

## Capítulo 8

# QUITOSANO Y NANOPARTÍCULAS

**Cristóbal Lárez Velásquez\***

Grupo de Polímeros, Departamento de Química,  
Universidad de Los Andes. Mérida 5101 –Venezuela

## CONTENIDO

<b>8.1. Introducción .....</b>	<b>205</b>
<b>8.2. Definiciones fundamentales .....</b>	<b>206</b>
<b>8.3. Quitosano: aspectos relevantes .....</b>	<b>206</b>
<b>8.4. Nanopartículas basadas en quitosano.....</b>	<b>207</b>
<i>8.4.1. Métodos de preparación más comunes</i>	
<i>- Gelación ionotrópica</i>	
<i>- Pulverización/secado</i>	
<i>- Coacervación/precipitación</i>	
<i>- Microemulsificación reversa:</i>	
<i>- Complejación polielectrolítica</i>	
<i>8.4.2. Algunas aplicaciones actuales de las nanopartículas basadas en quitosano</i>	
<i>- Aplicaciones de nanopartículas de quitosano en agricultura</i>	
<i>- Nanopartículas de quitosano en la purificación de agua</i>	
<i>- Liberación controlada de fármacos usando nanopartículas de quitosano</i>	
<b>8.5. Tendencias en nanopartículas de quitosano .....</b>	<b>215</b>
<b>8.6. Consideraciones finales .....</b>	<b>216</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>217</b>

---

\* [clarez@ula.ve](mailto:clarez@ula.ve)



## 8.1. Introducción

Los materiales constituidos a partir de unidades estructurales de materia cuyas dimensiones lineales oscilen entre 1-100 nm son considerados como nanomateriales (NMs) y las unidades estructurales que los constituyen como nanopartículas (NPs). Los NMs pueden ser clasificados como<sup>1</sup>:

- *Nanomateriales compactos*: conocidos también como materiales nanoestructurados<sup>2</sup>, son aquellos materiales cuyos elementos estructurales (clústeres, cristalitas, moléculas) tienen dimensiones nanométricas. Generalmente son isotrópicos en su composición macroscópica pero están conformados por unidades de tamaño nanométrico que se mantienen en contacto y que constituyen los elementos estructurales repetitivos<sup>3</sup>.
- *Nanodispersiones*: conformados por elementos estructurales nanométricos que permanecen dispersos en un medio (vacío, gas, líquido, sólido) y aislados unos de otros. La distancia entre las unidades nanométricas en tales dispersiones puede variar entre amplios límites, desde fracciones de un nanómetro hasta decenas de nanómetros.

Uno de los aspectos más interesantes de este tipo de materiales es que usualmente exhiben propiedades que dependen en gran medida del tamaño y de la forma de las NPs que los constituyen y que generalmente difieren de manera notoria de las mostradas por el mismo material convencional masivo (MCM, que se presenta como una masa continua), lo cual ha generado mucho interés por sus potenciales aplicaciones en diversos campos del quehacer científico y tecnológico. Ejemplos específicos reportados para tales diferencias en algunas propiedades de estos materiales son los siguientes:

- *Propiedades ópticas*: los máximos de absorción en las bandas UV-visible de NPs de oro (con su carga estabilizada) se van desplazando hacia valores mayores a medida que los diámetros de las NPs aumentan<sup>4</sup>.
- *Catalíticas*: se ha observado una selectividad diferencial dependiente del tamaño de las NPs de oro para dos vías paralelas de reacción que generan productos de disociación, encontrándose que las NPs más grandes son menos selectivas<sup>5</sup>.
- *Eléctricas*: se ha logrado favorecer la conductividad eléctrica de conductores convencionales basados en películas de plata usando NPs de plata serigrafiadas a bajas temperaturas<sup>6</sup>.
- *Magnéticas*: se ha establecido que la temperatura de bloqueo super-paramagnética en NPs de FeO/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> es fuertemente dependiente de la fracción en volumen del FeO, la cual a su vez está relacionada con el tamaño de las NPs<sup>7</sup>.
- *Actividad biológica*: se ha comprobado que el tamaño de las NPs puede influenciar fuertemente la actividad de unión de las proteínas que se adsorban sobre ellas; así, por ejemplo, se ha encontrado que la inmunoglobulina G de conejo unida a NPs de oro con diámetros > 30 nm no logra unir la proteína A del *Staphylococcus aureus*<sup>8</sup>.

Otra de las características importante en la fabricación de NMs es la gran diversidad de sustancias que pueden usarse para su formación, incluyendo elementos metálicos, cristales,

macromoléculas, etc., lo cual dependerá, obviamente, del tipo de aplicación que se pretenda darle.

En el caso de aplicaciones que consideran aspectos como la actividad biológica, el biopolímero conocido como quitosano, solo o modificado, ha descollado ampliamente como material de partida para la formulación de NPs debido a que presenta propiedades llamativas para tales fines, como por ejemplo biocompatibilidad, baja toxicidad probada en animales<sup>9</sup> y humanos<sup>10</sup>, bio- y mucoadhesividad, biodegradabilidad, entre otras. Muchas de las propiedades biológicas del quitosano y su relación con sus propiedades fisicoquímicas han sido descritas en libros y revisiones bibliográficas sobre el tema<sup>11-17</sup>.

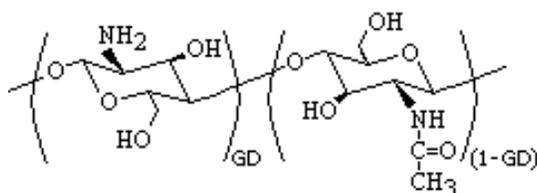
## 8.2. Nanopartículas: definiciones fundamentales

La palabra nano es un prefijo que se deriva del término griego *νάνος* o *νᾶνος*, cuyo significado es enano (adjetivo que se aplica para indicar un tamaño más pequeño que el promedio, generalmente de una persona). Cuando se usa como prefijo de alguna unidad de medida significa la milmillonésima parte de ésta (1 nano =  $1 \times 10^{-9}$ ).

En los reportes científicos especializados se puede encontrar una lista grande de definiciones para el término nanopartícula. Una parte importante de estas definiciones se asocia al diámetro que deberían “abarcar” estos materiales para ser considerados como tales. Sobre este punto no hay un consenso formalmente establecido pero si generalmente aceptado. Así, según la definición de la Organización Internacional de Estandarización (ISO, *International Organization for Standardization*), se consideran como NPs aquellas porciones de materia cuyas tres dimensiones externas caen dentro del rango de la nanoescala (entre 1-100 nm)<sup>18</sup>. Similarmente, la Sección Americana de la Asociación Mundial para Ensayos de Materiales (ASTM, por las siglas en inglés para *American Section of the International Association for Testing Materials*) ha establecido una técnica para la visualización y el análisis directo y en tiempo real de NPs en líquidos, definiéndose como tales aquellas partículas que presenten valores entre 1-100 nm en al menos dos de sus dimensiones externas<sup>19</sup>. No obstante, en la literatura científica relacionada al campo se encuentra también una cantidad importante de reportes que amplían la escala de las NPs hasta tamaños mayores, por ejemplo, entre 10-1000 nm<sup>20-23</sup>, lo cual no deja de ser controversial.

