



Revista Virtual Pro
ISSN 1900-6241
Bogotá, Colombia
info@revistavirtualpro.com
www.revistavirtualpro.com

2013

Heimy Franceline Martínez Sánchez, Amada Yerén Escobedo Lozano, Alfredo Emmanuel Vázquez Olivares y Manuel de Jesús Sol Hernández

Elaboración de un gel biodegradable a base de quitosano con efecto cicatrizante
Instituto Tecnológico de Mazatlán, Departamento de Química y Bioquímica
Mazatlán, México

Elaboración de un gel biodegradable a base de quitosano con efecto cicatrizante

(Elaboration of a Chitosan-based Biodegradable Gel with Healing Effect)

Heimy Franceline Martínez Sánchez¹, Amada Yerén Escobedo Lozano², Alfredo Emmanuel

Vázquez Olivares³ y Manuel de Jesús Sol Hernández⁴

Instituto Tecnológico de Mazatlán, Departamento de Química y Bioquímica

Calle corsario 1 No. 203, Col. Urías

Mazatlán, México

¹heimy_france@hotmail.com, ²amadayerene@yahoo.com, ³Alfredo_emma@yahoo.com,

⁴solhema@hotmail.com

Resumen

México se caracteriza por su elevada producción camaronícola, destacando el camarón cultivado *Litopennaeus vannamei* (160 015 ton. anuales). En el año 2010 CONAPESCA dió a conocer que esta especie genera 10% de la producción neta (16 001,5 ton.) de desechos de exoesqueleto. Para atender esta problemática, se propone la obtención de quitosano de los exoesqueletos desechados del camarón a través de un tratamiento químico y caracterizarlo a su grado farmacéutico para su posterior mezclado con un gel base (carbopol y trietanolamina). Ello permite obtener el producto del gel de quitosano, el cual es biodegradable y amigable con el medio ambiente. Asimismo, presenta un efecto cicatrizante sin toxicidad alguna, lo cual podría contribuir en la disminución de problemas en la piel (incidencia de 62%) —quemaduras, heridas y, principalmente, diabetes—, en cuyo tratamiento se emplean normalmente diversos productos químicos que podrían ocasionar toxicidad. Además, será evaluado posteriormente como coadyuvante en la regeneración y cicatrización de heridas en la piel en un ensayo *in vivo*.

Palabras clave: ciencia de materiales, biopolímeros, gel, biodegradable, quitosano, cicatrizante, exoesqueleto, camarón, *Litopennaeus vannamei*, heridas

Abstract

Mexico is characterized by its high production of shrimp, especially farmed *Litopennaeus vannamei* (160 015 ton per year). According to CONAPESCA (2012), 10% of net exoskeleton waste production (16 001.5 ton.) comes from this species. As a way to address this issue, obtaining chitosan from these

exoskeleton through chemical treatment and its pharmaceutical grade characterization for further mixing with raw gel (carbopol and triethanolamine) is proposed. This makes it possible to obtain biodegradable, environmentally friendly chitosan gel. Its non-toxic healing effect could contribute to diminish skin problems —burns, wounds and diabetes—, normally treated by other chemical (and possibly toxic) products. It will be further evaluated as coadjutant for skin wound regeneration and healing in an *in vivo* assay.

Keywords: materials science, biopolymers, gel, biodegradable, chitosan, healing, exoskeleton, shrimp, *Litopenaeus vannamei*, wounds

Introducción

México se caracteriza por su gran productividad camaronícola, en especial el cultivo de camarón blanco (*Litopennaeus vannamei*), el cual asciende a una producción de 160 000 toneladas anuales que representa 70% del en el país (CONAPESCA, 2010).

La producción de camarón está acompañada por la generación de una gran cantidad de desechos de exoesqueleto y cabeza que son arrojados en las costas, marismas o basureros, lo que ocasiona contaminación terrestre y eutroficación en los ecosistemas acuáticos y, por consiguiente, la pérdida de biodiversidad y productividad (Wu *et al*, 2011). La polución generada por los residuos derivados del procesamiento de esta especie llegan a 30% de la producción, de la cual 10 a 20% corresponde al exoesqueleto y 20% a cabeza (CONAPESCA, 2010).

