

## ALGUNOS USOS DEL QUITOSANO EN SISTEMAS ACUOSOS

Cristóbal Lárez Velásquez<sup>1</sup>

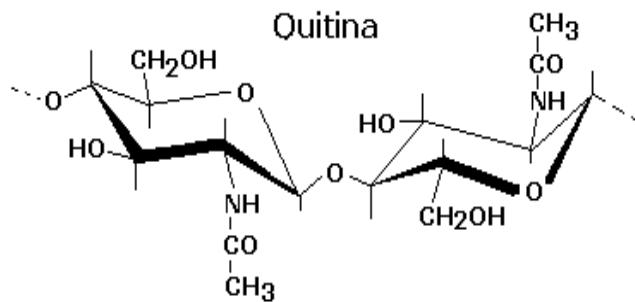
Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias. La Hechicera  
Departamento de Química, Grupo de Polímeros. Mérida (Venezuela)

### 1. Breve reseña histórica sobre el quitosano

Por su amplia distribución en la naturaleza la quitina es el segundo polisacárido en abundancia, después de la celulosa. Fue descubierta por Braconnot en 1811 cuando estudiaba las sustancias derivadas del *Agaricus volvaceus* y otros hongos. Posteriormente Odier, en un artículo sobre insectos reportó que había encontrado en algunos insectos la misma sustancia que forma la estructura de las plantas, llamándola “quitina” (del griego *tunic*, envoltura). Payen, en 1943, inició una controversia que duró mas de cien años sobre las diferencias entre la quitina y la celulosa, en parte porque se pensaba que la presencia de nitrógeno reportada en algunas investigaciones se debía a residuos de proteínas que no podían ser completamente eliminados de las muestras.

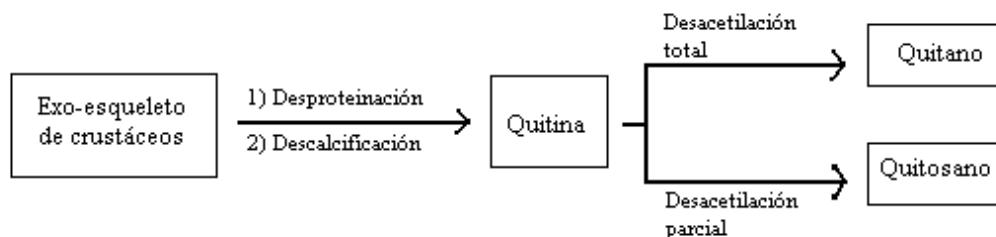
El nombre sistemático de la quitina es  $\beta(1\text{-}4)\text{-}2\text{-acetamido-2-desoxi-D-glucosa}$ . Se encuentra principalmente en las conchas de crustáceos y formando parte del exoesqueleto de los insectos, así como también en las paredes celulares de muchos hongos, levaduras y algas [1]. La quitina es completamente insoluble en agua o en medio ácido. Su estructura química es la siguiente:

<sup>1</sup>) Conferencia pronunciada en la II Escuela Iberoamericana de Polímeros celebrada en Mérida (Venezuela) en Octubre de 2002.



Unidad repetitiva de la quitina.

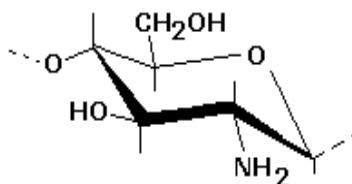
Por su parte, el quitosano es también un polisacárido que se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos; sin embargo, su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas. El quitosano fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos. Esta “quitina modificada”, como él la llamó, se tornaba de color violeta en soluciones diluidas de ioduro y ácido, mientras la quitina era verde. Mas tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler quién la denominó “quitosano” (también se conoce como quitosana en algunos lugares, chitosan en inglés). En el siguiente esquema se aprecia los pasos elementales en la obtención del quitosano:



Esquema elemental de la producción de los derivados de la quitina.

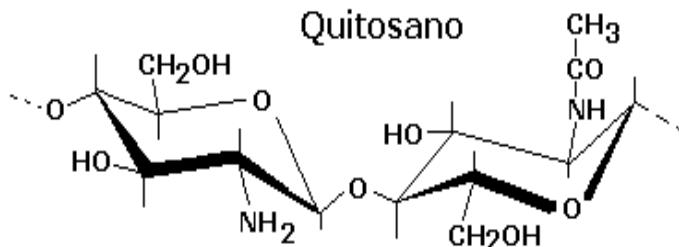
La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano; sin embargo, cuando la deacetilación del material de partida es incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades  $\beta(1\text{-}4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y  $\beta(1\text{-}4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera materiales con distintas propiedades denominados quitosanos. La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso que pueden llegar a tener. Las estructuras químicas del quitano y el quitosano se muestran a continuación:

Quitano



Unidad repetitiva del quitano.

