



EFECTO DEL pH Y LA CONCENTRACION DEL FOSFATO DIBASICO DE SODIO EN LAS PROPIEDADES DE HINCHAMIENTO DE HIDROGELES DE QUITOSANA

EFFECT OF pH AND SODIUM PHOSPHATE DIBASIC CONCENTRATION ON THE SWELLING PROPERTIES OF CHITOSAN HYDROGELS

F. Becerra-Bracamontes¹, J. C. Sánchez-Díaz², J. Arellano-Ceja²,
A. González-Álvarez² y A. Martínez-Ruvalcaba^{2*}

¹ Departamento de Química, Universidad de Guadalajara, 44430 Guadalajara, México

² Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guadalajara, 44430 Guadalajara, México

Recibido 14 de Octubre 2008; Aceptado 13 de Enero 2009

Resumen

En este trabajo fueron sintetizados hidrogeles de quitosana por entrecruzamiento ionotrópico con fosfato dibásico de sodio (FDS) en solución acuosa de ácido acético al 2% en volumen. Los resultados indican que la interacción iónica de los grupos aminos de la cadena de quitosana con los grupos aniónicos del FDS es dependiente del pH del medio de hinchamiento. Se investigaron las propiedades de hinchamiento de los hidrogeles quitosana/FDS en función del pH del medio de hinchamiento (3, 5, 7 y 11) y de la proporción de sólidos totales (2, 3 y 4% en peso). Cuando se colocaron en un medio ácido se observó mayor capacidad de hinchamiento que en medio básico y neutro, además como era de esperarse, con una proporción de sólidos totales del 2% en peso se obtuvieron los mayores porcentajes de hinchamiento. Se observó en estos sistemas un sobrehinchamiento seguido de un deshinchamiento hasta llegar a un equilibrio.

Palabras clave: fosfato dibásico de sodio, quitosana, hidrogeles, hinchamiento, pH.

Abstract

In this work were prepared chitosan hydrogels by ionotropic gelation technique with sodium phosphate dibasic (SPD) in an aqueous acetic acid solution 2% v/v. The results obtained shows that the ionic interaction of the NH_3^+ groups linked to the chitosan chain with the SPD anionic groups is depending of the pH of the swelling solvent. Were studied the swelling properties of the chitosan/SPD in function the the swelling media pH (3, 5, 7, and 11) and the percentage of solids in the hydrogel (2, 3, and 4% w/w). In the acid swelling medium the swelling capacity of the hydrogels was higher respect to the capacities obtained in basic and neutral media; moreover with a percentage of solids of 2% w/w the swelling capacities were higher. An overshooting effect in the hydrogels was observed, followed by a lost in the volume of the hydrogels until the swelling equilibrium is attained.

Keywords: sodium phosphate dibasic, chitosan, hydrogels, swelling properties, pH.

1. Introducción

La quitosana es un polímero natural, biodegradable, biocompatible y bioadhesivo, con múltiples usos en las industrias farmacéuticas y de los alimentos. La quitosana es un polímero con unidades de glucosamina y N-acetil glucosamina unidas por enlaces glucosídicos $\beta(1-4)$, obtenidos por N-deacetilación de la quitina; además tiene grupos aminos libres unidos a su cadena los cuales pueden ser protonados en medio ácido e interaccionar electrostáticamente para formar enlaces iónicos (Illum, 1998; Felt y col., 1998). Generalmente los hidrogeles de quitosana han sido preparados por

entrecruzamiento químico como por ejemplo con glutaraldehído, formaldehído, compuestos epóxicos, etc. (Shu y col., 2001). Sin embargo, los agentes de entrecruzamiento de este tipo pueden inducir una toxicidad por la presencia de trazas del entrecruzante que no reacciona, por lo que se requieren una purificación durante la manufactura de estos materiales (Bhumkar y Pokharkar, 2006). Para superar esta desventaja, se tiene la opción de formar entrecruzamientos físicos reversibles obtenidos por enlaces iónicos e interacciones electrostáticas entre la quitosana y polianiones; el uso de aniones de peso molecular bajo, para entrecruzar la quitosana ha mostrado ser más sencillo y limpio (Berger y col.,

* Autor para la correspondencia. E-mail: agustin21@gmail.com
Tel./Fax: (33) 1378- 5900, ext. 7595.