Aun cuando el desarrollo sustentable exige al máximo el aprovechamiento de los recursos (Segrelles, 2008), esto no se cumple, ya que los exoesqueletos del camarón son desperdiciados y, con ello, se anula la utilidad del empleo de biomoléculas de alta demanda mundial, cuyos usos van desde la industria y agricultura (Abdelbasset, Lorne, Ismail y Fouad, 2010) hasta la industria farmacéutica y biomédica (Jiali *et al*, 2010).

El exoesqueleto del camarón blanco *Litopennaeus vannamei* contiene un alto porcentaje de quitina (30-40%) (Pastor, 2004). Esta se puede extraer y obtenerse —mediante hidrólisis ácida y alcalina— el polisacárido conocido comúnmente como quitosano, y utilizarlo a su vez en la formulación de un gel biodegradable de quitosano. Cabe destacar que no existe en la actualidad este producto como tal, pero existen similares que no hacen mención de la especie utilizada (García y Roca, 2008), así como ungüentos elaborados a partir de cangrejo *Cancer cetosus* u otras especies de crustáceos (Baltodano y Yaipen, 2006).

El gel de quitosano biodegradable puede contribuir a la cicatrización y contrarrestar la incidencia de heridas y quemaduras ocasionadas en la piel, las cuales se han incrementado alrededor del mundo. Tan solo en México, de acuerdo a estudios realizados por el INEGI (2009), 62% de la población ha sufrido algún tipo de accidente que implicó alteraciones en la piel. Además de los daños dermatológicos por

quemaduras, se presentan casos de afecciones cutáneas en las personas que padecen diabetes quienes, como consecuencia de este padecimiento, sufren problemas de cicatrización, engrosamiento y endurecimiento en la piel (Piérard, Seité, Hermanns-Lê, Delvenne, Scheeny y Piérard-Franchimont, 2013; Tsourdi, Barthel, Rietzsch, Reichel, y Bornstein, 2013).

Estos problemas son atendidos con geles cicatrizantes a base de hialuronatos de zinc y sodio (Illés, Jávör y Sziártó, 2002) y ketanserina elaborados con sustancias químicas (Lawrence, Matthews y Cox, 1995; Salazar, León, Serrano y Torres, 2000; Liu *et al*, 2011), lo que los hace toxigénicos con mínima biocompatibilidad y biodegradabilidad nula; además, ello genera contaminación al medio ambiente, ya que poseen una estructura compleja de ceras derivadas de hidrocarburos (Espinosa *et al*, 2012) y permanece por muchos años en este, lo que le permite entrar en contacto con otras sustancias como metales y posiblemente ocasionar una biomagnificación de la toxicidad en organismos que se encuentren en su entorno, alterando los ecosistemas expuestos a este agente (Irache, 2007). También existen ungüentos (ceras) con quitosano obtenido de caparazón de cangrejo que presentan menor toxicidad (Baltodano y Yapen, 2007) y brindan solución a los problemas de la piel, pero no son biodegradables.

Este trabajo contribuye en la recuperación de quitosano contenido en los desechos del camarón de la especie *Litopenaeus vannamei*,, posibilitando la solución del impacto que se ocasiona en el ambiente (condiciones anóxicas de los ecosistemas) de dos formas: evitando arrojar los exoesqueletos del camarón en las costas y usando estos desperdicios en la elaboración de un gel que, además, sustituiría aquellos productos químicos que no son biodegradables y que se emplean en los procesos de cicatrización. Actualmente este gel de quitosano es utilizado para la reconstitución de la piel dañada por heridas o quemaduras en un ensayo *in vivo*; asimismo, se encuentra en proceso de gestión de patente en el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (MX/a/2013/085B66).

Materiales y métodos

Tras la recolección de la materia prima —exoesqueleto de camarón blanco cultivado—, esta se lavó, secó y molió en una licuadora industrial. Posteriormente fue sometida a un tratamiento químico basado en tres

etapas. En primer lugar una desmineralización con ácido clorhídrico (HCl) con relación p/p 1:10 a 37°C por tres horas, seguido de una desproteización con hidróxido de sodio (NaOH) con relación p/p 1:10 a un intervalo de temperatura de 50-60°C por dos horas (Shahidi y Synowiecki, 1991). De aquí se obtuvo quitina, la cual se caracterizó de acuerdo a los parámetros establecidos por Gamage y Shahidí (2007). Finalmente se obtuvo quitosano al aplicar una etapa de desacetilación para la cual se empleó NaOH líquido al 50%, relación p/p 1:10 a 80°C por tres horas.