Quitosano



Unidad repetitiva del quitosano.

La presencia de grupos aminas 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, ya desde los finales de los setenta, cuando apareció el libro de “Chitin” de R.A. Muzarelli, en 1977 [1] y se realizó la Primera Conferencia Internacional sobre Quitina y Quitosano en 1978. También en iberoamérica se ha venido trabajando con el quitosano y en el 2000 se celebró en La Habana (Cuba) el Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano, en el marco del XI Simposio Latinoamericano de Polímeros (SLAP).

## 2. Aplicaciones del quitosano

Dado el gran número de trabajos que existen sobre este versátil material es conveniente realizar una clasificación por área sobre las aplicaciones que se le han ido dando. A continuación se presentan algunas de ellas, aunque la lista no pretende ser exhaustiva.

**Química analítica:** aplicaciones cromatográficas, intercambiadores de iones, absorción de iones de metales pesados y absorción de ácidos, fabricación de electrodos específicos para metales, etc.

**Biomedicina:** membrana de hemodiálisis, suturas biodegradables, sustituyentes artificiales de la piel, agente cicatrizante en quemaduras, sistemas liberadores de fármacos, liberación de insulina, transporte de agentes anticancerígenos, tratamiento de tumores (leucemia), control del virus del SIDA, etc.

**Agricultura y ganadería:** recubrimiento de semillas para su conservación durante el almacenamiento, sistemas liberadores de fertilizantes, aditivo para alimento de animales, en formulación de pesticidas, etc.

**Cosméticos:** Espumas de afeitar, cremas para la piel y el cuerpo.

**Dietéticos:** Adelgazantes (existe una amplia variedad de productos comerciales que ofrecen el polímero como atrapador de grasas en el estomago, véase figura 1).

**Industria:** del papel, textil, alimentaria (soporte para inmovilización de enzimas en la producción de maltosa, espesante en alimentos, agente de oxidación controlada, agente preservante).



Figura 1. Algunos productos del quitosano de uso dietético y cosmético que se encuentran en el mercado.

**Tratamiento de agua:** agente floculante, agente coagulante, tratamientos de flotación para la remoción de aceite de pescado en agua [2], agentes filtrantes para piscinas y spas, remoción de metales, remoción de surfactantes, etc.

### 3. Caracterización fisicoquímica del quitosano.

**Determinación del grado de desacetilación (dga):** normalmente los estudios de caracterización del quitosano se centran en la determinación de su grado de desacetilación (gda). En ese sentido hay una serie de métodos que ya se han hecho rutinarios para éste propósito, incluyendo estudios de  $^{13}\text{C}$ -RMN en estado sólido. Uno de los más utilizados es la valoración titulométrica de los grupos aminos, para lo cual se pueden utilizar distintas formas de determinación del punto final. En la figura 2 se puede observar una titulación conductimétrica típica para distintas cantidades de quitosano disuelto en HCl.

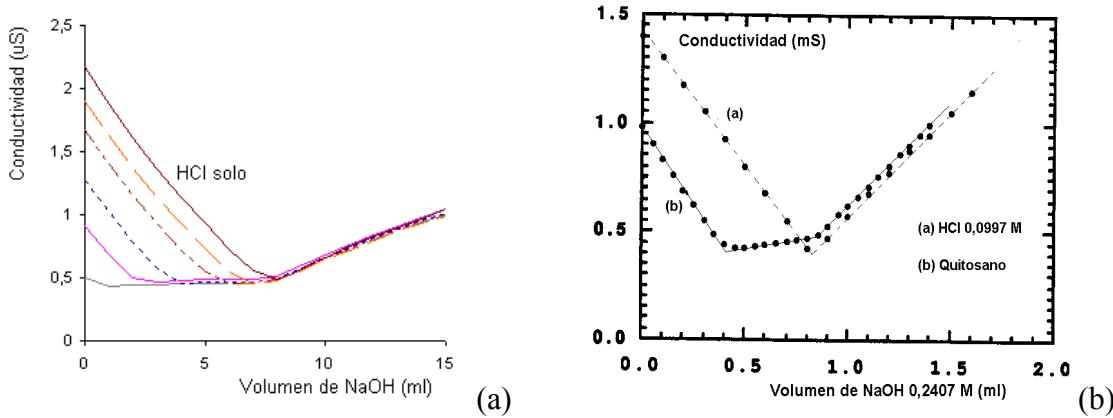


Figura 2. (a) Titulación conductimétrica de quitosano para diversas cantidades iniciales del biopolímero (b) detalle de la titulación de una muestra particular

**Medidas viscosimétricas:** la masa molar del quitosano ha sido estimada de medidas viscosimétricas utilizando una modificación de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) [3], que tiene la siguiente forma:

$$[\eta] = K q_{\text{MHS}} M_w^\alpha$$

donde el valor de  $q_{\text{MHS}}$  cambia de una muestra a otra y es función de las masas molares promedio en peso, en número y en difusión, de acuerdo con la siguiente relación:

$$q_{\text{MHS}} = (M_w / M_n)^b (M_z / M_w)^c$$

la constante  $c$  depende solo del exponente  $\alpha$  y la constante  $b$  de  $\alpha$  y de  $(M_z/M_w)$  [4].

