

Estudio del entrecruzamiento de películas a base de quitosano con glicerina y la integración de nanotubos de carbono de pared múltiple

J.J. Cedillo-Portillo¹, A.O. Castañeda-Facio¹, S.C. Esparza-González² y A. Sáenz-Galindo^{1*}

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés, C.P. 25280, Saltillo Coahuila, México

² Facultad de Odontología Unidad Saltillo, Universidad Autónoma de Coahuila. Ave. Doctora Cuquita Cepeda de Dávila sin número. Col. Adolfo López mateos C.P. 25120, Saltillo Coahuila, México.

Study of the cross-linking of chitosan-based films with glycerin and the integration of multiple-wall carbon nanotubes

Estudi de l'entrecruament de pel·lícules a força de quitosà amb glicerina i la integració de nanotubs de carboni de paret múltiple

RECEIVED: 30 OCTOBER 2019; REVISED: 19 NOVEMBER 2019; ACCEPTED: 20 DECEMBER 2019

SUMMARY

Currently, the use of chitosan-based polymer nanomaterials with multiple-wall carbon nanotubes (NTCPM) has been increasing due to the applications of this type of nanomaterials in various areas such as science and technology, the objective of this research work is to obtain polymeric nanocomposites based on chitosan and NTCPM, in order to find the optimal concentrations of NTCPM and crosslinking agent, which in this case will be glycerin. The nanomaterials were characterized by infrared spectroscopy (FTIR), color determination and thermogravimetric analysis (TGA). By FTIR it was found that the chemical structure of chitosan showed no changes, which suggests that its properties are maintained, however, it is possible to observe a greater intensity in the signal corresponding to 3283 cm⁻¹, which is assigned to the vibration of the OH or NH bond, suggesting that the cross-linking between chitosan and glycerin is carried out. Regarding the color determination, it was found that the coloration of the nanocomposites depends on the concentration of the nanostructures of NTCPM. With respect to thermogravimetric analysis, an increase of 15 °C in the thermal stability of the nanocomposites was observed.

Keywords: Cross-linking, Glycerin, Nanocomposite, Carbon Nanotubes, Chitosan.

RESUMEN

En la actualidad el uso de nanomateriales poliméricos a base de quitosano con nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM) se ha ido incrementando debido a las aplicaciones que presenta este tipo de nanomateriales en diversas áreas como la ciencia y la tecnología, el objetivo de este trabajo de investigación es obtener nanocompuestos poliméricos a base de quitosano y NTCPM, con la finalidad de encontrar las concentraciones óptimas de los NTCPM y del agente de entrecruzamiento, que para este caso será glicerina. Los nanomateriales fueron caracterizados mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), determinación de color y análisis termogravimétricos (TGA). Por FTIR se encontró que la estructura química del quitosano no mostró cambios, lo cual sugiere que se mantienen sus propiedades, sin embargo, se logra observar una mayor intensidad en la señal correspondiente a 3283 cm⁻¹, la cual se asigna a la vibración del enlace O-H o N-H, sugiriendo que se lleva a cabo el entrecruzamiento entre quitosano y glicerina. En cuanto a la determinación de color se encontró que la coloración de los nanocompuestos depende de la concentración de las nanoestructuras de NTCPM. Con respecto al análisis termogravimétrico se observó un incremento de 15°C en la estabilidad térmica de los nanocompuestos.

Palabras clave: Entrecruzamiento, Glicerina, Nanocompuesto, Nanotubos de carbono, Quitosano.

Corresponding author: aidsaenz@uadec.edu.mx

RESUM

En l'actualitat l'ús de nanomaterials polimèrics a base de quitosà amb nanotubs de carboni de paret múltiple (NTCPM) s'ha anat incrementant a causa de les aplicacions que presenta aquest tipus de nanomaterial en diverses àrees com la ciència i la tecnologia. L'objectiu d'aquest treball de recerca és obtenir nanocompostos polimèrics a base de quitosà i NTCPM, amb la finalitat de trobar les concentracions òptimes dels NTCPM i de l'agent d'entrecruament, que per a aquest cas serà la glicerina. Els nanomaterials van ser caracteritzats mitjançant espectroscòpia infraroja (FTIR), determinació de color i anàlisi termogravimètrica (TGA). Per FTIR es va trobar que l'estructura química del quitosà no va mostrar canvis, la qual cosa suggereix que es mantenen les seves propietats, però, s'aconsegueix observar una major intensitat en el senyal corresponent a 3283 cm⁻¹, el qual s'assigna a la vibració de l'enllaç OH o NH, suggerint que es porta a terme l'entrecruament entre quitosà i glicerina. Pel que fa a la determinació de color es va trobar que la coloració dels nanocompostos depèn de la concentració de les nanoestructures de NTCPM. Pel que fa a l'anàlisi termogravimètrica es va observar un increment de 15°C a l'estabilitat tèrmica dels nanocompostos.