En las transiciones de una etapa a otra se efectuaron lavados de los respectivos productos con ayuda de un tamiz de acero inoxidable de 0,0016 μm de diámetro hasta obtener pH neutro; cada una de las etapas se realizó en matraz de 1 L colocados en planchas electromagnéticas marca ThermoScientific con un intervalo de temperatura de 200°C.

Posteriormente, con el fin de obtener quitosano grado farmacéutico, el polisacárido se purificó aplicando técnicas de disolución, filtrado con bomba de vacío y centrifugado a una velocidad de 8000 rpm durante 15 min. a 29°C en una centrífuga ThermoScientific (CIMAREC). Enseguida se efectuó la caracterización del quitosano, en la cual se determinó lo siguiente: contenido de cenizas acorde con el método establecido por NMX-F-083-1986; porcentaje de humedad según el método establecido por NMX-F-066-S-1978; porcentaje de grasas y aceites de acuerdo a la metodología de NMX-AA-005-SCFI-2000; porcentaje de nitrógeno con base en el método establecido por NMX-068-S-1980.

El grado de desacetilación se llevó a cabo según el método de valoración titulométrica, midiendo el pH cada 2 mL con un potenciómetro ThermoScientific modelo Orion Star en una disolución de 0,04 g de quitosano en 35 ml de ácido clorhídrico 0,01 M, valorada con hidróxido de sodio 0,1 M. El peso molecular se determinó por el método viscosimétrico, para lo cual se empleó un viscosímetro capilar tipo Ostwald equipado con un baño termostático para mantener una temperatura de 25°C. Se estableció el tiempo de caída a partir de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada.

Una vez caracterizado el quitosano y corroborando que cumple los parámetros para ser utilizado en el área farmacéutica, se procedió a la elaboración del gel biodegradable. En primer lugar se preparó el gel base agregando agua tibia (30°C) en el recipiente de la agitadora; enseguida se incorporaron carbopol

50% p/p, trietanolamina 40% p/p (Abdullah *et al*, 2011; Karavana *et al*, 2012) y alcohol 9,7% p/p con agitación constante a 300 rpm durante 15 min. hasta lograr una mezcla homogénea. Luego se agregó el quitosano (ingrediente activo) en concentraciones de 0,15% y 0,30% (p/p). Una vez obtenidas las diversas concentraciones, se envasaron en frascos de polietileno de 100 g previamente esterilizados (García y Roca, 2008).

Resultados y discusión

La quitina obtenida cumplió con los parámetros de color, textura y solubilidad, lo que permitió que fuera transformada en quitosano. Se obtuvo un rendimiento de 31% —310 g a partir de 1 kg de exoesqueleto molido—, el cual se encuentra por encima del máximo rendimiento logrado de camarón (30%, especie no especificada) reportado por Hernández *et al* (2009). Una vez purificado el polisacárido, se obtuvo su grado farmacéutico con un rendimiento de 20,55% —205,5 g a partir de 1 kg de exoesqueleto molido—, siendo superior al máximo rendimiento alcanzado por Gacén y Gacén (1996) (10%, especie no especificada) y por Baltodano y Yaipen (2007) (7,02% , cangrejo especie *cancer cetosus*).

En el área biomédica, específicamente en la aceleración de curación de heridas, se requiere que el quitosano muestre valores bajos de contenido de grasas ya que, de no ser así, los grupos acetilos permanecen ocupados por las grasas, lo que obstruye la posible interacción con las proteínas de adhesión celular encargadas de la formación de fibrillas y enlaces con el colágeno y retarda el proceso de cicatrización y regeneración de la piel (Arce, 2011). En nuestro caso, la caracterización fisicoquímica del quitosano grado farmacéutico arrojó un contenido de grasas y aceites de $0,8 \pm 0,2160$ g/kg, adecuado para su aplicación en la aceleración de curación de heridas y que, al mismo tiempo, conserva su propiedad de biodegradabilidad.