Igualmente, el gda es un parámetro importante en la determinación de las masas molares. Brugnerotto [5], usando un detector de dispersión de luz multiangular en sus estudios de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), y basándose en el modelo de cadena tipo gusano (“wormlike”), predijo los parámetros de MHS de diversas muestras (homogéneas y heterogéneas) en soluciones acuosas de ácido acético/acetato de sodio. Los valores predichos en estos estudios apuntan a que  $K$  disminuye sustancialmente cuando el gda disminuye, mientras que el valor de  $\alpha$  solo aumenta muy ligeramente.

**Distribución de las unidades acetiladas:** el papel de la distribución de los sustituyentes acetilo a lo largo de la cadena del quitosano en el control de sus propiedades, especialmente en lo que se refiere a su solubilidad y a la hidrofobia, ha sido estudiada usando MNR. Algunos autores han propuesto [6] que las muestras parcialmente desacetiladas, preparadas homogéneamente y con el mismo gda, presentan una distribución al azar de estos sustituyentes, concordando con una distribución bernouilliana.

#### 4. Algunas reacciones del quitosano:

En esta parte se expondrán resumidamente algunos de los resultados más actuales en las siguientes reacciones del quitosano:

**Formación de policomplejos.** Los complejos polielectrolitos son formados por la atracción electrostática de dos polielectrolitos con cargas opuestas como fuerza conductora del proceso. Por su naturaleza policationica, el quitosano ha sido usado para la complejación de proteínas acídicas en una variedad de fluidos biológicos, los cuales pueden ser manipulados con relativa facilidad [7]. Igualmente se ha logrado preparar una serie de policomplejos que tienen características de hidrogeles, motivo por el cual ha sido posible estudiarlos en la liberación controlada de drogas, incluyendo tratamientos anticancerosos [8].

En su proceso de hinchamiento normalmente los hidrogeles preparados por el entrecruzamiento de una sola especie de polielectrolito (un polication o un polianión) son altamente sensibles al pH del medio. Por lo general, los hidrogeles preparados con quitosano logran un grado de hinchamiento máximo a valores de pH ácidos bien determinados, debido a que el máximo grado de hinchamiento de estos materiales surge de un compromiso entre la máxima repulsión que pueden experimentar los grupos cargados y el mínimo apantallamiento que genera la adición de un exceso del ácido. En el caso de los complejos polielectrolitos, entrecruzados químicamente en reacciones posteriores, es posible obtener materiales que se hinchen tanto a pH ácido como a pH básico. La generación de un hidrogel, formado inicialmente mediante la formación de un complejo polielectrolito entre el poliácido acrílico y el quitosano (mediante una reacción de polimerización a templado del ácido acrílico vía radicales libres en medio acuoso) es un ejemplo de este tipo de materiales [9]. En la figura 3 se muestra su comportamiento de hinchamiento en función del pH en el medio externo.

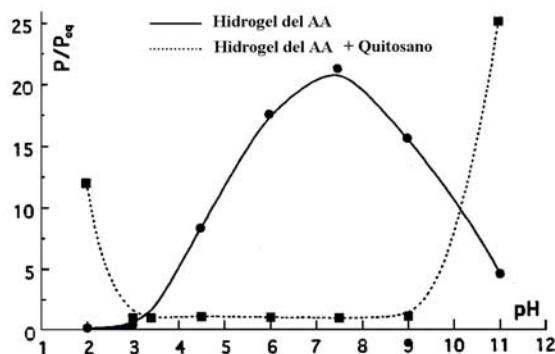


Figura 3. Comportamiento en el hinchamiento como función del pH para el sistema ácido acrílico (AA) y quitosano.



Figura 4. Fotografías de (a) hidrogel no hinchado basado en un complejo polielectrolito de quitosano y ácido itacónico y (b) el mismo hidrogel de (a) hinchado en medio ácido.