2004a). Los hidrogeles con grupos iónicos débiles muestran hinchamientos sensibles al pH del medio de hinchamiento. La ionización de los hidrogeles puede ser determinada por el pH en términos de ionización de equilibrio, de acuerdo a la ecuación de Henderson-Hasselbach (Monobe, 1960).

Los principios de la cinética de intercambio iónico fueron desarrollados por F. G. Helfferich en los años sesenta (Helfferich, 1995) y estos fueron aplicados a geles sensibles al pH por Gehrke y Cussler (1989). Estos autores mostraron que bajo ciertas circunstancias (hinchamientos en base diluida) la cinética de intercambio iónico influye en la cinética de hinchamiento, mientras que en otras condiciones esta tiene una menor influencia (colapso en medio ácido).

Las redes poliméricas que contienen grupos ionizables experimentan un cambio brusco o gradual en la cinética y en el comportamiento de hinchamiento como resultado del cambio de pH del medio. En los geles que contienen grupos ionizables como aminos fijas a la red, se ionizan a pH por debajo del valor del pK_b (constante disociación) de los grupos ionizables. Al disminuir el grado de ionización (lo cual se nota por la disminución del pH), el número de cargas fijas a la red también lo hace, lo cual se refleja en un incremento de las repulsiones electrostáticas entre las cadenas, lo que provoca un mayor hinchamiento del hidrogel (Berger y col., 2004b).

El mecanismo de hinchamiento de los hidrogeles que presentan grupos ionizables en su estructura, se puede explicar por el hecho de que los geles que son sensibles al cambio de pH en el medio de hinchamiento usualmente tienen grupos ionizables. Cuando estos grupos se ionizan se genera una presión osmótica de hinchamiento dentro del hidrogel, pero cuando los grupos ionizados se desprotonan la presión osmótica de hinchamiento desaparece y el hidrogel colapsa. El proceso de ionización y desionización es un proceso de intercambio iónico y por tanto, la velocidad de este intercambio iónico influye decisivamente en la cinética del proceso global de hinchamiento o colapso (Sundaram y col., 2006).

Peppas y Franson (1983) observaron un comportamiento anómalo al estudiar las cinéticas de hinchamiento de los hidrogeles de poli 2-hidroxietil metacrilato (PHEMA), PHEMA-co-N vinil-2-pirrolidona y poli metil-metacrilato (PMMA). El fenómeno consiste en un sobrehinchamiento seguido de una disminución del mismo hasta alcanzar el hinchamiento en equilibrio del hidrogel. Este comportamiento se ha intentado explicar empleando diversos modelos sin llegar a una explicación satisfactoria hasta el momento (Katime y col., 2004).

Bhumkar y Pokharkar (2006) reportaron el mecanismo de entrecruzamiento iónico para geles de quitosana con tripolifosfato de sodio, pero no existen reportes de la cinética de hinchamiento en diferentes medios para geles de quitosana/FDS. En este

estudio, fueron preparados hidrogeles de quitosana entrecruzada iónicamente con fosfato dibásico de sodio (FDS). Se estudiaron las interacciones electrostáticas entre los aniones y los grupos amino de la quitosana en diferentes medios de hinchamiento (medios ácido, neutro y básico) y en diferentes proporciones de peso; también se estudio la influencia de las interacciones electrostáticas en la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles y se analizó el efecto del sobrehinchamiento.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Se utilizo quitosana al 99% de pureza de Aldrich, fosfato dibásico de sodio (FDS) grado analítico de Sigma. Ácido acético grado analítico de Sigma, ácido clorhídrico grado analítico de Sigma, hidróxido de sodio grado analítico de Sigma y agua bidestilada de Productos Selectopura.

2.2. Medios de hinchamiento

Para realizar los experimentos de hinchamiento se prepararon tres medios de hinchamiento. Dos medios ácidos (soluciones de ácido clorhídrico de pH 3 y 5), un medio neutro (agua destilada, pH 7) y un medio básico (solución de hidróxido de sodio de pH 11).