Es importante la cuantificación de diversos parámetros. El porcentaje de cenizas indica la presencia de impurezas de tipo mineral, como el calcio contenido en sales de CaCO_3 , o incluso la existencia de contaminantes metálicos y productos de ignición que son retenidos en la etapa de desacetilación; en nuestro caso, el valor obtenido fue de 0,51%. Con respecto al porcentaje de humedad, su resultado dictamina el proceso de manipulación que se le dará al quitosano, debido a que es un compuesto

altamente higroscópico; nuestro quitosano arrojó un valor de 2,73%, lo que facilita su almacenamiento y es un parámetro importante a considerar al efectuar otros análisis de caracterización (Khan, Peh y Ch'ng, 2002). Por su parte, la evaluación del contenido de nitrógeno permite corroborar la presencia de grupos amino, cuyo interés es su aporte anfotérico y bacteriostático al gel de quitosano un carácter anfotérico y bacteriostático (Kulkarni, Kulkarni, Keshavayya, Hukkeri, y Sung, 2005); el valor para nuestro caso fue de 6,23%

Los resultados de la caracterización de estos parámetros indican que el proceso empleado para la obtención de quitosano propicia la reducción de impurezas y aporta mayor biodegradabilidad (Dong, Xu, Wang, Wang, Wu y Ruan, 2000).

Tabla 1. Resultados de peso molecular y grado de desacetilación de quitosano para aplicaciones farmacéuticas

Investigaciones que aplicaron quitosano en la farmacéutica	Peso molecular g/mol	Grado de desacetilación
Esta investigación	1,0 x10 ⁵	72,4%
Khodaverdi <i>et al</i> (2012)	1,3 x10 ⁵	75%-85%
Xu <i>et al</i> (2013)	1,6 x10 ⁵	75%-85%
Cao <i>et al</i> (2009)	5,0 x10 ⁴ a 1,9 x10 ⁵	75%-85%
Wiśniewska-Wrona <i>et al</i> (2002)	1.4 x10 ⁵	82%-85%

Fuente: elaboración propia (2013)

Dentro de la caracterización de quitosano grado farmacéutico, los parámetros a evaluar más destacados son porcentaje de grado de desacetilación y el peso molecular, ya que estos marcan la pauta para determinar si un quitosano puede tener aplicaciones industriales o farmacéuticas. El peso molecular obtenido para este quitosano es de 1,0 x10⁵ g/mol, el cuál presenta similitud con otros aplicados en la farmacéutica (tabla 1).

El grado de desacetilación cuantificado en este estudio fue de 72,3%, siendo similar al obtenido por otros investigadores (75-85%). Esto es importante, ya que se requiere de un quitosano con un grado parcial de desacetilación (60-90%) debido a que se degrada más lentamente que los de grado bajo; una degradación demasiado rápida puede ocasionar una reacción inflamatoria aguda durante el proceso de curación de la

herida asociada a la acumulación de productos de degradación, presentándose así un efecto no deseado incrementando el tiempo de cicatrización de la herida y pudiendo ocasionar severas complicaciones en las personas que presentan diabetes (Kojima *et al*, 2004; Pastor, 2004; Minagawa, Okamura, Shigemasa, Minam y Okamoto, 2007; Alsarra, 2009).

Por otro lado, el quitosano debe mantener un mínimo de tres unidades acetiladas consecutivas. Si el producto es altamente desacetilado se corre el riesgo de perder estas unidades acetiladas, las cuales son de vital importancia para que el sustrato sea reconocido por la lisozima y que esta pueda degradarlo, permitiendo así la granulación y organización celular del tejido dañado al formar una cicatriz disminuida (Ueno, Mori y Fujinaga, 2001).

En cuanto al diseño del gel, este se elaboró a base de quitosano grado farmacéutico en estado semisólido para mantener el ingrediente activo en contacto con la piel. Debido a su estructura molecular permitirá el transporte de oxígeno del exterior hacia el interior y funcionará como un vendaje oclusivo. Es muy recomendable en los procesos de cicatrización y heridas.

Conclusiones

Bajo las condiciones experimentales aplicadas en este trabajo se logró extraer quitosano de exoesqueletos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* con un rendimiento de 31%, lo que permite señalar que se alcanzó una transformación eficiente. Se obtuvo la desacetilación termoalcalina de la quitina en 72,45%. Los resultados de porcentaje de cenizas, humedad, grasas y aceites, peso molecular y grado de desacetilación demuestran que el quitosano obtenido en esta investigación cuenta con la calidad necesaria para aplicaciones médicas o farmacéuticas como agente biodegradable.