## 8.3. Quitosano: aspectos relevantes

El quitosano es un polisacárido muy bien conocido en la actualidad y puede ser considerado un copolímero de glucosamina y N-acetil-glucosamina; generalmente se nombra como poli( $\beta$ -1,4-glucosamina-co-N-acetil- $\beta$ -1,4-glucosamina). Aunque se presenta naturalmente en algunos hongos, especialmente de la especie *Mucor*, su fuente principal de obtención es la desacetilación química de la quitina o poli(N-acetil  $\beta$ -1,4-glucosamina), reacción que usualmente conduce a una distribución aleatoria de las unidades acetiladas (GlcNAc;  $\beta$ -(1,4)-2-acetamido-2-desoxi-D-4-glucopiranosas) y desacetiladas (GlcN;  $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosas) a lo largo de la cadena, en proporciones definidas por un parámetro conocido como el grado de desacetilación (GD), el cual representa la fracción de unidades desacetiladas en la cadena del biopolímero y que usualmente se encuentra entre 0,50-0,95. La figura 8.1 permite aclarar esta definición.



**Fig. 8.1:** Las dos unidades repetitivas en la estructura del quitosano se hayan aleatoriamente distribuidas a lo largo de la cadena. Las unidades desacetiladas representan la fracción definida como GD mientras que las unidades acetiladas representan la fracción remanente (1-GD).

La presencia de los grupos amina a lo largo de la cadena le confiere a este biopolímero su rasgo distintivo del resto de los polisacáridos conocidos (pectina, dextrano, agarosa, carragenano, etc.), los cuales muestran propiedades ácidas en soluciones acuosas, mientras que el quitosano, debido a la protonación del grupo amina presente en cada una de las unidades glucosamina, posee un carácter básico. Similarmente, se ha propuesto que la actividad biológica de este biopolímero deriva en buena medida del carácter catiónico asociado a dicha protonación<sup>14</sup>.

El quitosano comercial se encuentra generalmente en forma de hojuelas o como un polvillo de color entre blanco y beige, cuya temperatura de transición vítrea depende del peso molecular, el GD y del contenido de humedad en la muestra analizada. Por otro lado, el material es soluble en ácidos orgánicos de cadena corta como el fórmico, el láctico, el acético, el tartárico, el cítrico, etc., siendo una solución acuosa al 1% de ácido acético el solvente más comúnmente reportado; la obtención de valores de pH < 6 es fundamental para su disolución en estos sistemas. También es soluble en soluciones al 1% de ácidos minerales como el ácido clorhídrico y el nítrico pero resulta insoluble en ácidos como el sulfúrico y el fosfórico.

El quitosano posee una serie de propiedades que le han permitido ser propuesto para una amplia gama de aplicaciones en múltiples campos. Así, por ejemplo, puede actuar como espesante en alimentos debido a que forma soluciones acuosas muy viscosas, es mucoadhesivo, forma complejos polielectrolitos, posee excelentes propiedades filmogénicas, actúa como agente quelante para muchos metales, posee el potencial para unirse a células microbianas y de mamíferos y, debido a su efecto regenerativo, es un excelente material para la preparación de andamiajes en ingeniería de tejidos así como para la formación de hueso. Otras de sus propiedades biológicas, que son aprovechadas a nivel comercial en la agricultura, son sus bondades como estimulante del crecimiento e inductor de mecanismos de defensa contra patógenos en plantas, fungicida para la protección de semillas, protección post-cosecha de frutos, etc. En el campo de la odontología y la medicina también ha sido aprovechado comercialmente para la preparación de materiales que se aplican en el tratamiento de hemorragias y quemaduras.

## 8.4. NPs basadas en quitosano

### 8.4.1. Métodos de preparación más comunes

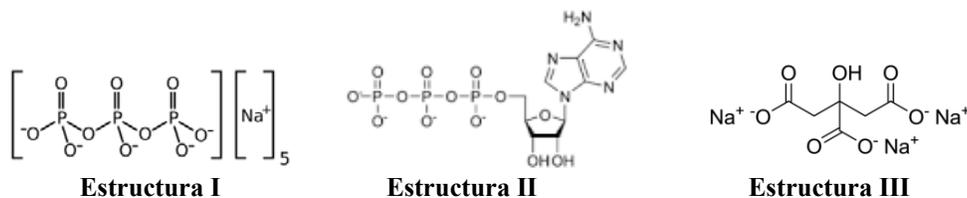
Debido a la importancia que han venido adquiriendo los NMs y a la incorporación creciente del quitosano en estos sistemas –luego de la preparación por primera vez de nanoesferas de

quitosano realizada por Ohya *et al.*<sup>24</sup>— el tema ha venido siendo objeto de la necesaria sistematización por parte de un número importante de autores, una tarea nada fácil si se considera la complejidad de las aplicaciones potenciales que se han propuesto para estos materiales.

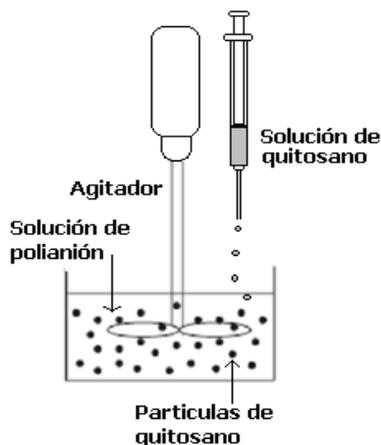
Las aplicaciones iniciales de las NPs de quitosano se enfocaron prácticamente hacia el transporte y la liberación controlada de agentes terapéuticos<sup>25-27</sup>. Algunos trabajos de revisión recientes sobre el tema, que incluyen también reseñas sobre los distintos métodos de preparación más usados para estos fines, son los de Agnihotri *et al.* (2004)<sup>28</sup>, Goycoolea *et al.* (2009)<sup>29</sup>, Wang *et al.* (2011)<sup>30</sup>, Peniche y Peniche (2011)<sup>31</sup> y Elgadir *et al.* (2014)<sup>32</sup>.

Como se ha señalado anteriormente, se han reportado diversos métodos para la preparación de NPs basadas en quitosano. A continuación se describen, de manera general, algunos de los más extendidos.

**Gelación ionotrópica:** un procedimiento típico incluye la preparación de una solución diluida de quitosano en medio ácido acuoso, en el orden de aproximadamente 1 mg/mL, la cual se adiciona a una solución acuosa de un polianión de bajo peso molecular (en el mismo orden de concentración anterior), bajo agitación magnética, luego de lo cual las NPs se forman espontáneamente. Posteriormente, las NPs pueden ser separadas por centrifugación. El polianión más comúnmente usado es el tripolifosfato pentasódico<sup>33-35</sup> (TPP, estructura I) aunque también se ha reportado la preparación de NPs de quitosano con otros polianiones como por ejemplo el adenosin trifosfato<sup>36</sup> (ATP, estructura II), el citrato de trisodio<sup>37</sup> (estructura III) y el sulfato de sodio<sup>38</sup>.



La figura 8.2 muestra un diagrama sencillo del proceso para la preparación de NPs de quitosano usando este método.



**Fig. 8.2:** Ilustración del proceso para la preparación de NPs de quitosano usando el método de gelación ionotrópica.

Pulverización/secado: el proceso general implica la preparación de una solución de quitosano en medio ácido acuoso (por ejemplo ácido acético acuoso al 0,5 % v/v) la cual es pulverizada mediante un equipo diseñado para tal fin (casero o comercial, ver figura 8.3). El control del tamaño de las NPs se puede lograr mediante la variación de diversos parámetros asociados al equipo, como por ejemplo el tamaño de la boquilla de salida de la solución, la velocidad de flujo y la temperatura de la solución, la velocidad de flujo y la temperatura del gas de secado. Igualmente, algunas propiedades relacionadas con el quitosano juegan un papel importante como por ejemplo la concentración de la solución usada y el peso molecular del quitosano<sup>39</sup>.