2.3. Entrecruzamiento de la quitosana

La quitosana se disolvió en una solución acuosa de ácido acético al 2% en volumen con ayuda de un homogenizador y por separado se disolvió el FDS en agua bidestilada. Una vez disuelta y homogenizada la quitosana se le agregó la solución de FDS gota a gota sin dejar de agitar. Ya que se obtuvo una mezcla homogénea se distribuye en cajas Petri. La relación másica de la quitosana respecto al FDS fue de 5/1; el porcentaje de sólidos totales (quitosana + FDS) fue de 2, 3 y 4% con respecto al peso final. La reacción de entrecruzamiento iónico se lleva a una temperatura de 50°C durante 24 horas, lo cual permite que los geles se sequen totalmente (se obtiene un xerogel). Estos xerogeles se lavan con agua bidestilada durante 10 minutos para retirar el exceso de material que no reaccionó. Enseguida se dejan secar a temperatura ambiente hasta obtener de nuevo los xerogeles, los cuales son cortados en pequeños cuadros de aproximadamente 1 cm² con un espesor de entre 3 y 5 mm.

2.4. Experimentos de hinchamiento

Las muestras secas se pesaron y después se colocaron en los medios de hinchamiento a temperatura ambiente. El pH de los medios de hinchamiento se midió con un potenciómetro (Orion Star 4), conforme el hidrogel se hincha el pH del medio cambia y este fue ajustado al pH original

agregando solución de ácido clorhídrico 0.1M o hidróxido de sodio 0.1 M, según sea el caso. La fuerza iónica de los medios de hinchamiento fueron cuidadosamente ajustados a 0.01 M con la adición de cloruro de sodio. Las muestras se pesaron a diferentes tiempos después de remover el exceso de agua de la superficie con papel filtro. El porcentaje de hinchamiento (%H) para cada muestra a un tiempo determinado (t) fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\%H = \left(\frac{w_t - w_0}{w_0} \right) 100 \quad (1)$$

donde w_t es el peso de la muestra a un tiempo t y w_0 es el peso inicial del material sin hidratar (xerogel).

3. Resultados y discusión

El mecanismo de formación del hidrogel quitosana/FDS se basa en las interacciones electrostáticas entre los grupos NH_3^+ unidos a la quitosana y los grupos aniónicos HPO_4^{2-} del FDS. En la Fig. 1 se muestra el comportamiento de la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosana/FDS en relación masa 5/1 obtenidos a diferentes concentraciones de sólidos totales (2, 3 y 4% en peso) e hinchados en un medio acuoso con pH 7. Se observa que el hidrogel de quitosana/FDS con el 2% de sólidos totales tiene el porcentaje de hinchamiento más alto mientras, que el hidrogel del 4% de sólidos totales es el más bajo. Considerando que la capacidad de hinchamiento está determinada por el gradiente de concentración iónica entre el interior del hidrogel y la del medio de hinchamiento, entonces cuando la densidad de grupos fijos cargados en la quitosana es alta dentro del hidrogel, la concentración del contraion también será alta dentro del hidrogel; esto quiere decir que el hidrogel es similar a una solución altamente concentrada de ambos iones y tiene una tendencia a diluirse tomando agua adicional. Los factores que más afectan el hinchamiento de los hidrogeles son la densidad de carga global y la proporción relativa de los componentes. En el hidrogel con el 4% de sólidos totales hinchado en un medio acuoso de pH 7, la quitosana presenta una densidad de carga baja, $\text{p}K_b = 6.3$ (Shu y col., 2002), aproximadamente un 90% de los grupos NH_3^+ están desprotonados (NH_2) y una proporción alta del FDS esta disociado en aniones HPO_4^{2-} ($\text{p}K_{a1} = 1.12$, $\text{p}K_{a2} = 7.2$ y $\text{p}K_{a3} = 11.3$) (Dean, 1972), esto provoca una densidad de entrecruzamiento iónico bajo pero una cantidad relativamente alta de enlaces de hidrogeno debido a los aniones del FDS, lo cual aumenta la densidad de entrecruzamiento del hidrogel. Además se tiene una concentración baja de grupos NH_3^+ , es decir no hay repulsión entre las cadenas de la quitosana. Todo esto provoca un porcentaje de hinchamiento bajo comparado con el hidrogel con un 2% de sólidos