La figura 4 muestra las fotografías del hidrogel obtenido del complejo polielectrolito formado por la polimerización a templado ácido itacónico y el quitosano, usando cantidades relativamente bajas del polication [10]. La realización de este trabajo ha permitido confirmar que la interacción electrostática entre ambos polielectrolitos puede llegar a ser bastante significativa, como para producir un entrecruzamiento físico, aún cuando uno de ellos se encuentre en

cantidades iniciales tan pequeñas como el 1,1% de los grupos cargados en el polielectrolito en exceso. Por debajo de estas cantidades los materiales obtenidos son completamente solubles, como puede inferirse de la tabla siguiente:

Tabla 1. Masas molares promedios, polidispersidad, relación COOH/NH<sub>2</sub> y rendimiento y de los policomplejos obtenidos en la polimerización a templado de ácido itacónico en soluciones acuosas de quitosano.

Muestra	M <sub>v</sub> x10 <sup>-5</sup> g/mol	M <sub>w</sub> x10 <sup>-5</sup> g/mol	M <sub>n</sub> x10 <sup>-5</sup> g/mol	Polidispersidad	R <sub>initial</sub>	R <sub>final</sub>	Rendimiento (g)	%
PIA-D	5,4	5,6	5,0	1,12	-	-	0,39	13
PIACH-E	5,3	5,4	4,7	1,14	305,4	38,3	0,36	12
PIACH-F	6,1	6,7	5,0	1,30	152,6	15,4	0,77	25
PIACH-G	8,6	10,0	5,7	1,74	119,8	19,3	1,01	32
PIACH-H	-	-	-	-	76,4	8,6	1,23	39

$$R = (\text{meq. COOH}/\text{meq. NH}_2)$$

En este breve resumen es conveniente mostrar un tipo de ensamblaje tipo complejo polielectrolito que encapsula una solución concentrada de un polielectrolito dentro de una piel formada por la interacción electrostática de dicho polielectrolito con otro de carga opuesta. La figura 4 (b) muestra un modelo propuesto para la formación de dicho ensamblaje, usando una solución de quitosano, encapsulada en la piel formada con el biopolímero denominado Sclerox, el cual es el producto de la oxidación a poliácido del scleroglucano. En la figura 4 (a) se muestra un esquema del proceso de preparación de estos ensamblajes interpoliméricos, que incluso han sido probados en su capacidad para atrapar diversas especies, como por ejemplo colorantes aniónicos

y cationes metálicos como  $\text{Cu}^{2+}$ . Igualmente este tipo de ensamblajes ha sido propuesto para la encapsulación de enzimas.

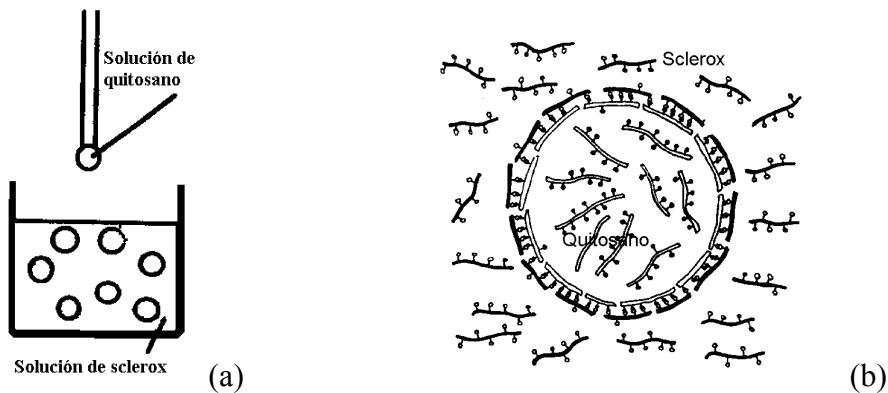
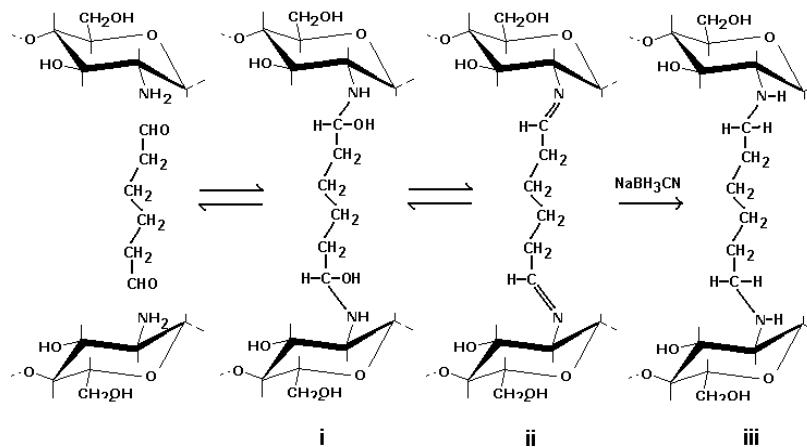


Figura 5. (a) Proceso de formación de las cápsulas de quitosano recubiertas con un poliácido derivado del scleroglucano y (b) Modelo propuesto para el ensamblaje de la piel en las cápsulas.