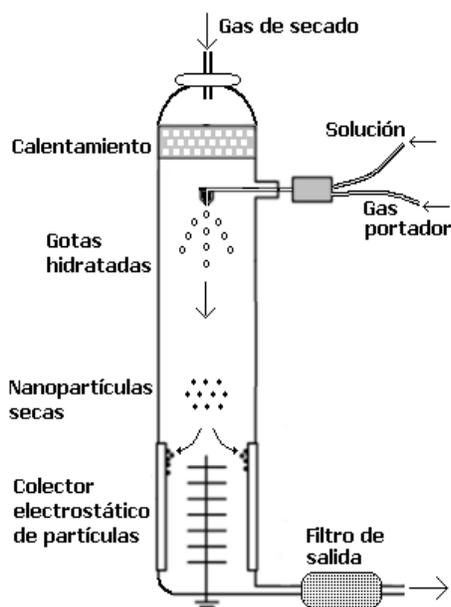
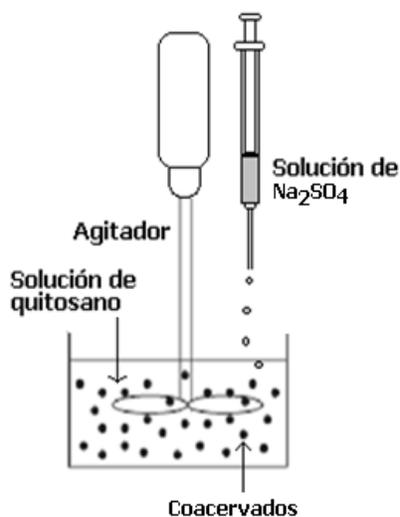


Fig. 8.3: Ilustración de un equipo para la preparación de NPs por el método de pulverización/ secado.

Coacervación/precipitación: un procedimiento comúnmente empleado para la preparación de NPs por esta vía consiste en dejar caer un volumen determinado de una solución de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ( $V_{\text{Na}_2\text{SO}_4}$ ) de concentración conocida ( $C_{\text{Na}_2\text{SO}_4}$ ) sobre un volumen fijo de una solución de quitosano en medio acuoso ácido, de concentración conocida, bajo agitación magnética constante. La mezcla obtenida se continúa agitando durante un tiempo previamente establecido, luego de lo cual los coacervados se separan por filtración a través de membranas con diámetros de poro mayores a 400 nm. Entre los parámetros que se deben controlar en este tipo de sistemas está la relación molar sulfato/amina ( $r_{\text{SA}}$ )<sup>40</sup>:

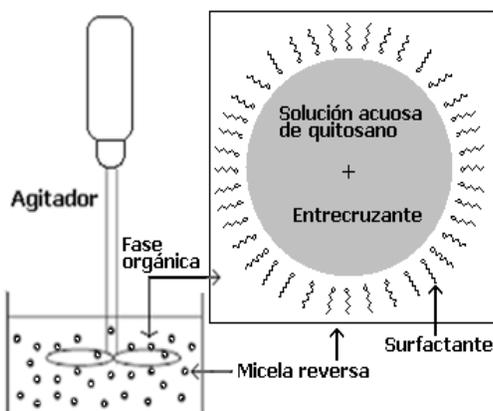
$$r_{\text{SA}} = n_{\text{Sulfato}}/n_{\text{Amina}} = V_{\text{Na}_2\text{SO}_4} \cdot C_{\text{Na}_2\text{SO}_4} / M_{\text{Na}_2\text{SO}_4} \cdot n_{\text{NH}_2} \quad (8.1)$$

donde  $n_{\text{NH}_2}$  es el número de equivalentes de grupos amina en la solución de quitosano y  $M_{\text{Na}_2\text{SO}_4}$  es la masa molar del sulfato de sodio. Existen variaciones de este procedimiento que incluyen el uso de surfactantes en la solución de quitosano, el uso de ultrasonido durante la agitación magnética, la separación de las NPs por centrifugación, etc. La figura 8.4 muestra un diagrama sencillo de este procedimiento.



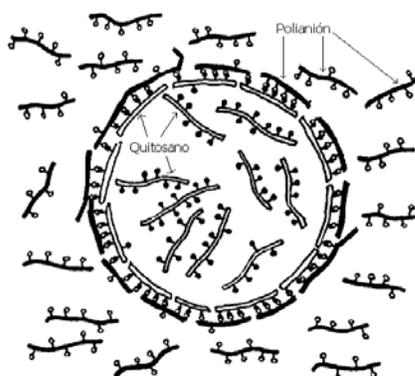
**Fig. 8.4:** Ilustración del procedimiento inicial para la formación de NPs de quitosano mediante el proceso de coacervación/precipitación con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

**Emulsificación reversa:** se prepara en primer lugar un sistema coloidal con micelas reversas usando un surfactante en un solvente orgánico; a este sistema se le añade una solución acuosa de quitosano, con agitación constante para evitar la formación de turbidez. El tamaño de las NPs puede ser aumentado agregando cantidades adicionales de agua. Luego de lograrse la estabilidad del sistema se le añade un agente entrecruzante covalente y se deja reaccionar durante el tiempo necesario con agitación constante. Posteriormente, se evapora el solvente orgánico para obtener una masa seca transparente, la cual es dispersada en agua, seguido de la adición de la sal adecuada para precipitar el surfactante. Éste es separado por centrifugación y la fase líquida sobrenadante, que contiene las NPs, es decantada, dializada y liofilizada<sup>41</sup>. Este método, aparte de ser tedioso, tiene la desventaja de usar surfactantes y solventes orgánicos que hacen difícil la purificación de las NPs obtenidas, una situación que puede limitarlo fuertemente para aplicaciones relacionadas con el transporte y liberación de agentes terapéuticos.



**Fig. 8.5:** Ilustración del procedimiento inicial para la formación de NPs de quitosano mediante el proceso de emulsificación reversa.

**Complejación polielectrolítica:** en principio, el sistema para producir este tipo de NPs puede ser muy similar al usado en la gelación ionotrópica o en la coacervación con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La diferencia sustancial con tales sistemas es que los polianiones usados para la formación de NPs por complejación polielectrolítica (formación de los llamados poliplejos) serán de naturaleza macromolecular, habiéndose usado incluso ADN para su preparación<sup>42</sup>. Otra diferencia importante es que este tipo de reacciones permite tener NPs con cargas positivas o negativa en su superficie externa, dependiendo de cuál solución de polielectrolito se deja gotear sobre la solución del otro. Adicionalmente, es posible construir NPs con un número variable de capas, las cuales se pueden ir formando por inmersión alternada de las NPs iniciales en las soluciones de los polielectrolitos de interés. La figura 8.6 muestra un arreglo hipotético de las moléculas de ambos polielectrolitos cuando se dejan caer gotas de una solución acuosa de quitosano sobre otra solución acuosa que contiene un polianión macromolecular.



**Fig. 8.6:** Un arreglo hipotético de las moléculas de quitosano y un polianión en la posible formación de NPs mediante el proceso de complejación polielectrolítica. Imagen modificada de Lárez *et al.*<sup>43</sup>.

#### 8.4.2. Algunas aplicaciones actuales de las NPs basadas en quitosano

Las aplicaciones de NPs de quitosano parecen no tener límites a juzgar por el creciente desarrollo de estos sistemas en diversos campos del quehacer científico y tecnológico, especialmente en el sector biotecnológico. Probablemente este éxito sea debido a la facilidad con que pueden obtenerse estos NMs mediante sistemas relativamente sencillos. La tabla 8.1 muestra algunas aplicaciones llamativas desarrolladas recientemente para estos sistemas.