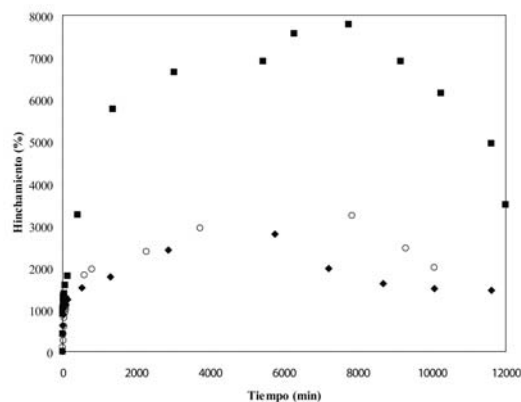


Fig. 1. Porcentaje de hinchamiento como función del tiempo para los hidrogeles de quitosana/FDS con una relación masa 5/1 a diferentes porcentajes de sólidos totales (■ 2%, ○ 3% y ◆ 4%) en un medio de hinchamiento con pH 7.

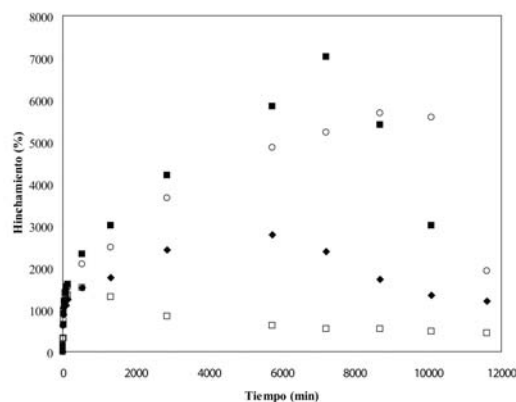


Fig. 2. Porcentaje de hinchamiento como función del tiempo para los hidrogeles de quitosana/FDS con una relación masa 5/1 y un porcentaje de sólidos totales del 4% en diferentes medios de hinchamiento (■ pH 3, ○ pH 5, ◆ pH 7 y □ pH 11).

totales en donde la quitosana tiene una densidad de carga baja y una menor concentración de aniones del FDS; lo cual sugiere una menor cantidad de enlaces de hidrogeno en los aniones del FDS y en consecuencia una densidad de entrecruzamiento más baja. El porcentaje de hinchamiento se incrementa cuando se disminuye la razón molar de los grupos aniónicos del FDS en los hidrogeles.

Cuando cambia el pH del medio de hinchamiento se modifica el balance de cargas dentro del hidrogel y el grado de interacción entre los grupos NH_3^+ y PO_4^{3-} por tanto se modifica la capacidad de hinchamiento en los hidrogeles. En la Fig. 2 se muestra la cinética de hinchamiento para el hidrogel de quitosana/FDS en relación masa 5/1 y con un 4% de sólidos totales, hinchado en medio acuoso a diferente pH: 3, 5, 7 y 11. Se observa que la capacidad de hinchamiento del hidrogel es mayor a pH 3, mientras que a pH 11 la capacidad de hincha-

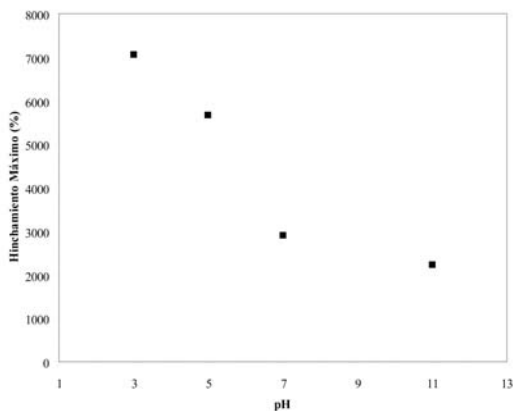


Fig. 3. Porcentaje de hinchamiento máximo como función del pH del medio de hinchamiento para los hidrogeles de quitosana/FDS con una relación masa 5/1 y un porcentaje de sólidos totales del 4%.

miento es menor que en los otros medios. Esto sugiere, que la capacidad de hinchamiento en el hidrogel es controlada principalmente por el pH de la solución y las interacciones electrostáticas entre los grupos NH_3^+ y los aniones PO_4^{3-} , lo cual dependen principalmente del pH de la solución. En la Fig. 3 que muestra el porcentaje de hinchamiento máximo a diferentes valores de pH, se puede observar que la capacidad de absorción de este tipo de hidrogeles decae a medida que aumenta el pH del medio hidratante.