Paraules clau: Entrecruament, Glicerina, Nanocompost, Nanotubs de carboni, quitosà

INTRODUCCIÓN

Los polisacáridos son moléculas de hidratos de carbono compuestas por largas cadenas de monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos, sus propiedades dependen directamente de las unidades repetitivas de las que están conformados, este tipo de hidratos de carbono cumplen dos funciones principales en la naturaleza: reserva de energía y estructurales¹. La quitina es un polisacárido natural, que se encuentra presente en el exoesqueleto de crustáceos, algunos insectos y la pared celular de hongos como *Mucor rouxii* y *Aspergillus niger*. Es el segundo polisacárido más abundante después de la celulosa. El principal derivado de la quitina es el quitosano, el cual se obtiene generalmente por la desacetilación alcalina². El quitosano se ha utilizado en diversas aplicaciones debido a que es un polímero no tóxico, biocompatible, biodegradable, con baja reacción inmune, antimicrobiano y bajo costo, además, se ha demostrado la actividad hemostática del quitosano en aplicaciones de tejido cerebral y maxilofacial³. Tanto la quitina como el quitosano son polisacáridos lineales que consisten de uniones β (1-4) *N*-acetil-2-amino-2-desoxi-*D*-glucosa y 2-amino-2-deoxi-*D*-glucosa la quitina tiene un bajo contenido de 2-amino-2-deoxi-*D*-glucosa, lo que implica que sea menos susceptible a medios acuosos ácidos, mientras que en el quitosano se encuentra en mayor concentración lo que lo hace ser más soluble en medios acuosos ácidos, los polisacáridos de quitina y quitosano presentan grupos funcionales del tipo -NH₂ y -OH los cuales pueden someterse a modificaciones estructurales^{4,5}.

La obtención de este biopolímero se da por dos procesos distintos de desacetilación de la quitina, por métodos químicos (hidrólisis) y métodos biológicos (enzimáticos) siendo estos últimos más amigables con el ambiente, debido a que evitan los tratamientos ácidos y alcalinos para la desmineralización y desproteización, sin embargo presentan grandes limitantes como sus altos costos, su deficiencia para escalarlos a nivel industrial y los largos tiempos de procesamiento^{4,6}. El proceso de desacetilación de la quitina implica la eliminación del grupo acetilo, es decir el grupo -COCH₃ que resulta en la formación del grupo amino. La desacetilación de la quitina inicia en las regiones más amorfas hasta llegar a las zonas más cristalinas de este biopolímero^{4,7}. El quitosano es considerado un copolímero se caracteriza principalmente por el grado de desacetilación y el peso molecular, estos parámetros afectan directamente las propiedades fisicoquímicas y biológicas, debido que se ha reportado que entre mayor es su peso molecular mayor efecto antimicrobiano presentan⁸.