**Reacciones de entrecruzamiento:** los hidrogeles químicos son redes tridimensionales formadas por la unión covalente de todas las cadenas de polímeros existentes en un sistema determinado, hasta formar, teóricamente, una sola macromolécula. El quitosano es uno de los biomateriales más extensamente estudiados en este sentido. Existen varios agentes entrecruzantes que han sido estudiados para tal fin, como por ejemplo la epiclorhidrina y el etilenglicol glicidil éter. Pero quizás la reacción de entrecruzamiento más frecuentemente utilizada para este fin es la reacción con dialdehidos para formar uniones químicas tipo base de Schiff [11]. Las bases de Schiff (ii) son especies generadas a partir de reacciones reversibles; sin embargo, estas especies pueden ser convertidas en materiales más estables (iii) mediante una reacción de hidrogenación con reactivos comunes como el cianoborohidruro de sodio, de acuerdo con el siguiente esquema:



Reacciones de entrecruzamiento para producir hidrogeles de quitosano usando un dialdehido como agente entrecruzante.

Obviamente un polímero con grupos aldehidos es candidato obligado para la preparación de este tipo de hidrogeles, especialmente si dicho material proviene de fuentes naturales como el biopolímero denominado scleroglucano (Polytran, Biopolímero CS), el cual es secretado por hongos del género *Sclerotium*, entre otros. Este material ha sido oxidado exitosamente a un derivado conocido como sclerodialdehido mediante la conocida reacción de grupos hidroxilo vecinales con periodato de sodio. Posteriormente, a través de un reacción similar a la mostrada en el esquema anterior, se ha logrado producir un hidrogel que ha sido estudiado en sus propiedades de hinchamiento en función del pH del medio, absorción de compuestos aniónicos como el ácido salicílico, cationes metálicos y también su interacción con surfactantes, donde fue posible observar el llamado colapso del sistema [12]. La figura 6 muestra el perfil de liberación en el tiempo del surfactante dodecilbencensulfonato de sodio (SDSS) y el compuesto de comparación, p-toluen sulfonato de sodio (p-TSS), mientras que en la figura 7 podemos observar las respectivas isotermas de absorción.

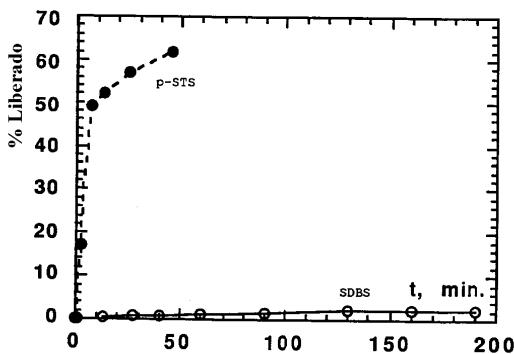


Figura 6. Perfil de liberación en el tiempo del surfactante SDSS y del compuesto de comparación p-TSS.

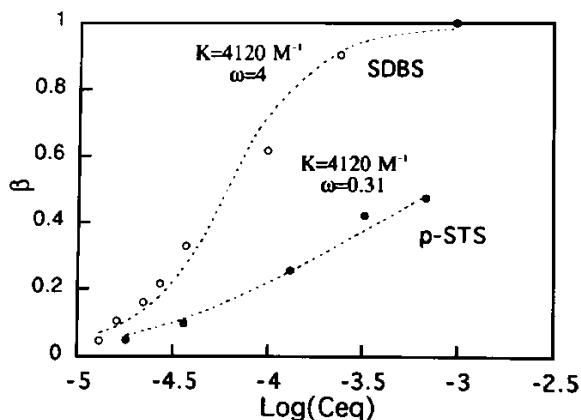


Figura 7. Isotermas de absorción para el SDSS y el p-TSS en un hidrogel de quitosano-scerodialdehido.

También ha sido posible obtener hidrogeles de este tipo, usando quitosano, mediante una serie de modificaciones químicas sumamente interesantes en un polímero sintético como el polivinil alcohol (PVA) [13]. Este último fue inteligentemente modificado aprovechando que normalmente en su cadena pueden encontrarse, distribuidas al azar, uniones cola-cola que

generan grupos OH vecinales; estos grupos vecinales pueden ser oxidados a grupos aldehidos, los que a su vez pueden formar bases de Schiff con el quitosano, etc, etc.

La formación de redes tridimensionales con quitosano también se han realizado con diversos agentes entrecruzantes macromoleculares, como por ejemplo mediante reacciones de injerto del poliácido acrílico a través del grupo amina [14].

