistry 126 (2011) 807–814.
- [9] Peng Huang, Mingli Cao, Qi Liu. Adsorption of chitosan on chalcopyrite and galena from aqueous suspensions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 409 (2012) 167–175.

- [10] Aleksandra R. Nestic, Sava J. Velickovi, Dusan G. Antonovi. Characterization of chitosan/montmorillonite membranes as adsorbents for Bezactiv Orange V-3R dye, *Journal of Hazardous Materials* 209– 210 (2012) 256– 263.
- [11] Maher Z. Elsabee, Hala F. Naguib, Rania Elsayed Morsi. Chitosan based nanofibers, review, *Materials Science and Engineering C* 32 (2012) 1711–1726.
- [12] Fikry M. Reicha, Afaf Sarhan, Maysa I. Abdel-Hamid, Ibrahim M. El-Sherbiny. Preparation of silver nanoparticles in the presence of chitosan by electrochemical method, *Carbohydrate Polymers* 89 (2012) 236– 244.
- [13] Veeresh T. Magalad, Seema S. Pattanashetti, Gavisiddappa S. Gokavi, Mallikarjuna N. Nadagoudac , Tejraj M. Aminabhavi. Proton conducting properties of nanocomposite membranes of chitosan, *Chemical Engineering Journal* 189– 190 (2012) 1– 4.
- [14] Chitosan based Nanofibers, review; Maher Z. Elsabee, Hala F. Naguib, Rania Elsayed Morsi; *Materials Science and Engineering C* 32 (2012) 1711–1726.
- [15] Pastrana Bonilla, Eduardo. (2010) Importancia industrial de la Quitina. *Bioquímica, Facultad de Ingeniería, USCO*. [http://eduardo-pastrana.blogspot.com/fecha de recuperación: 24-04-2010](http://eduardo-pastrana.blogspot.com/fecha-de-recuperación:24-04-2010).
- [16] E. Yenilmez, E. Basaran, Y. Yazan. Release characteristics of vitamin E incorporated chitosan microspheres and in vitro–in vivo evaluation for topical application, *Carbohydrate Polymers* 84 (2011) 807–811.
- [17] Warayuth Sajomsang, Pattarapond Gonil, Somsak Saesoo, Chitchamai Ovattlamporn. Antifungal property of quaternized chitosan and its derivatives, *International Journal of Biological Macromolecules* 50 (2012) 263– 269.
- [18] Praneet Opanasopit, Jintana Tragulpakseerojn, Auayporn Apirakaramwong, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata. Chitosan enhances transfection efficiency of cationic polypeptides/DNA complexes, *International Journal of Pharmaceutics* 410 (2011) 161–168.

- [19] Jay Singh, Manish Srivastava, Prasanta Kalita, Bansi D. Malhotra. A novel ternary NiFe₂O₄/CuO/FeO-chitosan nanocomposite as a cholesterol biosensor, *Process Biochemistry* (2010), doi: 10.1016.
- [20] Neama A. Reiad, Omar E. Abdel Salam, Ehab F. Abadir, Farid A. Harraz. Adsorptive removal of iron and manganese ions from aqueous solutions with microporous chitosan/polyethylene glycol blend membrane, *Journal of Environmental Sciences* 2012, 24(8) 1425–1432.
- [21] Abel E. Navarro, Ángela Manrique, Ernesto Iparraguirre, Carlos Díaz, Christian Jacinto, Norma Cuizano, Bertha P. Llanos. Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo para su aplicación en la adsorción de aniones metálicos, *Rev. Soc. Quím Perú.* 76 (4) 2010.
- [22] Elisaveta K. Mladenova & Ivanka Grigorova Dakova & Irina B. Karadjova. Chitosan membranes as sorbents for trace elements determination in surface waters, *Environ Sci Pollut Res* (2011) 18:1633–1643.
- [23] Cristóbal Lárez Velásquez. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica, *Revista UDO Agrícola* 8 (1): 1-22. 2008
- [24] Riccardo A.A. Muzzarelli, Joseph Boudrant , Diederick Meyer , Nicola Manno , Marta DeMarchis , Maurizio G. Paoletti. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial, *Carbohydrate Polymers* 87 (2012) 995– 1012.
- [25] Javier Pérez Quiñones, Richard Szopko, Claudia Schmidt, Carlos Peniche Covas. Novel drug delivery systems: Chitosan conjugates covalently attached to steroids with potential anticancer and agrochemical activity, *Carbohydrate Polymers* 84 (2011) 858–864.
- [26] Margarita Ramos-García, Elsa Bosquez-Molina, Jesús Hernández-Romano, Guadalupe Zavala-Padilla, Eduardo Terrés-Rojas, Irán Alia-Tejacal, Laura Barrera-Necha, Mónica Hernández-López, Silvia Bautista-Baños. Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifer* and *Escherichia coli* DH5a in fresh tomatoes, *Crop Protection* 38 (2012) 1-6