Por otra parte, los NTCPM se definen como láminas de carbono enrolladas concéntricamente en forma de cilindro⁹, este tipo de nanoestructuras han sido altamente estudiadas en diversas áreas tales como la química, la ciencia de materiales y la bioquímica, debido a que son nanoestructuras con propiedades únicas como la alta resistencia mecánica, alta resistencia térmica y eléctrica, actualmente los NTCPM han sido muy estudiados en la biomedicina debido a que pueden tener aplicaciones directas tanto terapéuticas como de diagnóstico lo cual ha servido de base para su implementación en aplicaciones específicas como en la ingeniería de tejidos y el transporte de fármacos^{10,11}. En la actualidad el quitosano se ha implementado en diversas aplicaciones. Sin embargo, este tipo de polímeros naturales presentan una desventaja, su baja estabilidad mecánica por lo cual diversos autores han reportado el entrecruzamiento de este biopolímero para mejorar esta propiedad, entre los agentes de entrecruzamiento más utilizados es el glutaraldehído y la epíclorhidrina, sin embargo, estos dos compuestos químicos presentan efectos negativos tanto en el medio ambiente como en la salud^{12,13}, Abdolrahimi y col., en 2018, estudiaron el efecto que tiene el ácido acético (AA) en las propiedades ópticas y mecánicas en películas compuestas de alcohol polivinílico/quitosano/NTCPM, encontrando que a mayor concentración de AA en los nanocompuestos causa un aumento en las propiedades ópticas y en la cristalinidad, a pesar de ello las propiedades mecánicas como el módulo de Young y la resistencia a la tracción se vieron disminuidas, por otra parte se evaluó el efecto de la integración de los NTCPM, encontrando resultados positivos en las propiedades ópticas, debido a que mediante la integración de los NTCPM se tuvo una mayor resistencia contra la transmisión UV, así mismo la adición de los NTCPM aumenta las propiedades mecánicas, por lo que se propuso el uso de este tipo de nanocompuestos para aplicaciones en la industria alimentaria¹⁴, debido a la gran versatilidad que presenta este tipo de nanocompuestos a base de quitosano con NTCPM diversos investigadores han estudiado el entrecruzamiento, para ampliar más sus posibles aplicaciones.

En tanto que, Liu y col., en 2019, compararon el efecto de entrecruzamiento en películas a base de quitosano mediante dos distintos agentes de entrecruzamiento: genipina y glutaraldehído, ambas películas obtenidas por el método de evaporación de disolvente, logrando un mayor entrecruzamiento en las películas a base de quitosano con genipina, lo que permitió que las películas presentaran mejores propiedades mecánicas y mayor cristalinidad¹⁵.

Por otra parte, Mei y col., en 2019, obtuvieron un hidrogel a base de un oligosacárido de quitosano entrecruzado con tetraetilenpentamina, reportando que este material mostró una alta resistencia térmica y mecánica, además de una adsorción de Cr (VI) de 148.1 ± 2.4 mg/g con una velocidad de adsorción rápida, por lo que este es un material prometedor para la eliminación de iones Cr (VI) en el tratamiento de aguas residuales¹⁶.

El objetivo de la presente investigación es el diseño de nanocompuestos a base de quitosano entrecruzados con glicerina y la incorporación de NTCPM, con la finalidad de encontrar la concentración óptima tanto del agente de entrecruzamiento como de los NTCPM y mejorar la resistencia a la temperatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del nanocompuesto

Las películas se obtuvieron mediante la técnica de casting, para ello se prepararon soluciones de polímero, disolviendo 1% P/V de quitosano en una solución de 0.1 M de ácido acético (Analiteck 99%), posteriormente se adicionaron: los NTCPM a 0.5, 1.0 y 1.5%, y glicerina al 2, 4 y 6%. Una vez adicionados los componentes, las soluciones se llevaron a una temperatura de 40 °C por 5 horas, la mezcla se vertió en 50 ml de solución en cajas Petri 90X15, las cuales fueron secadas a temperatura ambiente¹⁷⁻¹⁸.

Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja fue utilizada para obtener información sobre la estructura química. Para llevar a cabo la caracterización por FTIR se empleó un espectrofotómetro marca Perkin-Elmer, mediante Attenuated Total Reflectance (ATR, por sus siglas en inglés), las muestras fueron analizadas sin ningún tipo de tratamiento previo, trabajando en un intervalo de 4500 a 580 cm^{-1} , con 2 cm^{-1} de resolución, con 32 adquisiciones.

Determinación del color

Para la determinación de color de los nanocompuestos a base de quitosano se utilizó un espectrofotómetro marca GretagMacbeth, modelo ClorEye XTS, las mediciones fueron realizadas por triplicado sobre los nanocompuestos, los parámetros evaluados fueron L^* , a^* , b^* y ΔE . La coordenada L^* recibe el nombre de luminosidad o claridad, puede tomar valores entre 0 es el negro y 100 es el blanco. Las coordenadas colorimétricas a^* y b^* forman un plano perpendicular a la coordenada L^* . La a^* define la desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad hacia el

rojo si a^* es positiva, y hacia el verde si a^* es negativa. Análogamente la coordenada b^* define la desviación hacia el amarillo si b^* es positiva, y hacia el azul si b^* es negativa¹⁹. Este tipo de caracterización es importante debido a que los polímeros presentan una degradación fotoquímica.