Cuando los hidrogeles de quitosana/FDS se hinchan en un medio ácido (pH 3 a 5) la quitosana tiene una densidad de carga alta ($\text{pk}_6=6.3$) y casi todos los grupos NH_2 están protonados en NH_3^+ ; mientras el FDS está ionizado ($\text{pk}_1=1.2$) formando solo grupos aniónicos monofuncionales H_2PO_4^- . Por tanto, la densidad de entrecruzamiento iónico es baja, además la quitosana tiene muchos grupos NH_3^+ sin reaccionar distribuidos en la red del hidrogel. Esto atrae contraiones creando una concentración alta dentro del hidrogel, que resulta en una diferencia neta de concentración entre el interior y exterior del hidrogel. Las cargas positivas NH_3^+ también provocan fuerzas de repulsión, las cuales contribuyen a aumentar el hinchamiento del hidrogel.

En el medio de hinchamiento neutro (pH 7) la quitosana tiene una densidad de carga baja, la mayor parte de los grupos NH_3^+ están desprotonados (aproximadamente 90%) (Shu y col., 2002) y el FDS aumenta el grado de ionización ($\text{pk}_2=7.2$) formando los aniones bifuncionales HPO_4^{2-} . Esto aumenta la densidad de entrecruzamiento iónico en el hidrogel y disminuyen las repulsiones entre los grupos NH_3^+ de la quitosana; lo cual se puede verificar si observamos la caída en los porcentajes de hinchamiento del hidrogel en medio neutro respecto a sus porcentajes de hinchamiento en medio ácido.

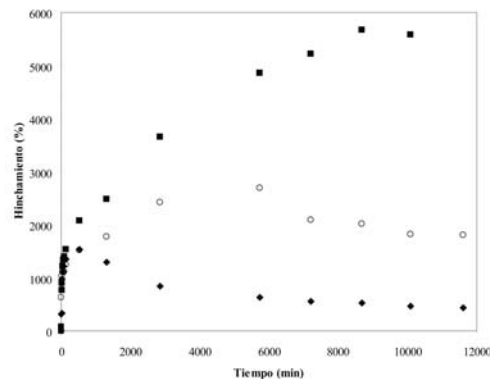


Fig. 4. Efecto del sobrehinchamiento para los hidrogeles de quitosana/FDS con una relación masa 5/1 y un porcentaje de sólidos totales del 4% en diferentes medios de hinchamiento (■ pH 3, ○ pH 5 y ♦ pH 7).

En el medio de hinchamiento básico (pH 11), la quitosana tiene una densidad de carga casi nula de los grupos NH_3^+ , estos grupos están totalmente desprotonados; en el FDS aumenta el grado de ionización ($\text{pk}_3=11.3$) formando grupos aniónicos PO_4^{3-} . La densidad de entrecruzamiento iónico es muy bajo, pero se forman enlaces de hidrogeno con los grupos aniónicos del FDS lo que aumenta la densidad de entrecruzamiento, además prácticamente las interacciones disminuyen entre los grupos NH_3^+ , por lo tanto el hinchamiento es muy bajo comparado con el medio ácido.

La Fig. 4 es un ejemplo de los resultados obtenidos al comparar el porcentaje de hinchamiento en función del tiempo, la gráfica corresponde al caso de los hidrogeles de quitosana/FDS en relación masa 5/1 y con un 4% en sólidos totales hinchados en diferentes medios. Se observa el sobrehinchamiento en tres etapas: En la primera todos los hidrogeles se hinchan hasta un tiempo determinado. En la segunda etapa para los sistemas que hinchan en medio básico y neutro disminuye el porcentaje de hinchamiento hasta llegar a un equilibrio, mientras que en medio ácido se observó una disminución brusca en el hinchamiento y en consecuencia un colapsamiento. Considerando que el hinchamiento del hidrogel en medio básico y neutro en la primera etapa, es debido a la presencia de los aniones del FDS y a los grupos NH_3^+ de la quitosana, la segunda etapa consiste en el establecimiento de entrecruzamientos físicos en el hidrogel debido a la formación de enlaces de hidrogeno entre los grupos aniónicos del FDS. Lo anterior provoca la expulsión de una parte del agua absorbida, disminuye el hinchamiento debido al aumento de la densidad de entrecruzamiento en el hidrogel. Como se observa, esta etapa es más lenta que la etapa anterior. Finalmente, en la tercera etapa se obtienen las condiciones de equilibrio en el hinchamiento del hidrogel.