**Cuaternización (alquilación exhaustiva del grupo amino).** Debido a que el quitosano posee un valor del  $pK_a \sim 5,6$ , siendo soluble solo en soluciones ácidas con valores de  $pH < 6$ , se ha venido buscando extender el intervalo de pH donde se pueda utilizar dicho biopolímero en solución, para darle una mayor aplicabilidad. En ese sentido, un material con una mayor densidad de carga generaría seguramente una mayor solubilidad; por ello, una de las rutas propuestas para lograr este objetivo es lograr una alta eficiencia en la cuaternización de los grupos aminas en las cadenas del polímero. Existen diversos métodos de cuaternización de grupos amino primarios y secundarios, algunos de los cuales ya se han aplicado con éxito al quitosano, obteniéndose diferentes derivados alquilados. Se ha logrado comprobar experimentalmente que el grado de cuaternización y su porcentaje pueden ser controlados mediante el número de pasos de la reacción, el tiempo de duración de dichos pasos y la concentración del agente alquilante.

Uno de los métodos más usados para realizar esta modificación hace uso de la preparación de intermediarios monoalquilados tipo base de Schiff's para su posterior alquilación exhaustiva usando ioduro de metilo. Normalmente los productos obtenidos mejoran sustancialmente su solubilidad en agua con relación al quitosano virgen. Estos materiales han mostrado actividad antibacterial sobre *S. Aureus*, habiéndose notado un incremento de dicha actividad conforme aumenta el tamaño de la cadena alquilante [15]. También Jia y colaboradores sintetizaron y estudiaron derivados cuaternizados del quitosano en su acción antibacterial sobre *E. Coli* [16],

demonstrando que esta es mayor para altos pesos moleculares y apreciándose mayor efectividad para sustituyentes alquilos con mayores longitudes de cadena.

Una aplicación sumamente interesante de los derivados cuaternizados del quitosano es la que pudiera derivarse de las prometedoras propiedades de transporte de compuestos hidrofilicos, a través de monocapas de células intestinales de Caco-2, que ha exhibido el trimetil-quitosano (TMC). Thanou y colaboradores [17] han observado que este polímero es capaz de abrir las uniones compactas del epitelio intestinal a valores de pH fisiológico, donde el quitosano es insoluble, y por lo tanto, inefectivo. Han sugerido que la alta densidad de carga del TMC es necesaria para mejorar sustancialmente la permeabilidad paracelular del epitelio intestinal; se espera a corto plazo que este material refuerce la permeación de drogas macromoleculares hidrófilas como, por ejemplo, los péptidos y las proteínas. Otros investigadores han confirmado estos resultados.

En otro tipo de aplicación, los derivados cuaternizados del quitosano han sido utilizados también como agente floculante en el tratamiento de aguas de desecho que contienen glutamato de sodio [18] mostrando alta eficiencia en la remoción de la turbidez en un intervalo amplio de pH. Por su parte, Kim y colaboradores [15] también han sintetizado una serie de derivados cuaternizados que han mostrado un alto poder floculante, independientemente del valor del pH; aparentemente el poder floculante incrementa con el tamaño de la cadena alquílica. En nuestro laboratorio se trabaja actualmente en la metilación exhaustiva del quitosano y su caracterización (véase la figura 9 (a) con los espectros de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) de la especie obtenida) habiéndose ensayado algunos de los materiales obtenidos en la floculación de kaolinita y polvo de tierra en agua desmineralizada y en agua del grifo. Existe una mejoría manifiesta en la solubilidad de los materiales cuaternizados, así como también se ha confirmado su comportamiento de polielectrolito fuerte cuando se realizan estudios de viscosimetría y se comparan con los del material de partida, en las mismas condiciones de pH, tal como puede observarse en la figura 9(b).

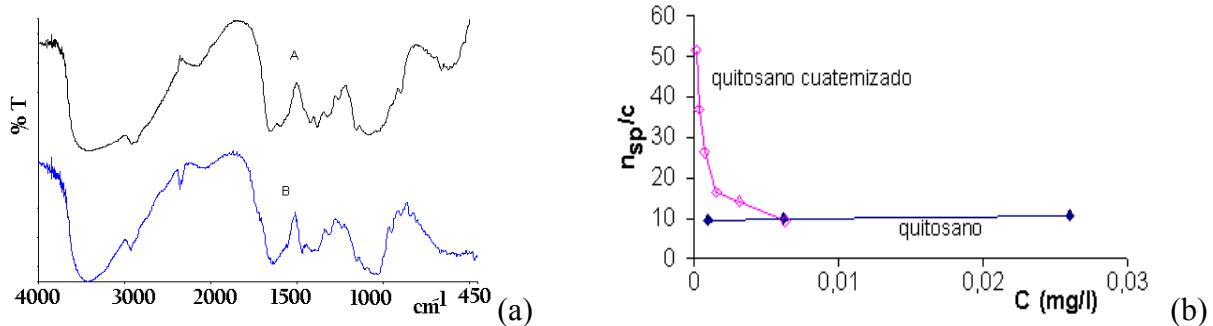


Figura 9. (a) Espectros FTIR y (b) Comportamiento viscosimétrico del quitosano utilizado y del derivado cuaternizado (TMC) obtenido en nuestro laboratorio.