**Tabla 8.1:** Algunas aplicaciones desarrolladas recientemente usando NMs basados en quitosano.

Aplicación	Área
Sistemas para la liberación oral segura y controlada de insulina <sup>44</sup>	Medicina
Sensores de presión <sup>45</sup>	Ingeniería
Preparación de catalizadores heterogéneos <sup>46</sup>	Catálisis
Preparación de electrodos selectivos <sup>47</sup>	Química analítica
Fabricación de biopelículas para envasado de alimentos <sup>48</sup>	Alimentos
Preparación de sistemas para terapia genética <sup>49</sup>	Medicina
Protección antibacterial de textiles <sup>50</sup>	Industria textil
Preparación de NPs con ingredientes naturales grado alimenticio <sup>51</sup>	Alimentos
Surfactantes ecológicos para dispersiones en petróleo <sup>52</sup>	Energía

A continuación se presentan, con un poco de más detalles, algunas de las aplicaciones de NPs de quitosano en agricultura, tratamientos de aguas y liberación controlada de fármacos.

**Aplicaciones en agricultura:** la quitina, y especialmente su derivado más conocido el quitosano, son utilizados actualmente en una amplia gama de aplicaciones relacionadas directamente con la agricultura, como por ejemplo en la protección antifúngica de semillas y plántulas, como bioestimulante de crecimiento e inductor de mecanismos de defensa en plantas, en la protección post-cosecha de flores y frutos, en la fabricación de películas para embalaje de productos agropecuarios, etc.<sup>53</sup>

Debido al conocimiento derivado del uso extendido de estos biomateriales, la búsqueda de optimizar sus prestaciones en el área agrícola mediante aproximaciones nanotecnológicas parece obvia. La tabla 8.2 presenta un breve listado de algunos estudios desarrollados recientemente sobre liberación controlada de agroquímicos usando NMs basados en quitosano.

La implementación de estos sistemas nanotecnológicos, que combinan la protección y la liberación controlada y eficiente de las sustancias biológicamente activas, puede permitir la disminución de los efectos ambientales y los costos económicos. Desde el punto de vista ambiental una liberación prolongada y en el sitio adecuado puede reducir la cantidad de agroquímicos que se deben usar; adicionalmente, la protección extra que pueden brindar los NMs a los agroquímicos debería lograr disminuir los niveles de riesgo efectivo para otros organismos del ecosistema. En tal sentido se asume que los NMs pueden llegar a proporcionar de manera sustentable una protección prolongada de los cultivos.

**Tabla 8.2:** Algunos estudios desarrollados recientemente sobre aplicaciones de NMs basados en quitosano para la liberación controlada de agroquímicos.

<b>Agroquímico estudiado</b>	<b>Forma de aplicación</b>
Insecticida Imidacloprid	Nanocristales del insecticida cubiertos con capas sucesivas de quitosano y alginato <sup>54</sup>
Plaguicida natural Azadiractina	Nanodispersiones del plaguicida en ricinoleato de carboximetilquitosano <sup>55</sup>
Insecticida Rotenona	Micelas poliméricas del insecticida formadas mediante micelización reversa <sup>56</sup>
Fertilizantes NPK	Incorporación del fertilizante en NPs de quitosano/ácido poliacrílico <sup>57</sup>
Fertilizantes K	Incorporación del fertilizante en NPs de quitosano/ácido poliacrílico <sup>58</sup>
Herbicida Paraquat	NPs de quitosano/tripolifosfato cargadas con el herbicida <sup>59</sup>
Biofungicida aceite esencial de orégano	Herbicida encapsulado en NPs de quitosano/tripolifosfato <sup>60</sup>

Por otro lado, existen diferentes avances nanotecnológicos que pueden resultar tremendamente útiles para el desarrollo sostenible de la agricultura y en los cuales el quitosano parece tener mucho que aportar. Por nombrar solo algunos de ellos se pueden mencionar la preparación de nanosensores para agroquímicos, el uso de nanosistemas

para la remediación de suelos y, aunque es un tema controversial, para la modificación genética de plantas.

Tan importante como lo detallado en los párrafos anteriores es también llamar la atención al hecho de que aun cuando la nanotecnología pareciera ser capaz de cumplir su promesa de optimizar los niveles de producción agrícola, la implementación de estos sistemas en el área, y en otras áreas del quehacer humano, envuelve grandes riesgos para la salud y el medio ambiente. Entre tales riesgos se debe destacar el desconocimiento cabal de los efectos a largo plazo del uso de nano-agroquímicos, el cual puede llegar a ser tan irracional como el que actualmente se practica con los agroquímicos tradicionales. Así, por ejemplo, Ávalo *et al.* han realizado una excelente revisión de los múltiples estudios realizados con NPs de plata<sup>61</sup>, coincidiendo con otros autores que algunos de estos estudios pueden derivar en NMs con potencial aplicación en la protección post-cosecha de frutos y en el envasado de alimentos<sup>62</sup>, por lo cual también alertan sobre los riesgos tóxicos de estas NPs de plata<sup>61</sup>.

Purificación de agua: la quitina y el quitosano han sido utilizados desde hace un buen tiempo en una amplia gama de procesos relacionados con la remoción de diversos contaminantes en la purificación de agua, como por ejemplo metales pesados<sup>63</sup> (considerando su mayor selectividad por los metales de transición del grupo III que por los metales de los grupos I y II a bajas concentraciones<sup>64</sup>), colorantes<sup>65</sup>, aceites<sup>66</sup>, plaguicidas<sup>67</sup>, etc. En ese sentido, se puede mencionar su uso como (a) agente coagulante<sup>68</sup>, (b) agente floculante<sup>69</sup>, (c) adsorbente<sup>70</sup> y (d) en la preparación de membranas de ultrafiltración<sup>71</sup>, etc.

En el caso específico de los adsorbentes, se debería esperar teóricamente que el uso de materiales basados en NPs favorezca sus capacidades adsorptivas debido a las características especiales de éstos, como su pequeño tamaño, un área superficial relativa mucho mayor y el efecto cuántico de tamaño<sup>72</sup>. En tal sentido, en el año 2004 Qi y Su evaluaron la adsorción de Pb(II) sobre NPs de quitosano preparadas por gelificación iónica con tripolifosfato (40–100 nm) y encontraron que éstas mostraron una alta capacidad adsorptiva (398 mg/g)<sup>73</sup>.

La tabla 8.3 muestra algunos sistemas basados en NMs preparados con quitosano que han sido evaluados para la remoción de diversos contaminantes en medio acuoso, incluyendo metales, colorantes, residuos de aceite y plaguicidas.

Liberación controlada de fármacos usando NPs de quitosano: el quitosano ha llamado poderosamente la atención para la preparación de NMs con aplicabilidad en la liberación “inteligente” de fármacos debido a las buenas propiedades de biocompatibilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad que posee, además de la amplia gama de reacciones de modificación química que lo hacen más versátil aún. En ese sentido, se han reportado diversos estudios sobre la preparación de sistemas específicos para el transporte y entrega efectiva de diferentes tipos de agentes terapéuticos, como por ejemplo genes, proteínas, hormonas, etc. Igualmente, las rutas de administración que se vienen ensayando son diversas: oral, nasal, intravenosa, ocular, etc. La tabla 8.4 presenta una breve lista de estudios que sobre el particular se han reportado recientemente.

**Tabla 8.3:** Algunos sistemas basados en NMs preparados con quitosano que han sido evaluados para la remoción de contaminantes en medio acuoso.