La diferencia total de color (ΔE) y blancura (WI) fueron calculadas mediante la Ecuación 1 y la Ecuación 2, respectivamente.

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (1)$$

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5} \quad (2)$$

Análisis termogravimétrico

La técnica de Análisis Termogravimétrico (TGA), mide la cantidad y rapidez del cambio en peso de una muestra en función de la temperatura o del tiempo en una atmósfera controlada. El análisis se llevó a cabo con condiciones de 0 a 800 °C con una velocidad de calentamiento 10 °C/min en una atmósfera de nitrógeno, con un equipo marca Discovery modelo Series 2500.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectroscopia FTIR

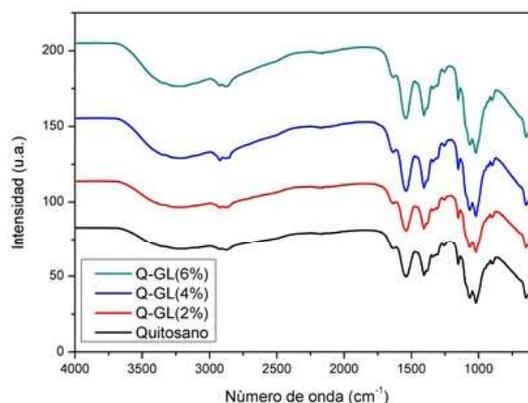


Figura 1. Espectros FTIR de los nanocompuestos de quitosano entrecruzados con glicerina al 2, 4 y 6%.

En la Figura 1, se muestran los resultados del análisis de FTIR (ATR) de los nanocompuestos de quitosano entrecruzado con glicerina al 2, 4, 6%, en donde se aprecian las señales características del quitosano en 3283 cm^{-1} , las vibraciones de los enlaces -OH y -NH así como en 1518 cm^{-1} se visualizan los estiramientos débiles del enlace N-H y en 1396 cm^{-1} los estiramiento del enlace -OH, así mismo se puede observar un incremento en la señal a 3283 cm^{-1} , a medida que se incrementa la concentración de glicerina a las películas, lo cual se atribuye a la interacción entre los grupos hidroxilo de la

glicerina con los grupos funcionales del quitosano formando interacciones del tipo puente de hidrógeno, algo similar a lo reportado por Ma y col., en 2018²⁰, quienes lograron la obtención de películas a base de quitosano entrecruzado con sorbitol, teniendo un incremento en la banda de 3296 cm^{-1} al agregar mayor concentración del agente de entrecruzamiento, debido a las interacciones de puentes de hidrogeno formadas, reportando como la formulación óptima las películas con la concentración al 6% del agente de entrecruzamiento, debido a que se puede observar un entrecruzamiento entre la glicerina y quitosano, por la interacción de puentes de hidrógenos, que se pueden llevar a cabo entre los grupos funcionales de la glicerina y los grupos funcionales del quitosano. En la Figura 2, se presenta un esquema hipotético del entrecruzamiento de los nanocompuestos a base de quitosano y la glicerina.

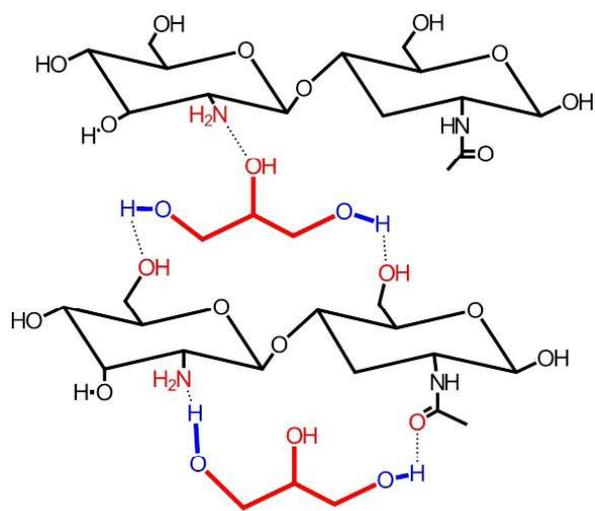


Figura 2. Esquema hipotético del entrecruzamiento de quitosano con glicerina.