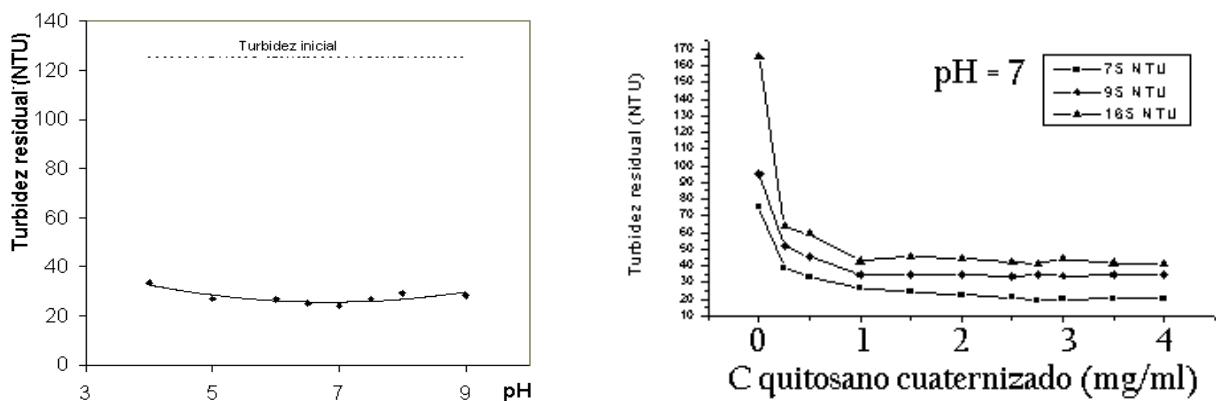


Figura 10 (a) Variación de la turbidez como función (a) del pH del medio y (b) de la concentración de TMC añadido para de una muestra de kaolinita en agua del grifo.

La figura 10, por su parte, muestra los valores de turbidez antes y después del proceso de floculación inducido por la presencia de TMC, a diferentes valores de pH, incluyendo valores mayores que 6,5 como puede apreciarse.

**Preparación y modificación de electrodos:** el uso de electrodos para la determinación selectiva de iones metálicos es ampliamente conocido. Como un ejemplo de la aplicación de este tipo de electrodos basados en membranas preparadas con quitosano, éste se ha estudiado en mezclas con distintos polímeros, habiéndose obtenido algunas membranas que resultaron selectivas al Cr(III). En este sentido, se han obtenido resultados aceptables con acetato de celulosa [19]. Los estudios se realizaron simulando condiciones similares a la de los baños de cromo en tenerías, con el fin de desarrollar un método analítico para la determinación de esta especie y su posible aplicación en procesos industriales. El sistema incluso mostró selectividad por el Cr(III) cuando se estudió la presencia de algunos interferentes, bien sean otros iones metálicos como  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , el ión amonio o el fenol.

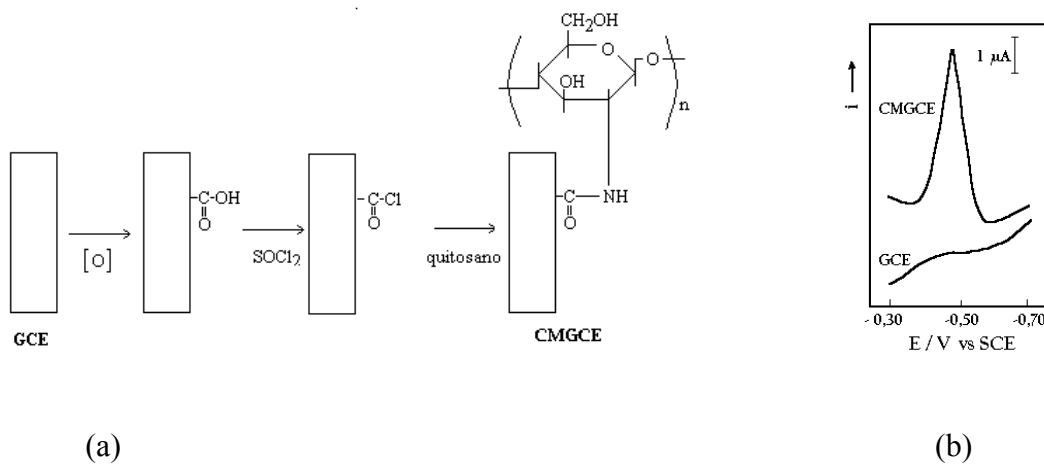


Figura 8. (a) Esquema para la modificación química del electrodo de carbón vítreo con quitosano y (b) Comparación entre las respuestas electrodo modificado y sin modificar.