Contaminante	Sistema	Observaciones
Co(II)	Adsorbente: NPs magnéticas basadas en carboximetil-quitosano/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Adsorptividad máxima: 27,5 mg/g (557 mg/g basada en la masa de quitosano) <sup>74</sup>
Cu(II)	- Adsorbente: NPs magnéticas basadas en carboximetil-quitosano /Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - Adsorbente: nanocompositos de hidroxapatita/quitosano	Adsorptividad máxima: 21,5 mg/g <sup>75</sup> Adsorptividad máxima: 6,2 mg/g <sup>76</sup>
Zn(II)	Adsorbente: NPs magnéticas de quitosano injertado con β-ciclodextrina	Adsorptividad máxima: 5 mg/g <sup>77</sup>
Ácido rojo 25	Adsorbente: quitosano nanoporoso en polvo	Adsorptividad máxima: 1,03 mM/g <sup>78</sup>
Rojo congo	Adsorbente: nanocompositos de montmorillonita/quitosano	Adsorptividad máxima: mayor que el promedio de los componentes solos <sup>79</sup>
Eosin Y	Adsorbente: NPs de quitosano y TPP	Adsorptividad máxima: 3.333 mg/g <sup>80</sup>
Efluentes de aceite de palma	Coagulante: nanocompositos magnéticos de quitosano/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> / TPP	Una dosis de 250 mg/L reduce la turbidez a 98,8 % <sup>81</sup>
Permetrina	Adsorbente: compositos de quitosano/NPs de ZnO	0,5 g del adsorbente remueve 99% de permetrina en solución (25 mL, 0;1 ppm) <sup>82</sup>
Atracina	Absorbente: compositos de quitosano/NPs de Ag	Adsorptividad máxima: 0,5 mg/g <sup>83</sup>

**Tabla 8.4:** Algunos estudios reportados recientemente sobre el transporte y entrega efectiva de agentes terapéuticos usando NMs basados en quitosano.

Agente	Sistema	Observaciones
RNA de silenciamiento	NPs formadas por gelificación iónica de quitosano/tripolifosfato	El sistema muestra gran potencial para la liberación segura y efectiva <sup>84</sup> .
Plásmido ss-gal DNA	NPs formadas por complejación de quitosano/plásmido	La efectividad de la transfección depende del tipo de célula transfectada <sup>85</sup> .
Insulina	NPs formadas por gelificación iónica de quitosano/tripolifosfato	El sistema se considera prometedor para la administración de insulina <sup>86</sup>
Albúmina (suero) y hemoglobina bovina	NPs formadas por gelificación iónica de trimetil-quitosano/tripolifosfato	Alta eficiencia de carga para la albúmina (95 %) y baja para la hemoglobina (30%) <sup>87</sup>
Hormona paratiroidea humana 1-34	NPs de tiol-quitosano	El sistema resultó eficiente en la liberación oral del agente terapéutico <sup>88</sup>
Estradiol	NPs formadas por gelificación iónica de quitosano/tripolifosfato	Mejora considerablemente el transporte al sistema nervioso central <sup>89</sup>

A pesar de mostrar eficiencias generalmente bajas para la transfección genética, los sistemas de NPs preparadas con quitosano parecieran poder ser capaces de aprovechar la facilidad con la cual ellos se adhieren a las paredes celulares debido a las cargas positivas superficiales que aporta la protonación de los grupos amina en el quitosano. En ese sentido, los estudios de Lavertou *et al.* parecen apuntar a que el máximo de expresión transgénica ocurre cuando la relación GD/peso molecular va desde GD altos/pesos moleculares bajos hasta GD bajos/pesos moleculares altos. Estos investigadores ensayaron algunas formulaciones de NPs (tipo complejo quitosano/plásmido de

ADN) particularmente efectivas, las cuales han mostrado valores de eficiencia de transfección prometedoramente comparables a los obtenidos con los mejores controles positivos conocidos<sup>90</sup>.

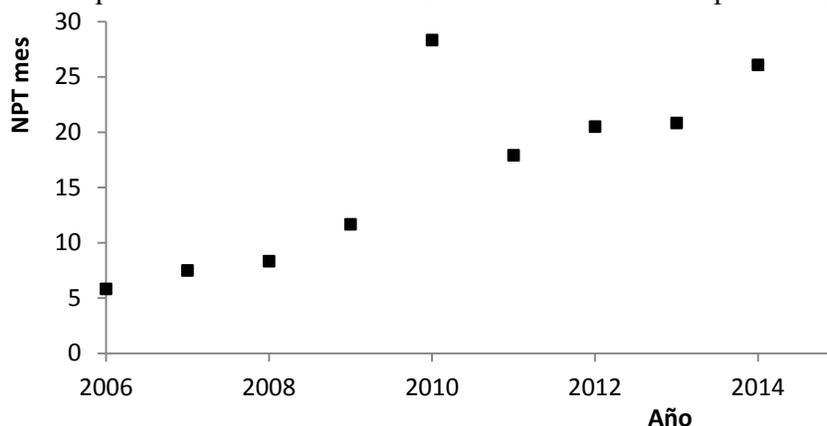
Por otra parte, la modificación química del quitosano pudiera ser una vía alternativa para la generación de nuevos NMs que permitan lograr mejores resultados en el área, como ha sido demostrado por la modificación del quitosano con ácido fólico, la cual permitió obtener una viabilidad celular de 80 %, que compite ventajosamente con el 30 % obtenido para un agente de transfección usual como el LipofectAMINE 2000<sup>91</sup>.

En lo que se refiere al transporte y liberación efectiva de agentes terapéuticos tipo proteína, el quitosano ha mostrado que puede asegurarles una mayor estabilidad al protegerlas de la degradación durante su tránsito por zonas que les resulten agresivas, así como también promover un mejor contacto con las biomembranas, lo que garantiza una mayor biodisponibilidad de éstas<sup>92</sup>.

Con relación a este tópico, se debe hacer finalmente un comentario especial sobre los nanosistemas basados en quitosano/tripolifosfato desarrollados por Rather *et al.* para la nano-liberación sostenida de la hormona gonadotropina (obtenida de salmón) en peces de prueba (carpa común). Estos sistemas produjeron una fertilización 13 % más alta que la inyección de la hormona sola<sup>93</sup>. Estos resultados pueden considerarse una evidencia clara de la protección que brinda el quitosano a la hormona, de la cual se conoce que posee una vida media corta en el torrente sanguíneo.

### 8.5. Tendencias futuras en NPs de quitosano

En la figura 8.7 se presenta la gráfica del número promedio de trabajos mensuales (NPT mes) que aparecen reseñados en Google Académico durante los últimos 10 años, cuando se realiza una búsqueda (sólo en el título de los trabajos) con la frase “*chitosan nanoparticles*”. Se puede apreciar claramente la tendencia creciente del número de trabajos que se viene publicando sobre el tema, lo que permite vislumbrar que el uso de NMs basados en quitosano debería extenderse notablemente en los próximos años.



**Fig. 8.7:** Promedio mensual del número de trabajos que contienen en su título la frase “*chitosan nanoparticles*” durante los últimos diez años. Resultados obtenidos con datos recabados mediante una búsqueda con Google Académico el día 28/05/2015.

Generalmente se asume que la atención especial que ha recibido el quitosano en la preparación de materiales para diversas aplicaciones se debe, en buena medida, a que es el único polisacárido policatiónico natural, lo cual ha permitido que se ensaye con éxito en donde se necesita de una interacción con sistemas cargados negativamente, como por ejemplo su uso como agente floculante en la remoción de partículas en el agua, sistema de transporte de agentes terapéuticos macromoleculares a través de membranas epiteliales, agente bactericida debido a su interacción con la membrana celular, etc. Igualmente, se puede aprovechar esta particularidad del quitosano en la modificación y/o preparación de NPs capa por capa, como se ha planteado, por ejemplo, en el cubrimiento de NPs de oro con quitosano para posteriormente encapsular si-ARN en capas más externas<sup>94</sup>.