El gel de quitosano presenta grandes ventajas en comparación con otros productos cicatrizantes, ya que este solo se prepara con cuatro ingredientes (trietanolamina, carbopol, alcohol y quitosano) y de los cuáles ninguno presenta toxicidad alguna; otros, además de requerir del gel base (trietanolamina y carbopol), incluyen otras sustancias como poliacrilamida (Xu *et al*, 2013), pantenol y portulaca (Shaul

Hasson Nisis, 2009) o glucano (Valentová, Bilerová, Suláková y Velebn, 2009), lo cual hacen más complicados sus procesos a diferencia del nuestro.

El proceso de elaboración del gel de quitosano también muestra grandes virtudes. Requiere de un proceso corto y con costos mínimos, ya que la materia prima se obtiene fácilmente (residuos de camarón). En contraste, otros productos cicatrizantes generados por procesos complejos —y, por ende, más costosos— utilizan mayor número de ingredientes de características químicas con posible toxicidad, lo cual podría afectar a las personas que lo utilizan y al medio ambiente al no ser biodegradables (Veiga y Ruiz, 2004).

Referencias

- Abdelbasset, H., Lorne, A., Ismail, H. y Fouad, D. (2010). Chitosan in Plant Protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968–987.
- Abdullah, G.Z. *et al* (2011). *In vitro* Permeation and *in vivo* Anti-inflammatory and Analgesic Properties of Nanoscaled Emulsions Containing Ibuprofen for Topical Delivery. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 387-396.
- Alsarra, I. (2009). Chitosan Topical Gel Formulation in the Management of Burn Wounds. *International Journal Biological Macromolecules*, 45(1), 16–21.
- Arce, C.C. (2011). *Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales* (tesis de maestría sin publicar). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Baltodano, L.C. y Yaipen, J.E. (2006). *Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante* (tesis de pregrado sin publicar). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Cao, Z., Gilbert, R.J. y He, W.(2009). Simple Agarose-Chitosan Gel Composite System for Enhanced Neuronal Growth in Three Dimensions. *Biomacromolecules*, 10(10), 2954-2959.
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca CONAPESCA (2010). *Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2010*. México D.F.: autor. Recuperado en marzo de 2012 de <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario2010>
- Dirección General de Normas (1986, 14 de julio). Alimentos; determinación de humedad en productos alimenticios (NMX-F-083-1986). México D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- Dirección General de Normas (1980, 25 de marzo). Análisis del agua - Determinación de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas método de prueba

(NMX-AA-005-SCFI-2000). México D.F.: Diario Oficial de la Federación.

Dirección General de Normas (1978, 3 de noviembre). Determinación de cenizas en alimentos (NOM-F066-S-1978). México D.F.: Diario Oficial de la Federación.

Dong Y., Xu, C., Wang, J., Wang, M., Wu, Y. y Ruan, Y. (2000). Determination of Degree of Substitution for N-acylated Chitosan Using IR Spectra. *Science in China Series B: Chemistry*, 44(2), 216-224.

Espinosa, B. *et al* (2012). Enfermedades ambientales por productos químicos de uso cotidiano. *Keme*, 1(5), 32-34.

Gacén, J. y Gacén, I. (1996). Quitina y quitosano. Nuevos materiales textiles. *Boletín Intertext*, 110, 67-71.

Gamage, A. y Shahidi, F. (2007). Use of Chitosan for the Removal of Metal Ion Contaminants and Proteins for Water. *Food Chemistry*, 104(3), 989-996.

García, T. y Roca, J. (2008). Industrialización de los crustáceos para la obtención de quitosano en unguento con efecto cicatrizante. *Industrial Data*, 11(2), 24-32.

Hernández, C., Águila, A., Flores, A., Viveros, N. y Cassellis, R. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío*, 22(3), 57-60.

Illés, J., Jávör, A. y Szijártó, E. (2002). [Zinc-hyaluronate: ana original organotherapeutic compound of Gedeon Richter Ltd]. *Acta Pharmaceutical Hungarica*, 72(1), 15-24.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEG (2009). *Mujeres y hombres en México 2009*. Aguascalientes: autor. Recuperado en marzo de 2012 de http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/2009/MyH_2009_1.pdf