En la Figura 3, se presentan los espectros FTIR (ATR) de los nanocompuestos de quitosano entrecruzados al 6% y con NTCPM en concentraciones de 0.5, 1 y 1.5%, en donde se aprecian las señales características del quitosano, similar a lo reportado por Choi y col., en 2018²¹, quienes estudiaron la integración de NTCPM en quitosano para desarrollar un sensor de glucosa por el método de transferencia electrónica directa, asignando las bandas en el estudio espectroscópico de una manera muy similar a lo obtenido en este trabajo de investigación. Es importante destacar que la estructura química del quitosano no presenta ninguna alteración para ninguna de las formulaciones, es decir se compara el espectro de la película del quitosano puro contra el nanocompuesto con NTCPM a diferentes concentraciones, encontrando que los espectros presentan una tendencia similar, en cuanto a las bandas originales del quitosano, lo que lleva a deducir que químicamente el quitosano no presenta una modificación y que la concentración de los NTCPM no inciden en la estructura química del quitosano²²⁻²³.

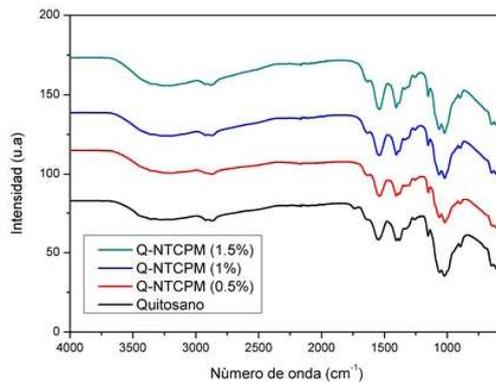


Figura 3. Espectros FTIR de los nanocompuestos de quitosano entrecruzados y con NTCPM en concentraciones del 0.5, 1.0 y 1.5%.

Determinación de color

Tabla 1. Resultados de la determinación de color para los nanomateriales de quitosano y NTCPM.

Nomenclatura	L	a	b	ΔE	IA	R	G	B	Color	IB
Quitosano	83.51	-0.78	16.32	85.09	31.29	219	208	180		76.79
Q-GL(2%)	87.09	-1.83	14.65	88.33	26.55	226	218	193		80.39
Q-GL(4%)	82.05	-1.75	28.73	86.95	51.29	220	205	153		66.08
Q-GL(6%)	85.42	-1.89	17.87	87.29	32.5	223	214	182		76.86
Q-NTCPM(0.5%)	66.43	-0.26	7.91	66.90	19.21	167	161	148		65.51
Q-NTCPM(1%)	44.64	0.31	10.52	45.86	34.06	113	105	89		43.65
Q-NTCPM(1.5%)	31.12	-0.06	3.72	31.34	16.09	75	73	67		31.02

La colorimetría es una herramienta valiosa para la evaluación de las condiciones de procesamiento y los cambios estructurales de la materia en la Tabla 1, se presentan los resultados de la determinación de color para los nanocompuestos de quitosano entrecruzado con glicerina a 2, 4 y 6% y con NTCPM al 0.5, 1.0 y 1.5%, donde se observa que los nanocompuestos que obtuvieron un valor más alto de índice de blancura (IB) corresponde a los nanocompuestos quitosano puro y el nanocompuesto entrecruzado con la menor concentración de glicerina (2%) y sin NTCPM, debido a que la coloración del nanocompuesto está directamente relacionada con la concentración de nanoestructuras de carbono y el agente de entrecruzamiento, por otro lado, los nanocompuestos que obtuvieron un (IB) más bajo, corresponden a los nanocompuestos que contienen NTCPM, obteniendo que la coloración de las películas es directamente proporcional con la concentración de los NTCPM, infiriendo que se mejora la barrera de luz del quitosano, debido a que les confiere una protección adicional para los procesos oxidativos, algo similar a los resultados obtenidos en este trabajo lo reporto Souza y col., en 2017, quienes describieron la obtención de

películas a base de quitosano adicionadas con aceites esenciales (AE) y extractos hidroalcohólicos (EHA) de jengibre, tomillo, romero, árbol de té y salvia para posibles aplicaciones en embalaje, encontrando que las películas que contenían los EHA obtuvieron una coloración de la película más saturada y con menos brillo, lo que causó una reducción en la transmitancia de las películas y una mejor estabilidad a los procesos oxidativos del quitosano, sin embargo los EHA aumentaron el contenido de humedad en las películas y la solubilidad²⁴. Además, es importante destacar que la coloración es un parámetro importante para posibles aplicaciones donde se requieran que el nanocompuesto presente una coloración específica.