Por otra parte, los estudios sobre la preparación y aplicación de NPs magnéticas basadas en quitosano deberían continuar extendiéndose en los próximos años, especialmente en el tratamiento de aguas, debido fundamentalmente a las ventajosas prestaciones que presentan. Estos NMs, debido a su mayor área superficial, no presentan los problemas de difusión interna que poseen los materiales de mayor tamaño y pueden ser separadas magnéticamente de las aguas ya tratadas<sup>95</sup>, además de ser seguramente más amistosas con el medio ambiente desde el punto de vista químico.

Finalmente, aunque el empleo de NMs basados en quitosano en el área agrícola se encuentre quizás en una etapa inicial, también parece que alcanzará un crecimiento acelerado en el futuro mediato debido a la necesidad de cambiar urgentemente la forma como se han venido usando los agroquímicos en los últimos años. En ese sentido, la nano-biotecnología basada en el quitosano parece tener mucho que aportar<sup>96</sup>.

## 8.6. Consideraciones finales

Como bien puede apreciarse de las secciones anteriores, los estudios sobre métodos de preparación, caracterización y aplicación de NPs basadas en quitosano parecieran tener garantizado un crecimiento sostenido durante los próximos años dada la gran cantidad de áreas en las que se investiga con este versátil material. Si, además, se consideran otras áreas de aplicación no tocadas en este capítulo, pero con igual o mayor actividad investigativa, como por ejemplo la preparación de sistemas analíticos de separación y detección de sustancias químicas, la construcción de nanosensores específicos para detección de enfermedades, contaminantes en aire, en aguas, en control de calidad de materiales, etc., se puede garantizar que el futuro de la tecnología basada NPs de quitosano luce promisorio.

## Referencias

1. SP Gubin. En: Magnetic Nanoparticles. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Alemania. Cap. 1 (2009).
2. P Moriarty. Nanostructured materials. **Rep. Prog. Phys.**, **64**, 297–381 (2001).
3. AI Gusev, AA Rampel. Nanokristallicheskie Materialy (Nanocrystalline Materials). Moscow, Fizmatlit (2001).
4. S Link, MA El-Sayed. Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. **J. Phys. Chem.**, **B103**, 4212–4217 (1999).

5. X Zhou , W Xu , G Liu , D Panda, P Chen. Size-Dependent Catalytic Activity and Dynamics of Gold Nanoparticles at the Single-Molecule Level. **J. Am. Chem. Soc.**, **132(1)**, 138–146 (2010).
6. AH Alshehri, M Jakubowska, A Młozniak, M Horaczek, D Rudka, C Free, JD Carey. Enhanced Electrical Conductivity of Silver Nanoparticles for High Frequency Electronic Applications. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, **4(12)**, 7007–7010 (2012).
7. A Lak, M Kraken, F Ludwig, A Kornowski, D Eberbeck, S Sievers, FJ Litterst, H Weller, M Schilling. Size dependent structural and magnetic properties of FeO–Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. **Nanoscale**, **5**, 12286-12295 (2013).
8. K Kaur, JA Forrest. Influence of Particle Size on the Binding Activity of Proteins Adsorbed onto Gold Nanoparticles. **Langmuir**, **28(5)**, 2736–2744 (2012).
9. SB Rao, CP Sharma. Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. **Mater. Res.**, **34(1)**, 21–28 (1997).
10. TJ Aspden, JDT Mason, NS Jones, J Lowe, Ø Skaugrud, L Illum. Chitosan as a nasal delivery system: The effect of chitosan solutions on *in vitro* and *in vivo* mucociliary transport rates in human turbinates and volunteers. **J. Pharm. Sci.**, **86(4)**, 509–513 (1997).
11. A Pastor. Quitina y Quitosano. Obtención, Caracterización y Aplicaciones. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima, Perú (2004).
12. T Chalonglarp, K Sorada, S Neeracha, P Rath, B Tanom, T Yasuhiko, D Siriporn. The influence of molecular weight of chitosan on the physical and biological properties of collagen/chitosan scaffolds. **J. Biomater. Sci. Polym. Ed.**, **18**, 147-163 (2007).
13. M Rinaudo. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Prog. Polym. Sci.**, **31**, 603-632 (2007).
14. C Lárez-Velásquez. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. **Rev. UDO-Agrícola**, **8(1)**, 1-22 (2008).
15. N Nwe, T Furuike, H Tamu. The Mechanical and Biological Properties of Chitosan Scaffolds for Tissue Regeneration Templates Are Significantly Enhanced by Chitosan from *Gongronella butleri*. **Materials**, **2**, 374-398 (2009).
16. T Cunha, B Teixeira, B Santos, M Almeida, G Dias, J das Neves. Biological and Pharmacological Activity of Chitosan and Derivatives, in Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics. B. Sarmento, J. das Neves (Eds.). John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK (2012).
17. S Ahmed, S Ikram. Chitosan & Its Derivatives: A Review in Recent Innovations. **Int. J. Pharm. Sci. Res.**, **6(1)**, 14-30 (2015).
18. ISO/DTS 80004-2:2015. Nanotechnologies - Vocabulary - Part 2: Nano-objects.  
**Disponible en:** [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail.htm?csnumber=54440](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=54440)
19. ASTM E2834-12. Standard Guide for Measurement of Particle Size Distribution of Nanomaterials in Suspension by Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.  
**Disponible en:** [www.astm.org](http://www.astm.org)
20. VJ Mohanraj, Y Chen. Nanoparticles: -a review. **Trop. J. Pharm. Res.**, **5(1)**, 561-573 (2007).
21. A Garg, S Visht, P Kumar Sharma, N Kumar. Formulation, Characterization and Application on Nanoparticle: A Review. **Der Pharmacia Sinica**, **2(2)**, 17-26 (2011).
22. A Kumar Nayak, A Kumar Dhara. Nanotechnology in drug delivery applications: A review. **Archives of Applied Science Research**, **2(2)**, 284-293 (2010).