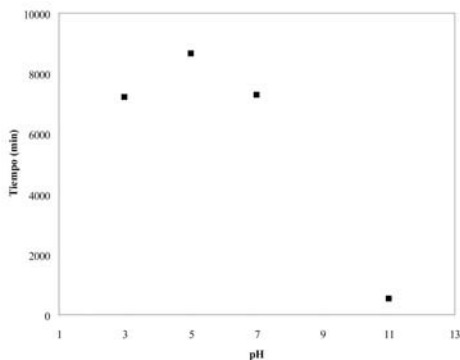


Fig. 5. Efecto del pH del medio de hinchamiento sobre la duración de la primera etapa de hinchamiento para los hidrogeles de quitosana/FDS con una relación masa 5/1 y un porcentaje de sólidos totales del 4%.

La Fig. 5 muestra el tiempo donde termina la primera etapa de hinchamiento en función del pH del medio de hinchamiento para el hidrogel quitosana/FDS con una relación masa de 5/1 y un 4 % de sólidos totales. Se observa que en medio ácido y neutro la primera etapa del hinchamiento se lleva a cabo en tiempos grandes, mientras que en medio básico el tiempo es menor ya que la variación del pH del medio de hinchamiento induce cambios en el grado de ionización de los grupos NH_3^+ y aniones del FDS dentro del hidrogel. Si el pH del medio se reduce puede ocurrir disociación de enlaces iónicos, en consecuencia aumenta la concentración de grupos NH_3^+ provocando un grado de hinchamiento mayor en tiempos relativamente altos. Si el pH se incrementa, puede ocurrir la desprotonación del grupo NH_3^+ lo cual induce a una disminución del enlace iónico pero aumenta la ionización del grupo aniónico del FDS, que se observa como una disminución del grado de hinchamiento en tiempos relativamente largos.

Es importante conocer la cinética de hinchamiento de los hidrogeles, ya que el proceso nos da información de cuál será el comportamiento de estos materiales en aplicaciones como la liberación de medicamentos. Existen pocas teorías rigurosas que expliquen la cinética de hinchamiento de un hidrogel; sin embargo algunos autores han propuesto que el hinchamiento puede ser descrito con una ecuación cinética de segundo orden (Lee y col., 1999)

$$\frac{dH}{dt} = k(H_\infty - H)^2 \quad (2)$$

donde, H es el hinchamiento (g agua/g xerogel), H_∞ es el hinchamiento en el equilibrio, k es la constante de velocidad de hinchamiento (g xerogel/g agua·min), y t es el tiempo (minutos). Integrando la ecuación (2), y aplicando las condiciones iniciales (en $t = 0$ tenemos un xerogel, en t muy alto tenemos un hidrogel completamente hinchado):

Tabla 1. Valores de la constante de velocidad de hinchamiento (g xerogel/g agua·min) para los hidrogeles de quitosana/FDS a diferentes porcentajes de sólidos totales (% en peso).

