

Síntesis y caracterización de un material criogénico a partir de quitosano y celulosa

Rafael García-González¹, Rosa Elvira Zavala-Arce^{1*}, Pedro Ávila-Pérez^{1,2}, Beatriz García-Gaitán¹, José Luz González-Chávez³, Claudia Muro-Urista¹ y Gabriel Luna-Bárceñas⁴

¹División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Toluca, Av. Instituto Tecnológico s/n, Ex-Rancho La Virgen Metepec, México, C.P. 52140. ²Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Dirección de Investigación Tecnológica, Carretera México-Toluca s/n La Marquesa, Ocoyoacac, México, C.P.52750. ³División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, México D. F. C.P. 04510. ⁴Laboratorio de Procesamiento de Polímeros, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Querétaro. Libramiento Norponiente #2000, Fracc. Real de Juriquilla. C.P. 76230

Synthesis and characterization of a cryogel from chitosan and cellulose

Síntesi i caracterització d'un material criogènic a partir de quitosan i cel.lulosa

Recibido: 27 de septiembre de 2013; revisado: 11 de enero de 2014; aceptado: 15 de enero de 2014

RESUMEN

Los criogeles formados a partir de los polisacáridos quitosano y celulosa están conformados por una red macroporosa e interconectada con áreas superficiales altas. Dichos criogeles ofrecen un uso prometedor en la remoción de cobre a partir de soluciones acuosas. Este trabajo propone la ruta de síntesis del criogel quitosano-etilenglicol diglicidil éter-celulosa (Q-egde-C) y en él se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de este material con la finalidad de evaluarlo en trabajos posteriores como adsorbente de iones Cu^{+2} . Las pruebas y técnicas de caracterización utilizadas fueron: solubilidad, porcentaje de hidratación, microscopía electrónica de barrido (MEB), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), área específica y potencial Z. El criogel obtenido es un biomaterial insoluble en agua, con un índice de hinchamiento de ca. 1921 %; su estructura macroporosa contiene grupos amino primarios ($-\text{NH}_2$) con un área superficial de $16 \text{ m}^2/\text{g}$. La síntesis presentada es sencilla con un buen control morfológico en la escala micro y nanométrica, así mismo el criogel mostró mediante la determinación del potencial Z que es capaz de interactuar con el ión Cu^{+2} presente en agua.

Palabras claves: Celulosa; caracterización; criogel; ISISA; quitosano

SUMMARY

Cryogels based on chitosan and cellulose are formed by a macroporous interconnected network with high surface areas. Such cryogels are a promising material for heavy metal removal from aqueous solutions. This work proposes the synthesis and characterization of the cryogel chitosan-ethylene glycol diglycidyl ether-cellulose (Q-edge-C) to determine its potential use as sorbent of Cu^{+2} . We report the solubility, swelling, SEM imaging, FTIR, specific

area and Z-potential behaviors. Synthesized cryogels are water insoluble with swelling index of ca. 1921%; their macroporous structure possess primary amine groups with surfaces areas of $16 \text{ m}^2/\text{g}$. The synthesis presented here is a simple route to form macroporous materials with micro- and nanometric features; cryogels formed show strong interactions with Cu^{+2} in aqueous solution as resolved by Z-potential measurements.