- Irache, J.M. (2007). *Formas farmacéuticas destinadas a la vía percutánea* (tesis doctoral sin publicar). Universidad de Navarra, Pamplona.
- Jiali, Z. *et al* (2010). Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical-Applications. *Marine Drugs*, 8(7), 1962–1987.
- Karavana, S.Y. *et al* (2012). A New Approach to the Treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis with Bioadhesive Gels Containing Cyclosporine A Solid Lipid Nanoparticles: *In vivo/in vitro* Examinations. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5693-5704.
- Khan, T.A., Peh, K.K. y Ch'ng, H.S. (2002). Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 205-212.
- Khodaverdi, E., Tafaghodi, M., Ganji, F., Abnoos, K. y Naghizadeh, H. (2012). *In Vitro* Insulin Release from Thermosensitive Chitosan Hydrogel. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*, 13(2), 460-466.
- Kojima, K. *et al* (2004). Effects of Chitin and Chitosan on Collagen Synthesis in Wound Healing. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(12), 1595–1598.
- Kulkarni, A.R., Kulkarni, V.H., Keshavayya, J., Hukkeri, V.I. y Sung, H.W. (2005). Anti-Microbial Activity and Film Characterization of Thiazolidinone Derivatives of Chitosan. *Macromolecular Bioscience*, 5(6), 490-493.
- Lawrence, C.M., Matthews, J.N. y Cox, N.H. (1995). The Effect of Ketanserin on Healing of Fresh Surgical Wounds. *British Journal of Dermatology*, 132(4), 580-586.
- Liu, C. *et al* (2011). Effects of Ketanserin on Endotoxic Shock and Baroreflex Function in Rodents. *The Journal of Infectious Diseases*, 204(10), 1605-1612.

- Minagawa, T., Okamura, Y., Shigemasa, Y., Minami, S. y Okamoto, Y. (2007). Effects of Molecular Weight and Deacetylation Degree of Chitin/Chitosan on Wound Healing. *Carbohydrate Polymers*, 67(4), 640–644.
- Pastor, A. (2004). Obtención de quitina y quitosano a partir de desechos de crustáceos. En: A. Pastor (ed.), *Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones* (pp. 29-312). Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Piérard, G.E., Seité, S., Hermanns-Lê, T., Delvenne, P., Scheen, A. y Piérard-Franchimont, C. (2013). The Skin Landscape in Diabetes Mellitus. Focus on Dermocosmetic Management. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 6, 127-135.
- Salazar, J., León, I., Serrano, G. y Torres, M. (2000). Estudio comparativo entre ketanserina y dextranómero en el tratamiento de úlceras en enfermos de lepra. *Leprología*, 3(8), 518-522.
- Segrelles, J.A. (2008). La ecología y el desarrollo sostenible frente al capitalismo: una contradicción insuperable. *NERA*, 11(13), 128-143.
- Shahidi, F. y Synowiecki, J. (1991). Isolation and Characterization of Nutrients and Value-added Products from Snow Crab (*Chionoecetes opilio*) and Shrimp (*Pandalus borealis*) Processing Discards. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(8), 1527-1532.
- Shaul Hasson Nisis, A. (2009). Chitosan Gel for Dermatological Use, Production Method Therefor and Use of Same (WO 2009/090624). Ginebra: Organización Mundial de la Propiedad Intelectual.
- Tsourdi, E., Barthel, A., Rietzsch, H., Reichel, A. y Bornstein, S.R. (2013). Current Aspects in the Pathophysiology and Treatment of Chronic Wounds in Diabetes Mellitus. *BioMed Research International*, 2013, 6 p.
- Ueno, H., Mori, T. y Fujinaga, T. (2001). Topical Formulations and Wound Healing Applications of Chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 52(2), 105–115.

- Valentová Z., Bilerová, H., Suláková, R. y Velebn, V. (2009). Preparation for Wound Healing and Prevention of Bandage Adhesion to the Wound, Containing Chitosan-Glucan (WO/2009/043319). Ginebra: Organización Mundial de la Propiedad Intelectual.
- Veiga, M.D. y Ruiz, R. (2004). El quitosano: usos farmacéuticos y biológicos. *Revista de la OFIL*, 14(2), 33-42.
- Wiśniewska-Wrona, M., Niekraszewicz, A., Struszczyk, H, y Guzińska, K. (2002). Estimation of Polymer Compositions Containing Chitosan for Veterinary Applications. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 3(38), 82-85.
- Wu, J. *et al* (2011). *In vitro* Assessment of Reproductive Toxicity on Rats Induced by Organic Contaminants of Source Water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(6), 1756-1766.
- Xu, L. *et al* (2013). Nonionic Polymer Cross-linked Chitosan Hydrogel: Preparation and Bioevaluation. *Journal of Biomaterials Science. Polymers Edition*, 24(13), 1564-1574.