Por otro lado, se han reportado algunos trabajos en los cuales se ha logrado modificar químicamente la superficie electródica con quitosano, mediante un adecuado tratamiento previo de ésta. Jinrui y Bin [20] mostraron, por ejemplo, que un electrodo de carbón vítreo (GCE),

modificado de acuerdo al tratamiento que se muestra en el esquema de la figura 8 (a), puede aumentar de forma notable la respuesta de pH durante los estudios de voltametría despojo anódico diferencial (figura 8 (b)).

Finalmente es importante mencionar que en la actualidad se han iniciado algunos estudios para la modificación de pasta de carbono con quitosano, con el fin de aprovechar sus propiedades de agente quelante y su posible selectividad en la determinación de metales. Los ensayos iniciales con mezclas físicas han mostrado que es necesario fijar químicamente el quitosano a las partículas de carbón, debido a que su alta hidrofilia (en medio ácido) hace difícil retenerlo dentro de la pasta en estas condiciones [21].

## BIBLIOGRAFÍA

1. Muzzarelli R. “**Chitin**”. Editorial Pergamon Press. Primera edición, pag. 2 (1974).
2. Konovalova I., Stepanova N., Vasilevskii P. y Bereza I., **Russian J. Appl. Chem.**, **74(3)**, 449-454 (2001).
3. Bareiss R. **Polymer Handbook**, 2<sup>a</sup> edición; Brandrup, J. y Immergut, E.H., (Editores), Wiley Interscience. New York, pag. IV115-IV130, pág. IV115-IV130 (1975).
4. Guaita M., Chiantore O., Munari A., Manaresi P., Pilati F. y Toselli M. **Eur. Polym. J.**, **27(4/5)**, 385-388 (1991).
5. Brugnerotto J., Desbieres J., Roberts G. y Rinaudo M., **Polymer**, **42**, 9921-9927 (2001).
6. Varum K., Anthonsen M., Grasdalen H. y Smidrod O. **Carbohydr. Res.**, **19**, 217 (1991).
7. Hirano S., Noishiki Y., Kinugawa J., Highasijima H. y Hayashi T. “**Advances in Biomedical Polymers**”, C. G. Gebelein (editor). Plenum Press, New York, pag. 285 (1997).
8. Mi F., Shyu S., Kuan C., Lee S., Lu K. y Jang S., **J. Appl. Polym. Sci.**, **74(7)**, 1868-1879 (1999).

9. Amici, E. “**Sintesi di Reticolati Polimerici. Processi convenzionali e a templato**”. Tesis de Grado. Universitá “La Sapienza”, Dipartimento di Chimica. Roma, Italia. Diciembre 1995.
10. Lárez, C., Canelón F., Millán E. y Katime I., **Polym. Bull.**, **48**, 361-366 (2002).
11. Crescenzi, V., Imbriaco D., Lárez C., Dentini M. y Ciferri A., **Macromol. Chem. Phys.**, **196**, 2873-2880 (1995).
12. Lárez C., Crescenzi V., Dentini M. y Ciferri A., **Supramolecular Science**, **2**, 141-147 (1995).
- 13.- Paradossi G., Lisi R., Paci M. y Crescenzi V., **J. Polym. Sci.**, **A34**, 3417-3425 (1996).
14. Yazdani-Pedram M., Retuert J. y Quijada R., **Macromol. Chem. Phys.**, **201**, 923-93 (2000).
- 15.- Kim C., Jung B., Choi K. y Kim J., **Kongopo Hwahak**, **7(1)**, 118-128 (1996).
16. Jia Z., Shen D. y Xu W., **Carbohydr. Research**, **333 (1)**, 1-6 (2001)
17. Thanou M., Kotzé A., Scharinghausen T., Luessen H., De Boer A., Verhoef J., Junginger H. **J. Control. Release**, **64(1-3)**, 15-25 (2000).
18. Cai W., Ye Y. y Chem P., **Huanjing Woman Yu Fangzhi**, **21(4)**, 1-4 (1999)
19. Giovannini, P. "Monitoraggio del cromo nei bagni di concia con sensore a chitosano". Tesis de grado. Universidad “La Sapienza”, Dipartimento di Chimica. Roma; Italia. 1994.
20. Jinrui X. y Bin L., **Analyst**, **119**, 1599-1601 (1994).
21. Navarro P., Millán E. y Lárez C. Resultados no publicados. Grupo de Electroquímica del Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Venezuela.