Keywords: cryogels, chitosan, cellulose, ISISA, characterization

RESUM

Els criogeles formats a partir dels polisacàrids quitosan i cel.lulosa estan conformats per una xarxa macroporosa i interconnectada amb àrees superficials altes. Aquests criogeles ofereixen un ús prometedor en la remoció de coure a partir de solucions aquoses. Aquest treball proposa la ruta de síntesi del criogel quitosan-etilenglicol diglicidil éter - cel.lulosa (Q-EGDE-C) i en ell es presenten els resultats obtinguts de la caracterització d'aquest material amb la finalitat d'avaluar en treballs posteriors com adsorbent d'ions Cu^{+2} . Les proves i tècniques de caracterització utilitzades van ser: solubilitat, percentatge d'hidratació, microscòpia electrònica de rastreig (MER), espectroscòpia infraroja per transformada de Fourier (FTIR), àrea específica i potencial Z. El criogel obtingut és un biomaterial insoluble en aigua, amb un índex d'inflament de ca. 1.921% , la seva estructura macroporosa conté grups amino primaris ($-\text{NH}_2$) amb una àrea superficial de $16 \text{ m}^2/\text{g}$. La síntesi presentada és senzilla amb un bon control morfològic en l'escala micro i nanomètrica, així mateix el criogel va mostrar mitjançant la

* Autor para la correspondencia: rzavalaa@ittoluca.edu.mx

determinació del potencial Z que és capaç d'interaccionar amb l'ió Cu^{+2} present en aigua.

Paraules clau: Cel·lulosa; caracterització; criogel; ISISA; quitosan.

INTRODUCCIÓ

La contaminació de los cuerpos de agua mediante metales pesados, tanto superficiales como subterráneos, es considerada un problema de salud mundial. Los metales se distinguen de otros contaminantes del agua debido a sus transformaciones químicas y a que no son biodegradables, por lo que tienden a bioacumularse causando grandes impactos ambientales, económicos y de salud pública [3]. El incremento de la concentración de metales pesados en cuerpos de agua superficiales se ha atribuido principalmente a actividades industriales y agrícolas [4], por tal motivo, se han creado estrictas regulaciones ambientales sobre las concentraciones máximas de metales pesados en las descargas de agua residual, haciendo necesario el desarrollo de tecnologías eficientes para su remoción [5]. La precipitación química, filtración por membranas, intercambio iónico y la sorción son procesos comúnmente usados [6], aunque su aplicación es limitada por cuestiones económicas o técnicas [7]. Particularmente, la sorción es el método más adecuado bajo las condiciones de campo debido a su fácil operación, a la poca o nula producción de lodos y a la alta eficiencia de remoción [8]. Dentro de la sorción, el uso de materiales naturales como sorbentes, (denominado como tal biosorción) ha adquirido gran importancia debido a su alta eficiencia y bajos costos de operación. Los materiales naturales que han sido investigados por sus bajos costos son las bacterias, los hongos, las levaduras, las microalgas, y el quitosano (Q), los cuales han mostrado una adecuada capacidad de sorción de los metales pesados [1, 7].

El Q es la forma desacetilada de la quitina (segundo material más abundante en la naturaleza), el cual cuenta con la presencia de grupos $-\text{NH}_2$ obtenidos tras la desacetilación y es uno de los pocos polielectrolitos catiónicos presentes en la naturaleza. El pKa del Q es 6.5, estas características proporcionan al Q excelentes propiedades para formar geles [9, 10] y un alto potencial de sorción de iones metálicos [11, 12]. Por otro lado, la celulosa (C) es considerada como la alternativa más prometedora de los recursos fósiles, sobre todo porque es abundante en la naturaleza y es renovable de manera natural. Las moléculas del Q y la C son muy similares, la única diferencia es el grupo funcional enlazado al carbono 2 de la estructura molecular del carbohidrato. El Q tiene al grupo amino (NH_2) y la C tiene al grupo hidroxilo (OH) [13]. Estos dos materiales ya han sido usados como materia prima para la síntesis de hidrogeles en forma de esferas, polvos y películas y han mostrado ser eficientes en la adsorción de metales [2, 13, 14, 15]. Sin embargo, presentan una limitante importante; tienen baja resistencia mecánica, siendo una de las posibilidades de mejora a través del entrecruzamiento. El entrecruzamiento involucra dos unidades estructurales, las cuales pueden o no pertenecer a la misma cadena polimérica y entre mayor sea el grado de entrecruzamiento tienden a predominar los enlaces covalentes. Según Gonçalves y colaboradores [16], el grado de entrecruzamiento es el principal pará-

metro que influye en las propiedades de resistencia mecánica. Existen procedimientos de reticulación de éteres de celulosa catiónicos utilizando etilen glicol diglicidil éter (egde), ya que los glicidiléteres cuentan con la ventaja de que presentan una toxicidad muy baja [17].