23. VT Huynh, W Scarano, MH Stenzel. Drug Delivery Systems for Platinum Drugs. Nanopharmaceutics: En: Nanopharmaceutics: The Potential Application of Nanomaterials. XJ Liang (Ed.). World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Singapore. Pag. 201-241 (2013)
24. Y Ohya, M Shiratani, H Kobayashi, T Ouch. Release behaviour of 5-fluorouracil from chitosan-gel nanospheres immobilizing 5-fluorouracil coated with polysaccharides and their cell specific cytotoxicity. **Pure Appl. Chem.**, **A31**, 629-642 (1994).
25. HQ Mao, K Roy, SM Walsh, JT August, KW Leong. DNA-chitosan nanospheres for gene delivery. **Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.**, **Kyoto, Japan**, **23**, 401-402 (1996).
26. P Calvo, C Remunan-Lopez, JL Vila-Jato, MJ Alonso. Novel hydrophilic chitosan-poly-ethylene oxide nanoparticles as protein carrier. **J. Appl. Poly. Sci.**, **63**, 125-132 (1997).
27. XX Tian, MJ Groves. Formulation and biological activity of antineoplastic proteo-glycans derived from mycobacterium vaccae in chitosan nanoparticles. **J. Pharm. Pharmacol.**, **51**, 151-157 (1999).
28. SA Agnihotri, NN Mallikarjuna, TM Aminabhavi. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **J. Cont. Release**, **100**, 5-28 (2004).
29. FM Goycoolea-Valencia, C Remuñán López, MJ Alonso. Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano. En: (Vila Jato, J.L. ed.) Nanotecnología Farmacéutica: Realidades y posibilidades farmacoterapéuticas. Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid, España. Pag. 103-131 (2009).
30. JJ Wang, ZW Zeng, RZ Xia, T Xie. GL Zho, XR Zhan, SL Wang. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. **Int. J. Nanomedicine**, **6**, 765-774 (2011).
31. H Peniche, C Peniche. Chitosan nanoparticles: a contribution to nanomedicine. **Polym. Int.**, **60**, 883-889 (2011).
32. MA Elgadir, MS Uddin, S Ferdosh, A Adam, AJ Khan Chowdhury, MZ Islam Sarker. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. **J. Food and Drug Analysis**, (2014). En prensa. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.10.008.
33. A Nasti, NM Zaki, PD Leonardis, S Ungphaiboon, P Sansongsak, MG Rimoli, N Tirelli. Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: systematic optimization of the preparative process and preliminary biological evaluation. **Pharm. Res.**, **26**, 1918-1930 (2009).
34. AH Lin, YM Liu, QN Ping. Free amino groups on the surface of chitosan nanoparticles and its characteristics. **Yao Xue Xue Bao.**, **42**, 323-328 (2007).
35. M da Silva Barbi, F ChivaCarvalho, P Charlene Kiüll, B Da Silva, SH Santagneli, SJ Lima Ribeiro, MP DaflonGremião. Preparation and Characterization of Chitosan Nanoparticles for Zidovudine Nasal Delivery. **J. Nanosc. Nanotech.**, **15(1)**, 865-874 (2015)
36. FS Majedi, MM Hasani-Sadrabadi, SH Emami, M T aghipoor, E Dashtimoghadam, A B ertsch, H Moaddel, P Renaud. Microfluidic synthesis of chitosan-based nanoparticles for fuel cell applications. **Chem. Commun.**, **48(62)**, 1359-7345 (2012).
37. JG Ji, SL Hao, J Dong, JF Zhang, J Li, Y Xu. Preparation of Chitosan/Cyclodextrin/Trisodium Citrate Nanoparticles for the Poor-Water Drug Carrier Material. **Adv. Mat. Res.**, **152-153**, 1356-1359 (2010).
38. MMA Al-Remawi. Properties of Chitosan Nanoparticles Formed Using Sulfate Anions as Crosslinking Bridges. **Amer. J. App. Sci.**, **9(7)**, 1091-1100 (2012).
39. LT Kim, SL Wang, ĐM Hiep, PM Luong, NT Vui, T M Đinh, NA Dzung. Preparation of chitosan nanoparticles by spray drying, and their antibacterial activity. **Research on Chemical Intermediates**, **40(6)**, 2165-2175 (2014).
40. IS Tavares, ALPF Caroni, AD Neto, MR Pereira, JLC Fonseca. Surface charging and dimensions of chitosan coacervated nanoparticles. **Coll. Surf. B**, **90**, 254-258 (2012).

41. S Mitra; U Gaur; PC Ghosh; AN Maitra. Tumour targeted delivery of encapsulated dextran–doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. **J. Control. Release**, **74(1-3)**, 317-323 (2001).
42. M Agirre, J Zarate, E Ojeda, G Puras, J Desbrieres, JL Pedraz. Low Molecular Weight Chitosan (LMWC)-based Polyplexes for pDNA Delivery: From Bench to Bedside. **Polymers**, **6**, 1727-1755 (2014).
43. C Larez-Velásquez, V Crescenzi, M Dentini, A Ciferri. Assemblies of amphiphilic compounds over rigid polymers: 2. Interaction of sodium dodecylbenzenesulfonate with chitosan-scleraldehyde gels. **Supramolecular Science**, **2(3-4)**, 141-147 (1995).
44. P Mukhopadhyay, S Chakraborty, S Bhattacharya, R Mishra, PD Kundu. pH-sensitive chitosan/alginate core-shell nanoparticles for efficient and safe oral insulin delivery. **Int. J. Biol. Macromol.**, **72**, 640-648 (2015).
45. K Praveenkumar, MK Rabinal, MN Kalasad, T Sankarappa, MD Bedre. Chitosan capped Silver nanoparticles used as Pressure sensors. **J. App. Phys. (IOSR-JAP)**, **5(5)**, 43-51 (2014).
46. A Murugadoss, H Sakurai. Chitosan-stabilized gold, gold–palladium, and gold–platinum nanoclusters as efficient catalysts for aerobic oxidation of alcohols. **J. Mol. Catal.**, **A341(1)**, 1-6 (2011).
47. S Prakash, Y Chakraborty, AK Singh, VKShahi. Silver nanoparticles built-in chitosan modified glassy carbon electrode for anodic stripping analysis of As (III) and its removal from water. **Electrochimica Acta**, **72**, 157-164 (2012).
48. MR de Moura, MV Lorevice, LHC Mattoso, V Zucolotto. Highly Stable, Edible Cellulose Films Incorporating Chitosan Nanoparticles. **J. Food Science**, **76(2)**, 25-29 (2011).
49. R Jayakumar, KP Chennazhi, RAA Muzzarelli, H Tamura, SV Nair, N Selvamurugan. Chitosan conjugated DNA nanoparticles in gene therapy. **Carboh. Polym.**, **79(1)**, 1–8 (2010).
50. A Farouk, S Moussa, M Ulbricht, T Textor. ZnO Nanoparticles–Chitosan Composite as Antibacterial Finish for Textiles. **Int. J. Carboh. Chem.**, **Vol. 2012** (2012). Article ID 693629, 8 pages. DOI: 10.1155/2012/693629.
51. ACK Sato, MAC Quintas, AA Vicente, RL Cunha. AC Food grade nanoparticles obtained from natural source ingredients. ICEF11 - 11th International Congress on Engineering and Food: Food Process Engineering in a Changing World (Proceedings), II, 1069-1070 (2011). Athens, Greece, May 22-26. ISBN: 978-960-89789-4-2.
52. AM Al-Sabagha, RE Morsia, MZ Elsabeeb, HF Naguib, YM Moustafaa. Petroleum Oil Dispersion Efficiency and Stability Using Eco-Friendly Chitosan-Based Surfactant and Nanoparticles. **J. Disper. Sci. Technol.**, **33(11)**, 1661-1666 (2012).
53. C 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).
54. H Guan, D Chi, J Yu, X Li. A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, **92**, 83–91 (2008).
55. BH Feng, LF Peng. Synthesis and characterization of carboxymethyl chitosan carrying ricinoleic functions as an emulsifier for azadirachtin. **Carbohyd. Polym.**, **88**, 576–582 (2012).
56. SB Lao, ZX Zhang, HH Xu, GB Jiang. Novel amphiphilic chitosan derivatives: synthesis, characterization and micellar solubilization of rotenone. **Carbohyd. Polym.**, **82(4)**, 1136-1142 (2010).
57. E Corradini, MR De Moura, LHC Mattoso. A preliminary study of the incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. **Express Polymer Lett.**, **4**, 509-515(2010).