Análisis termogravimétrico

En la Figura 4, se presentan los termogramas de los nanocompuestos de quitosano entrecruzados con glicerina al 2, 4 y 6%, donde se observan dos pérdidas de peso, la primera se da alrededor de 100° C, la cual se atribuye a la volatilización del agua adsorbida, además se muestra que la pérdida en peso del quitosano puro es mayor que la de las películas entrecruzadas, indicando que el contenido de agua es mayor en las películas de quitosano puro, la segunda pérdida se da a 266 °C para el quitosano puro, mientras que para los nanocompuestos entrecruzado se da en 280 °C, atribuyéndose a la depolimerización del quitosano, la temperatura de descomposición de las películas entrecruzadas es casi invariable con el cambio de concentración de glicerina lo cual es algo parecido a lo reportado por Ma y col., en 2018²⁰, quienes reportaron la obtención de una película polimérica a base de quitosano entrecruzada con sorbitol en concentraciones de 10 al 70%, encontrando que un alto contenido de sorbitol debilita las interacciones electrostáticas de las películas. Sin embargo, no se afectó la estabilidad térmica por el sorbitol, por lo cual se infiere que la mejor concentración para las películas entrecruzadas con glicerina es la del 6%, debido a que se puede observar un incremento en la estabilidad térmica de las películas entrecruzadas.

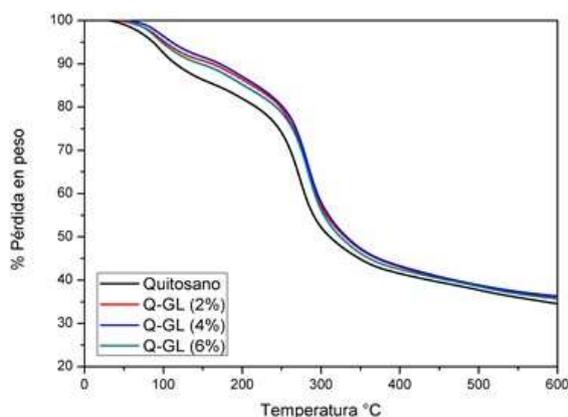


Figura 4. Termogramas de los nanocompuestos entrecruzados con glicerina al 2, 4 y 6%.

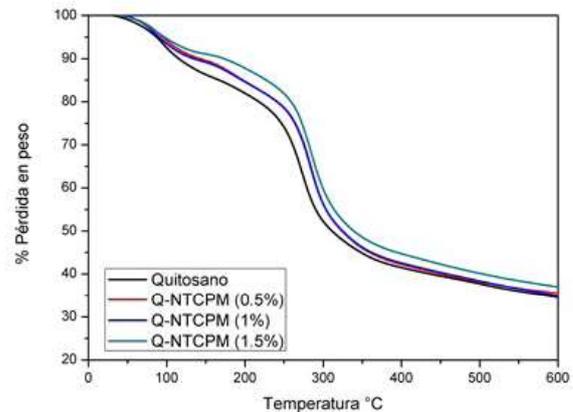


Figura 5. Termogramas de los nanocompuestos entrecruzados y con NTCPM en concentraciones del 0.5, 1.0 y 1.5%.

En la Figura 5, se presentan los análisis termogravimétricos para los nanocompuestos entrecruzados con glicerina al 6% y con NTCPM al 0.5, 1.0 y 1.5%, todos los nanocompuestos mostraron un comportamiento térmico similar al reportado para el quitosano puro donde se pueden observar dos pérdidas de peso, la primera inicia alrededor de 100° C y una pérdida mayor alrededor de 200-350 °C, similar a lo reportado por Olivas y col., en 2009²⁵, quienes reportaron dos pérdidas en peso y un aumento de la estabilidad térmica en películas a base de quitosano con NTCPM en concentraciones de 0.25 al 10%, estos autores obtuvieron un aumento de temperatura entre 10 y 40 °C en las películas compuestas de quitosano y NTCPM. Por otra parte, Mallakpour y col, en 2015²⁶, describieron la obtención de películas de quitosano y la incorporación de NTCPM modificados con dopamina como refuerzo para el nanocompuesto en concentraciones de 3, 5 y 7%, logrando mejorar la estabilidad térmica de los nanocompuestos, una vez que se adicionan los NTCPM, sugiriendo una interacción entre los NTCPM modificados y el quitosano, por lo cual en esta investigación, se puede atribuir el incremento de la estabilidad térmica de los nanomateriales, a causa de la integración de los NTCPM para este tipo de formulación.