Cuando se congela una disolución, una suspensión acuosa o un hidrogel, la formación de hielo cristalino provoca que los solutos inicialmente dispersos en el medio acuoso sean exudados hacia las fronteras entre cristales adyacentes, formando una matriz alrededor de ellos [18]. Éste es el principio natural en el que se basa el procedimiento de auto ensamblado mediante moldeado en hielo.

En la obtención de los criogeles, se emplea un sistema de congelado unidireccional a velocidad controlada. De esta forma se consigue una estructura homogénea de cristales de hielo alineados en la dirección del congelado [18, 19, 20]. Del secado por liofilización de estas muestras, se obtienen estructuras macroporosas que reproducen patrones ordenados y definidos, genéricamente denominados criogeles o scaffolds (andamiajes). Este proceso de moldeado con hielo es definido como proceso de autoensamblado inducido por segregación de hielo o ISISA (por sus siglas en inglés, *Ice Segregation Induced Self-Assembly*) (Williams, 1977, citado en Hortigüela, [21] y [22]). La singularidad de los criogeles radica en el hecho de que el método para su producción es simple y limpio, conduciendo a la formación de una red macroporosa interconectada y con una considerable área superficial [23]. Estos materiales se empiezan a estudiar como sorbentes de iones metálicos [24, 25].

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue sintetizar un criogel a partir de un gel acuoso polimérico Q y C entrecruzado con egde (Q-egde-C) y determinar sus propiedades físicas, químicas y estructurales, mediante pruebas de solubilidad, determinación del porcentaje de hidratación, microscopía electrónica de barrido, espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier, área específica y potencial Z.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la síntesis del criogel quitosano-celulosa (Q-C) sin entrecruzar y entrecruzado (Q-egde-C) se empleó quitosano de peso molecular medio (ca. 350 kDa) y con un grado de desacetilación del 75 %, celulosa microgranular, etilenglicol-diglicidil-éter (egde) al 50 % v/v como agente entrecruzante (todos de Sigma Aldrich[®]) y agua desionizada (DI).

Síntesis del gel acuoso Q-egde-C. El método para la síntesis del gel acuoso de Q-C se basó en lo descrito por Li y Bai [2] con algunas modificaciones. Se preparó una disolución de Q al 2 % en peso resolviendo Q en ácido acético 0.4 M; se agitó a 65 °C; después, a temperatura ambiente se adicionó una cantidad de C en relación 1:1 con respecto del Q y se continuó con agitación a temperatura ambiente durante 24 horas, obteniendo el gel acuoso Q-C. Transcurrido este tiempo se calentó la disolución y se agregó el egde (para el criogel entrecruzado) y se continuó con agitación moderada durante 6 horas.

Preparación de criogeles Q-egde-C y Q-C. De acuerdo a lo especificado en la técnica ISISA se recolectó el gel acuoso Q-C y Q-egde-C en recipientes que se sumergieron unidireccionalmente a 6.0 mm/min en un baño criogénico. Las muestras congeladas fueron fracturadas para obtener piezas de 1.5 cm de longitud y 0.5 cm de diámetro, después se secaron por liofilización (0.025 mbar de vacío y -84 °C) y se procedió a acondicionar a los criogeles mediante lavados con DI hasta que el valor del pH de la solución de lavado fuera igual al pH del DI.

Caracterización del criogel Q-C y Q-egde-C. Se determinó si los criogeles eran insolubles en soluciones acuosas, el porcentaje de hidratación, su morfología, se identificaron los grupos funcionales característicos del material, el área específica. Finalmente se determinó el potencial Z del criogel sin sorber y una vez que sorbió Cu^{+2} .