- [27] S. Tripathi, G.K. Mehrotra, P.K. Dutta. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications, *Carbohydrate Polymers* 79 (2010) 711–716.
- [28] Gildberg A., Stenberg, EA. A new process for advanced utilization of shrimp waste. *Process Biochemistry* 36, (2001) 809-812
- [29] Sastoque Cala L., Mercado Reyes M., Martinez Salgado M., Quevedo Hidalgo B., Pedroza Rodriguez A., Producción de quitinasas extracelulares con una cepa alcalófila halotolerante de *Streptomyces* sp. aisladas de residuo de camarón. *Revista mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 6 N°2(2007) 137-146.
- [30] Zulay Marmol, Gisela Paez, Marisela Rincon, Karelen Araujo, Cintia Chandler y Edixón Gutierrez Quitina y Quitosano Polímeros amigables. *Revista Tecnocientífica URU* 2011 (53-58).
- [31] Riccardo A.A. Muzzarellia , Joseph Boudrant , Diederick Meyer , Nicola Manno, Marta DeMarchis ,Maurizio G. Paoletti. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial *Carbohydrate. Polymers* 87 (2012) 995– 1012.
- [32] Maria Tsiligianni, Eikaterini Papavergou, Nikolaos Soutos, Taxiarchoula Magra, Ioannis N. Savvaidis. Effect of chitosan treatments on quality parameters of fresh refrigerated swordfish (*Xiphias gladius*) steaks stored in air and under vacuum conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 7 August 2012.
- [33] A. Ghaee, M. Shariaty-Niassar, J. Barzinc, A. Zarghan. Adsorption of copper and nickel ions on macroporous chitosan membrane: Equilibrium study, *Applied Surface Science* 258 (2012) 7732– 7743.
- [34] Ali Reza Pendashteh, A. Fakhrol-Razi, Sayed Siavash Madaeni, Luqman Chuah Abdullah, Zurina Zainal Abidin, Dayang Radiah Awang Biak. Membrane foulants characterization in a membrane bioreactor (MBR) treating hypersaline oily wastewater, *Chemical Engineering Journal* 168 (2011) 140–150.

[43] Robert Davis, Svetlana Zivanovic, Doris H. D'Souza, P. Michael Davidson. Effectiveness of chitosan on the inactivation of enteric viral surrogates, *Food Microbiology* 32 (2012) 57-62.

[44] Teonila Garcia Zapata, Johana Melissa Roca Ortega. Industrialización de los crustáceos para la obtención de Quitosano en unguento con efecto cicatrizante, *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial* Vol. 11(2): pp 24-32 (2008) UNMSM.

[45] Fujun Liu, Bing Qin, Linghao He, Rui Song. Novel starch/chitosan blending membrane: Antibacterial, permeable and mechanical properties, *Carbohydrate Polymers* 78 (2009) 146–150.