CONCLUSIÓN

Se concluye que se consiguió la obtención de nanocompuestos a base de quitosano entrecruzados con glicerina y NTCPM, obteniendo que la concentración óptima de glicerina fue al 6%, referente a la concentración de las nanoestructuras de carbono fue del 1.5%, además, se comprobó que los NTCPM no afectan la estructura química del quitosano, por otro lado se obtuvo que la coloración del nanocompuesto está directamente relacionada con la concentración de las nanoestructuras y con base a los resultados obtenidos mediante TGA, se llegó a la formación de un nanocompuesto con mayor estabilidad térmica, esto gracias al agente de entrecruzamiento, en este caso la glicerina así como, a los

NTCPM logrando aumentar hasta 15 °C la temperatura de despolimerización.

REFERENCIAS

1. Ramirez, C.; Delgado, E.; Andrade, A.; Ramirez, C. A.; Delgado Fornué, E.; Ortega, J. A. A. Determinación Del Grado de Desacetilación de Quitosana Mediante Titulación Potenciométrica, FTIR y Raman. *Cim* **2016**, *4*, 769–776.
2. Ahsan, S. M.; Thomas, M.; Reddy, K. K.; Sooraparaju, S. G.; Asthana, A.; Bhatnagar, I. Chitosan as Biomaterial in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *110*, 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.140>.
3. Sanandiya, N. D.; Lee, S.; Rho, S.; Lee, H.; Kim, S.; Hwang, D. S. Tunichrome-Inspired Pyrogallol Functionalized Chitosan for Tissue Adhesion and Hemostasis. **2019**, *208*, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.017>.
4. Mittal, H.; Sinha Ray, S.; Singh Kaith, B.; Kaur Bhatia, J.; Sharma, J.; Alhassan, S. M. Recent Progress in the Structural Modification of Chitosan for Applications in Diversified Biomedical Fields. **2018**, *109*, 402–432. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.10.013>.
5. Chuan, D.; Jin, T.; Fan, R.; Zhou, L.; Guo, G. Historical Perspective Chitosan for Gene Delivery: Methods for Improvement and Applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *268*, 25–38. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.03.007>.
6. Rodríguez-Pedroso, A. T.; Ramírez-Arrebato, M A; Rivero-González, ; D; Bosquez-Molina, ; E; Barrera-Necha, ; L L; Bautista-Baños, ; S. *Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos*; **2009**, *15*(3), 307–317.
7. Aranaz, I.; Harris, R.; Navarro-García, F.; Heras, A.; Acosta, N. Chitosan Based Films as Supports for Dual Antimicrobial Release. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *146*, 402–410. <https://doi.org/10.1016/j.CARBPOL.2016.03.064>.
8. El Knidri, H.; Belaabed, R.; Addaou, A.; Laajeb, A.; Lahsini, A. Extraction, Chemical Modification and Characterization of Chitin and Chitosan. **2018**, *120*, 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>.
9. Costa, E. M.; Silva, S.; Veiga, M.; Tavaría, F. K.; Pintado, M. M. A Review of Chitosan's Effect on Oral Biofilms: Perspectives from the Tube to the Mouth. *J. Oral Biosci.* **2017**, *59* (4), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.JOB.2017.07.001>.
10. Sharmeen, S.; Rahman, A. F. M. M.; Lubna, M. M.; Salem, K. S.; Islam, R.; Khan, M. A. Polyethylene Glycol Functionalized Carbon Nanotubes/Gelatin-Chitosan Nanocomposite: An Approach for Significant Drug Release. *Bioact. Mater.* **2018**, *3* (3), 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.03.001>.
11. Raphey, V. R.; Henna, T. K.; Nivitha, K. P.; Mufeedha, P.; Sabu, C.; Pramod, K. Advanced Biomedical Applications of Carbon Nanotube. *Materials Science and Engineering C*. Elsevier, 2019, 616–630. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.043>.