Pruebas de solubilidad. Esta prueba se realizó por duplicado con el criogel Q-egde-C y Q-C tomando segmentos de cada uno de ellos y colocándolos en vasos de precipitado con DI a dos valores de pH (6.0 y 7.0) durante 24 h.

Porcentaje de hidratación. El porcentaje de hidratación del criogel Q-egde-C, se determinó a un pH de 6.0. Primero se registró el peso inicial de los criogeles. En seguida las muestras se colocaron en vasos de precipitado con DI al pH establecido y se colocaron en agitación a 150 rpm. Los criogeles de cada vaso se pesaron a diferentes tiempos desde 5 hasta 225 min. Por último se calculó el porcentaje de hidratación por medio de la siguiente ecuación:

$$W_p = \frac{P_h - P_s}{P_s} * 100 \quad (1)$$

Donde P_h es el peso húmedo del criogel, P_s es el peso seco del mismo y W_p es el porcentaje de hidratación. Finalmente, se trazó una gráfica de % de hidratación *versus* tiempo (min).

Caracterización morfológica por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Las micrografías se obtuvieron a través de un equipo JEOL JSM-6610 acoplado a un sistema de micro análisis EDS (Electron dispersive Spectroscopy). Se observaron secciones transversales (perpendiculares a la dirección de congelamiento) y longitudinales (paralelas a la dirección de congelamiento) de los criogeles, en modo de alto vacío (HV) con un voltaje de 20 Kv y una distancia de trabajo de 10 mm; las muestras se recubrieron con oro mediante un equipo de DENTON VACCUUM DESKII (a 60 segundos y a una corriente de 20 miliamperios).

Caracterización mediante FTIR. Se analizó el criogel Q-egde-C y sus precursores, el Q y la C. Los análisis se hicieron en un equipo SpectrumTM GX 2000 de Perkin Elmer mediante reflectancia total atenuada (ATR por sus siglas en inglés) en la región del infrarrojo de 4000 a 400 cm^{-1} con 16 barridos y una resolución de 4 cm^{-1} .

Área específica (BET). Para determinar el área específica de los criogeles, Q-C y Q-egde-C se utilizó el método de BET (Brunauer, Emmett, y Teller) en un equipo Belsorp max de la marca Bel Japan inc., a una temperatura ca. -196 °C y una presión de 0.05-0.3 atm.

Potencial Z. Para determinar la carga superficial de los criogeles en función del pH se determinó el potencial Z. Esta medición se hizo tanto para el criogel Q-egde-C sin sorber y después de sorber iones de una solución acuosa, después de correr una prueba preliminar de sorción de Cu^{2+} con los criogeles sintetizados. Estas mediciones se hicieron en un equipo Zeta-Meter 3.0+, para lo cual los criogeles sin sorber y después de sorber iones Cu^{+2} fueron molidos en un mortero; se preparó una solución salina disolviendo NaCl en agua a la que se le adicionaron 100 mg del criogel molido y se agitó por 10 min. En seguida se tomaron 8 muestras de 50 mL en vasos de precipitados y se les ajustó el valor de pH de 3 a 10 por adición de HCl de 0.1 a 1.0 M y NaOH de 0.1 a 1.0 M según correspondiera y finalmente se realizó la determinación del potencial Z. Las condiciones de operación del equipo fueron: 100 voltios de diferencia de potencial entre los electrodos energizados, micrómetro ocular en escala completa y se realizaron 14 lecturas por cada muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis del criogel Q-edge-C y Q-C. A partir de los gels acuosos Q-C y Q-egde-C, así como mediante la técnica ISISA, se obtuvo un material con una estructura porosa denominado criogel Q-C y Q-egde-C. Los criogeles obtenidos mantuvieron la forma de los recipientes que los contenían como se observa en la Figura 1 y que a simple vista no presentan una diferencia significativa entre ellos.



Figura 1. Criogeles de Q-C y Q-egde-C.