58. NMA Hasaneen, HMM Abdel-Aziz, DMA El-Bialy, AM Omer. Preparation of chitosan nanoparticles for loading with NPK fertilizer. **Afr. J. Biotechnology**, **13(31)**, 3158-3164(2014).
59. R Grillo, AE Pereira, CS Nishisaka, R de Lima, K Oehlke, R Greiner, LF Fraceto. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control. **J. Hazardous Materials**, **278**, 163-171 (2014).
60. SF Hosseini, M Zandi, M Rezaei, F Farahmandghavi. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydr. Polym.**, **95(1)**, 50-56 (2013).
61. A Ávalo, AI Haza, D Mateo, P Morales. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. **Revista Complutense de Ciencias Veterinarias**, **7(2)**, 1-23 (2013).
62. R Yoksan, S Chirachanchai. Silver nanoparticle-loaded chitosan-starch based films: fabrication and evaluation of tensile, barrier and antimicrobial properties. **Mater. Sci. Eng. C.**, **30**, 891-897 (2010).
63. AJ Varma, SV Deshpandea, LF Kennedy. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. **Carbohydr. Polym.**, **55**, 77-93 (2004).
64. RAA Muzzarelli. Alginic acid, chitin and chitosan. En: Natural chelating polymers. 1st Edition, pp. 177-227. Englewood Cliffs, NJ. Pergamon Press (1973).
65. A Cestari, F Vieira, A dos Santos, J Mota, V de Almeida. Adsorption of anionic dyes on chitosan beads. 1. The influence of the chemical structures of dyes and temperature on the adsorption kinetics. **J. Coll. Interf. Sci.**, **280**, 380-386 (2004).
66. A Ahmad, S Sumathi, B Hammed. Chitosan: A natural biopolymer for the adsorption of residue oil from oily wastewater. **Adsorp. Sci. Technol.**, **22**, 75-88 (2004).
67. C Lárez-Velásquez, E Millán Barrios. Chitosan for pesticide control on environmental protection and water purification. En: Water purification. N Gertsen and L Sonderby (Eds.). Nova Science Publishers, Inc. Chapter 4 (2009).
68. S Bratskaya, V Avramenko, S Sukhoverkhov, S Schwarz. Flocculation of humic substances and their derivatives with chitosan. **Coll. J.**, **64**, 681-685 (2002).
69. R Divakaran, V Pillai. Flocculation of kaolinite suspensions in water by chitosan. **Water Res.**, **35**, 3904-3908 (2001).
70. G Crini. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. **Prog. Polym. Sci.**, **30**, 38-70 (2005).
71. S Verbych, M Bryk, AAlpatova, G Chornokur. Ground water treatment by enhanced ultrafiltration. **Desalination**, **179**, 237-244 (2005).
72. N Savage, MS Diallo. Nanomaterials and water purification: Opportunities and challenges. **J. Nanoparticle Research**, **7**, 331-342 (2005).
73. L Qi, Z Xu. Lead sorption from aqueous solutions on chitosan nanoparticles. **Coll. Surf. A.**, **251(1-3)**, 183-190 (2004).
74. YC Chang, SW Chang, DH Chen. Magnetic chitosan nanoparticles: Studies on chitosan binding and adsorption of Co(II) ions. **React. Funct. Polym.**, **66**, 335-341 (2006).
75. YC Chang, DH Chen. Preparation and adsorption properties of monodisperse chitosan-bound Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for removal of Cu(II) ions. **J. Coll. Interf. Sci.**, **283(2)**, 446-451 (2005).
76. MR Gandhi, GN Kousalya, S Meenakshi. Removal of copper(II) using chitin/chitosan nano-hydroxyapatite composite. **Int. J. Biol. Macromol.**, **48**, 119-124 (2010).

77. K Karimnezhadi, AMoghim. Extraction of Zn(II) Using Magnetic Chitosan Nanoparticles Grafted with  $\beta$ -cyclodextrin and Determination by FAAS. **Oriental J. Chemistry**, **30(1)**, 95-103 (2014).
78. WH Cheung, YS Szeto, G McKay. Intraparticle diffusion processes during acid dye adsorption onto chitosan. **Bioresource Technology**, **98(15)**, 2897-2904 (2007).
79. L Wang, A Wang. Adsorption characteristics of Congo Red onto the chitosan/mont-morillonite nanocomposite. **J. Hazard. Mater.**, **147**, 979-985 (2007).
80. WL Du, ZR Xu, XY Han, YL Xu, ZG Miao. Preparation, characterization and adsorption properties of chitosan nanoparticles for eosin Y as a model anionic dye. **J. Hazard Mater.**, **153(1-2)**, 152-156 (2008).
81. N Saifuddin, S Dinara. Pretreatment of Palm Oil Mill Effluent (POME) Using Magnetic Chitosan. **E-J. Chem.**, **8(S1)**, 67-78 (2011).
82. S Moradi-Dehaghi, B Rahmanifar, A Mashinchian-Moradi, P Aberoomand-Azar. Removal of permethrin pesticide from water by chitosan-zinc oxide nanoparticles composite as an adsorbent. **J. Saudi Chem. Soc.**, **18**, 348-355(2014).
83. N Saifuddin, CY Nian, LW Zhan, KX Ning. Chitosan-silver Nanoparticles Composite as Point-of-use Drinking Water Filtration System for Household to Remove Pesticides in Water. **Asian J. Biochem.**, **6**, 142-159 (2011).
84. H Katas, H Alpar. Development and characterization of chitosan nanoparticles for si-RNA delivery. **J. Control. Release**, **115(2)**, 216-225 (2006).
85. K Corsi, F Chellat, L Yahia, JC Fernandes. Mesenchymal stem cells, MG63 and HEK293 transfection using chitosan-DNA nanoparticles. **Biomaterials**, **24**, 1255-1264(2003).
86. L Zhao, C Su, B Zhu, Y Jia. Development and Optimization of Insulin-Chitosan Nanoparticles. **Trop. J. Pharm. Res.**, **13(1)**, 3-8 (2014).
87. F Chen, ZR Zhang, Y Huang. Evaluation and modification of N-trimethyl chitosan chloride nanoparticles as protein carriers. **Int. J. Pharm.**, **336(1)**, 166-173 (2007).
88. D Narayanan, AAnitha, R Jayakumar, KP Chennazhi. PTH 1-34 loaded thiolated chitosan nanoparticles for osteoporosis: oral bioavailability and anabolic effect on primary osteoblast cells. **J Biomed. Nanotechnol.**, **10(1)**, 166-178(2014).
89. X Wang, N Chi, X Tang. Preparation of estradiol chitosan nanoparticles for improving nasal absorption and brain targeting. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, **70(3)**, 735-740 (2008).
90. M Lavertu, S Methot, N Trankhanh, M B uschmann. High efficiency gene transfer using chitosan/DNA nanoparticles with specific combinations of molecular weight and degree of deacetylation. **Biomaterials**, **27(27)**, 4815-4824 (2006).
91. S Mansouri, Y C uie, F Winnik, Q Shi, P Lavigne, M Benderdour, E Beaumont, JC Fernandes. Characterization of folatechitosan-DNA nanoparticles for gene therapy. **Biomaterials**. **27(9)**, 2060-2065 (2006).
92. M Amidi, E Mastrobattista, W Jiskoot, WE Hennink. Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, **62(1)**, 59-82 (2010).
93. MA Rather, R Sharma, S Gupta, S Ferozekhan, VL Ramya, SB Jadhao. Chitosan-Nanoconjugated Hormone Nanoparticles for Sustained Surge of Gonadotropins and Enhanced Reproductive Output in Female Fish. **PLoS ONE**, **8(2)**, e57094 (2013).
94. L Han, J Zhao, X Zhang, W Cao, X Hu, G Zou G. *et al.* Enhanced siRNA Delivery and Silencing Gold-Chitosan Nanosystem with Surface Charge-Reversal Polymer Assembly and Good Biocompatibility. **ACS Nano**, **6**, 7340-7351 (2012).

- 
95. YC Chang, SW Chang, DH Chen. Magnetic chitosan nanoparticles: Studies on chitosan binding and adsorption of Co(II) ions. **Reactive and Functional Polymers**, **66 (3)**, 335–341 (2006).
  96. PL Kashyap, X Xiang, P Heiden. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. Aceptado en **Int. J. Biol. Macrom.** (2015).  
**Disponible en:** <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>