Sólidos totales	k
2	3.62×10^{-6}
3	1.74×10^{-6}
4	1.83×10^{-6}

$$\frac{t}{H} = \frac{1}{k_\infty} + \frac{t}{H_\infty} \quad (3)$$

$$k_\infty = kH_\infty^2 \quad (4)$$

donde, k_∞ es la constante de velocidad de hinchamiento en el equilibrio. Cuando la cinética de hinchamiento corresponde a una cinética de segundo orden, la Ec. (3) es una línea recta, y H_∞ and k se despejan de la pendiente y el intercepto de la línea, respectivamente. La Tabla 1 muestra las constantes de velocidad de hinchamiento (k) obtenidas a diferentes valores de sólidos totales. La disminución en la velocidad de hinchamiento cuando se incrementa la cantidad de sólidos (k disminuye) sugiere que las interacciones específicas entre la red polimérica y el medio son más lentas por la presencia de una mayor cantidad de sólidos en la síntesis del material, y esto provoca una disminución en la capacidad de hinchando de los hidrogeles (Katime y col., 2004). Considerando que el proceso de hinchamiento es influenciado por la relación entre las moléculas del medio de hinchamiento y los grupos activos del polímero (aminas, amidas, carboxilos), se pueden esperar muchos tipos de interacciones polímero-solución, y probablemente una cinética compleja.

Conclusiones

La quitosana fue entrecruzada iónicamente con fosfato dibásico de sodio (FDS). El porcentaje de hinchamiento fue alto cuando disminuyó la razón molar de FDS en los hidrogeles. Los hidrogeles de quitosana/FDS presentaron sensibilidad al pH del medio de hinchamiento. En medio ácido el porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles fue alto debido al grado de protonación de los grupos amonio en la quitosana y su densidad de entrecruzamiento fue baja, mientras que en medio básico el porcentaje de hinchamiento fue bajo debido al grado de desprotonación de los grupos amonio de la quitosana y su densidad de entrecruzamiento fue alta por los enlaces de hidrógeno. Se observó sobrehinchamiento en los hidrogeles de quitosana/FDS hinchados en medio básico y neutro, esto sugiere un aumento de la densidad de entrecruzamiento debido a los enlaces hidrógeno en los aniones del FDS, mientras que en medio ácido el hidrogel colapsó. La quitosana entrecruzada iónicamente mostró capacidad de hinchamiento alta, por tanto, la quitosana

entrecruzada puede ser preparada para obtener propiedades deseadas en términos de la densidad de entrecruzamiento e hidrofiliidad, esto puede ser útil en la industria biomédica, utilizándolos como sistemas para la liberación de fármacos.

Referencias

- Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Peppas, N.A., Gurny, R. (2004a). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57, 19-34.
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Gurny, R. (2004b). Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57, 35-52.
- Bhumkar, D.R., Pokharkar, V.B. (2006). Studies of effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note. *AAPS PharmSciTech* 7, Article 50 (www.aapspharmsci.org).
- Dean, J.A. (1972). *Lange's handbook of chemistry*. 13th Edition, Pp. 5.16-5.17, McGraw-Hill, New York.
- Felt, O., Buri, P., Gurny, R. (1998). Chitosan: A unique polysaccharide for drug delivery. *Industrial Pharmacy* 24, 979-993.
- Gehrke, S.H., Cussler, E.L. (1989). Mass transfer in pH-sensitive hydrogels. *Chemical Engineering Science* 44, 559-566.
- Helfferrich, F.G. (1995). *Ion exchange*. Dover Publications, New York.
- Illum, L. (1988). Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. *Pharmaceutical Research* 15, 1326-1331.
- Katime, I., Katime, O., Katime, D. (2004). *Los materiales inteligentes de este milenio: Los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones*. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco, Bilbao.
- Lee, J.W., Kim, S.Y., Kim, S.S., Lee, Y.M., Lee, K.H., Kim, S.J. (1999). Synthesis and characteristics of interpenetrating polymer network hydrogel composed of chitosan and poly(acrylic acid). *Journal of Applied Polymer Sciences* 73, 113-120.
- Monobe, K. (1960). Studies on the electrochemical properties of copolymers of maleic acid. *The Review of Physical Chemistry of Japan* 30, 138-144.
- Peppas, N.A., Franson, N.M. (1983). The swelling interface number as a criterion for prediction of diffusional solute release mechanisms in swellable polymers. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* 21, 983-997.
- Sundaram, G., Wang, T., Chai, C. (2006). Swelling of pH-sensitive chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science* 102, 4665-4671.
- Shu, X.Z., Zhu, K.J., Song, W. (2001). Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for controlled drug release. *International Journal of Pharmacy* 212, 19-28.
- Shu, X.Z., Zhu, K.J. (2002). The influence of multivalent phosphate structure on the properties of ionically cross-linked chitosan films for controlled drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 54, 235-243.