Caracterización del criogel Q-C y Q-egde-C

Prueba de solubilidad. Durante la prueba de solubilidad del criogel Q-egde-C se hinchó de manera uniforme manteniendo su estructura homogénea, sin deformación aparente y sin alguna modificación que indicara que el criogel se estaba disolviendo. Por otro lado, el criogel Q-C desde el inicio de la prueba se hinchó de forma diferente; a los 30 minutos de la prueba la morfología del criogel Q-C se observó esponjosa y filamentosa; después de una hora de agitación se destruyó. Dados los resultados anteriores, se determinó que no era posible utilizar el criogel Q-C para pruebas donde se requiriera mantener la estructura del mismo. El comportamiento anterior se atribuye a la presencia del entrecruzante (egde) en el criogel Q-egde-C que según Berger y colaboradores [26], promueve uniones de tipo covalentes en este material, lo cual favorece la insolubilidad del criogel en el agua, a diferencia del criogel Q-C que no contiene el entrecruzante (egde).

Caracterización por microscopía electrónica de barrido (MEB). En la Figura 2 se muestran las micrografías obtenidas del criogel Q-egde-C y Q-C, que revelan en su sección transversal una estructura macroporosa y tri-dimensional, el tamaño de los poros varía entre 10 y 20 μm para ambos criogeles, y están interconectados en la dirección del avance del congelamiento.

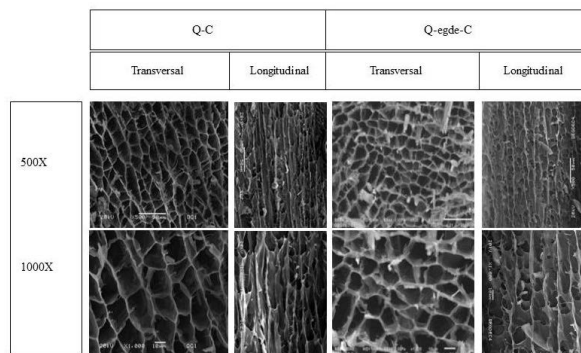


Figura 2. Micrografías de SEM Q-C y Q-egde-C.

Las micrografías de la sección longitudinal muestran una estructura de porosidad abierta e interconectada, reproduciendo la morfología del frente de hielo, con una macroestructura de canales o de láminas alineadas en paralelo, siguiendo la dirección del avance de congelamiento. Al comparar las micrografías del criogel entrecruzado y el que no lo está, se observa que mantienen una estructura porosa e interconectada con características semejantes en cuanto a tamaño de poro y canales interconectados en la dirección del frente de congelamiento.

Determinación del porcentaje de hidratación. Esta prueba se realizó a partir del criogel seco Q-egde-C. En la Figura 3 se observa que en los primeros 15 minutos se presenta un hinchamiento acelerado, el cual se mantiene estable a partir de los 35 minutos hasta alcanzar un porcentaje de hidratación máximo de ca. 1921 %.

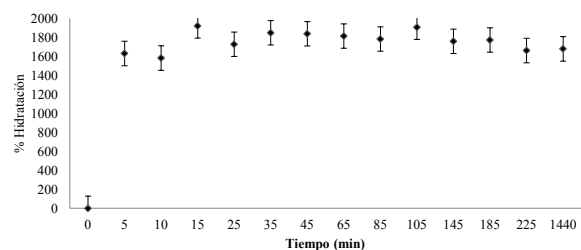


Figura 3. Cinética de hinchamiento del criogel Q-egde-C.

En el caso del criogel Q-C no fue posible determinar el porcentaje de hidratación, debido a que como se mencionó anteriormente éste se disuelve en agua.

Caracterización por FTIR. En la Figura 4 se muestra el espectro de infrarrojo del Q en polvo, de la celulosa y del criogel Q-egde-C.