12. Chávez H, A, Acevedo, S, Luzardo, E, Valbuena, A, M. C. Obtención y caracterización de quitosano entrecruzado con ácido cítrico. *Rev. Iberoam. Polímeros Mater.* **2018**, *19* (5), 227–235.
13. Ríos Donato, N.; Peña Flores, A.; Leyva Ramos, R.; Mendizabal, E. Kinetics and Thermodynamics of Adsorption of Red Dye 40 from Acidic Aqueous Solutions onto a Novel Chitosan Sulfate. *Afinidad Rev. Quím. Teórica Apl.* **2017**, *74* (579), 214–220.
14. Abdollahimi, M.; Seifi, M.; Ramezanzadeh, M. H. Study the Effect of Acetic Acid on Structural, Optical and Mechanical Properties of PVA/Chitosan/MWCNT Films. *Chin. J. Phys.* **2018**, *56* (1), 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.cjph.2017.12.018>.
15. Liu, Y.; Cai, Z.; Sheng, L.; Ma, M.; Xu, Q.; Jin, Y. Structure-Property of Crosslinked Chitosan/Silica Composite Films Modified by Genipin and Glutaraldehyde under Alkaline Conditions. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *215*, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.001>.
16. Mei, J.; Zhang, H.; Li, Z.; Ou, H. A Novel Tetraethylenepentamine Crosslinked Chitosan Oligosaccharide Hydrogel for Total Adsorption of Cr(VI). *Carbohydr. Polym.* **2019**, *224*, 115154. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115154>.
17. Shankar, S.; Rhim, J.-W. Preparation of Sulfur Nanoparticle-Incorporated Antimicrobial Chitosan Films. *Food Hydrocoll.* **2018**, *82*, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.054>.
18. Wu, Z.; Huang, X.; Li, Y.-C.; Xiao, H.; Wang, X. Novel Chitosan Films with Laponite Immobilized Ag Nanoparticles for Active Food Packaging. *Carbohydr. Polym.* **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.030>.
19. Rettig, M.; Hen, A. El Color En Los Alimentos Un Criterio de Calidad Medible. *AGROSUR* **2014**, *42* (2), 39–48. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n2-07>.
20. Ma, X.; Qiao, C.; Zhang, J.; Xu, J. Effect of Sorbitol Content on Microstructure and Thermal Properties of Chitosan Films. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *119*, 1294–1297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.060>.
21. Choi, Y.-B.; Kim, H.-S.; Jeon, W.-Y.; Lee, B.-H.; Shin, U. S.; Kim, H.-H. The Electrochemical Glucose Sensing Based on the Chitosan-Carbon Nanotube Hybrid. **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.10.021>.
22. Siripatrawan, U.; Kaewklin, P. Fabrication and Characterization of Chitosan-Titanium Dioxide Nanocomposite Film as Ethylene Scavenging and Antimicrobial Active Food Packaging. *Food Hydrocoll.* **2018**, *84*, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.FOODHYD.2018.04.049>.
23. Shah, A.; Hussain, I.; Murtaza, G. Chemical Synthesis and Characterization of Chitosan/Silver Nanocomposites Films and Their Potential Antibacterial Activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *116*, 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.IJBIOMAC.2018.05.057>.

24. Souza, V. G. L.; Fernando, A. L.; Pires, J. R. A.; Rodrigues, P. F.; Lopes, A. A. S.; Fernandes, F. M. B. Physical Properties of Chitosan Films Incorporated with Natural Antioxidants. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *107*, 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.056>.
25. Olivas-Armendáriz, I.; García-Casillas, P.; Martel-Estrada, A.; Martínez-Sánchez, R.; Martínez-Pérez, C. *Preparación y caracterización de compositos de quitosana/nanotubos de carbono*; 2009; 8 (2),205-211.
26. Mallakpour, S.; Madani, M. A General and Efficient Route to Covalently Surface Modification of MWCNTs by Dopamine and Their Synergistic Reinforcing Effects in Chitosan Films. *Prog. Org. Coat.* **2015**, *85*, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2015.04.001>.