Quitosano. El espectro del Q presentó una banda a 3348.6 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo que corresponde a alcoholes secundarios;

a 3282.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo amino N-H que corresponde a una amina primaria (NH_2); a 2917.4 cm^{-1} se atribuye a la vibración de estiramiento C-H del grupo alifático de tipo metilidieno; a 2868.5 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H del grupo metileno $-\text{CH}_2$; a $1648,7\text{ cm}^{-1}$ se asigna a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo que corresponde a una amida (C-ONH); a 1420.2 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión del grupo amino N-H, a 1376.5 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión del hidroxilo $\text{CH}_2\text{O}-\text{H}$; a 1309.7 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión del grupo alifático de tipo metileno C-H en CH_2 , a 1060.5 cm^{-1} se asigna a una vibración de estiramiento C-O y a 1022.7 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo C-N.

Celulosa. El espectro obtenido, presenta una banda a 3416.2 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo que corresponde a alcoholes secundarios; a 2901.9 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H correspondiente al metileno $-\text{CH}_2-$; a 1636.9 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del enlace O-C-O del carbón anomérico; a 1431.3 , 1371.9 y 1318.7 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión de los diferentes tipos de los grupos $-\text{CH}-$ y $-\text{CH}_2-$; las bandas a 1164.7 , 1113.7 , 1058.3 y 1030.6 cm^{-1} se asignan a vibraciones de estiramiento del grupo C-O de los diferentes tipos de alcoholes, así como del carbón anomérico; a 667.9 , 612.0 y 568.5 cm^{-1} se asignan a vibraciones de balanceo en el plano del grupo $-\text{CH}_2$.

Quitosano-egde-Celulosa. El espectro del Q-egde-C presenta una banda a 3341.7 cm^{-1} que se asigna a la vibración de estiramiento O-H del grupo hidroxilo y corresponde a alcoholes secundarios; a 3280.8 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento N-H que corresponde a una amida mono sustituida (CON-HR) debido al entrecruzamiento con el egde; a 2918.3 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento C-H del grupo alifático de tipo metilidieno; a 2847.0 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento alifático del enlace C-H que corresponde al grupo metileno $-\text{CH}_2$; a 1642.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo C-N que corresponde a una amida ($\text{CO}-\text{NH}_2$); a 1549.6 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión de una amida mono sustituida $\text{CO}-\text{NH}$; a 1377.2 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión O-H del grupo hidroxilo; a 1313.1 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión C-H del grupo alifático de tipo metileno $-\text{CH}_2$, a 1155.1 cm^{-1} se asigna a la vibración de flexión C-O-C correspondiente a ésteres alifáticos $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2$; a 1065.3 cm^{-1} se asigna a una vibración de estiramiento de C-O y a 1026.0 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento del enlace C-N. El espectro del criogel Q-egde-C es similar al de sus precursores, por lo que los grupos amino $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ se encuentran disponibles en el criogel. Se sabe que el átomo de N es el principal sitio de adsorción de Cu^{+2} en las esferas que sintetizaron a partir de quitosano y celulosa, y que el átomo de oxígeno presente en el grupo hidroxilo del quitosano y la celulosa también podrían estar involucrados en la adsorción del Cu^{+2} [2]. Por lo tanto, el criogel Q-egde-C, al ser sintetizado a partir de estos polisacáridos también contiene grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, lo cual resulta favorable para realizar posteriores estudios de sorción, ya que estos grupos -principalmente el $-\text{NH}_2$ - actúan como sitios de coordinación de iones divalentes [27, 28, 29].

2. Li Nan y Bai Renbi. Copper adsorption on chitosan-cellulose hydrogel beads: behavior and mechanisms. *Separation and Purification Technology* .42. 2004.
3. Justi, K. C., Fávere, V. T., Laranjeira, M. C. M., Neves, A., Peralta, R. A. Kinetics and equilibrium adsorption of Cu(II), Cd(II), and Ni(II) ions by chitosan functionalized with 2[-bis-(pyridylmethyl)aminomethyl]-4-methyl-6-formylphenol. *Journal of Colloid and Interface Science*. 291 (2). 2005.
4. Prasad, M., Saxena, S., Amritphale, S. Adsorption models for sorption of zinc on francolite mineral. *Industrial Engineering Chemical Research*. 41. 2002.
5. Reddad, Z., Gerente, C., Andres, Y., Le Cloirec, P. Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent kinetics and equilibrium studies. *Environmental Science and Technology*. 36. (2002).
6. Basso M., Cerrella, E., Cukierman, A. Activated Carbons Developed from a Rapidly Renewable Biosource for Removal of Cadmium (II) and Nickel (II) Ions from Dilute Aqueous Solutions. *Industrial Engineering Chemical Research*. 41. 2002.
7. Vijayaraghavan, K., Palanivelu, K., Velan, M. Biosorption of copper (II) and cobalt (II) from aqueous solutions by crab and shell particles. *Bioresource Technology*. 97. 2006.
8. Kannan, N. y Rengasamy, G. Comparison of cadmium ion adsorption on various activated carbons. *Water, Air, and Soil Pollution*. 163. 2005.
9. Krajewska, B.; Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme and Microbial Technology*. 35. 2004.
10. Chenite, A.; Gori, S.; Shive, M.; Desrosiers, E.; Buschmann, M.D. Monolithic gelation of chitosan solutions via enzymatic hydrolysis of urea; *Carbohydrate Polymers*. 64. 2006.
11. Guibal, E., Milot, C. and Tobin, J. M. Metal-anion sorption by chitosan beads: equilibrium a kinetic studies. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 37 (4), 1998.
12. Ngah, W.S.W., Ghani, S.A., Hoon, L. L. Comparative adsorption of lead (II) on flake and bead-types of chitosan. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 49. 2002a.
13. Vázquez L. M. O. Tesis Incorporación de quitosano a polímeros compuestos para aplicación en ingeniería ambiental. Universidad de Guadalajara. 2009.
14. Jeon C., y Park K. H. Adsorption and desorption characteristics of mercury (II) ions using aminated chitosan bead. *Water Research*. 39. 2005.
15. Wang X., Chung S. C., Lyoo W. S. y Byug G. M. Preparation and properties of chitosan/polyvinyl alcohol blend foams for copper adsorption. *Polymer International*. 55. 2006.
16. Gonçalves, V. L., Laranjiera, M. C. y Fávere, V. T. Polímeros: Ciência e Tecnologia. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 2005.
17. Allinger N. L., *Química Orgánica*, 2ª Ed. Reverté, S.A., Barcelona, 1988.
18. Deville, S.; Saiz, E.; Tomsia, A. P. "Ice-templated porous alumina structures" *Acta Mater*. 27. 2007.
19. Deville, S.; Saiz, E.; Tomsia, A. P. "Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering" *Biomaterials*. 27. 2006.
20. Mukai, S. R.; Nishihara, H.; Tamon, H. Formation of monolithic silica gel microhoneycombs (SMHs) using pseudosteady state growth of microstructural ice crystals. *Chem Commun*. 7. 2004.
21. Hortigüela G. M. J. Estructuras tridimensionales porosas de MWCNTs con aplicaciones en biomedicina y en biotecnología. Universidad de Burgos. Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid. Facultad de Ciencias. 2009.
22. Quintero-Ortega, A. I., Mota-Morales, D. J., Elizalde-Peña, A. E., Zárate-Triviño, G. D., De Santiago, A. Y., Ortiz, A., García, G. B., Sánchez, C. I., Luna-Bárceñas, G. Cryogenic Process to Elaborate Poly(ethylene glycol) Scaffolds. *Experimental and Simulation Studies*. *Industrial y Engineering chemistry Research*. 52. 2013.
23. Kumar Ashok. Supermacroporous Cryogels. *Indian Institute of Technology Kanpur*. 2008.
24. Wang X. Min B. Cadmium sorption properties of poly(vinyl alcohol)/hydroxyapatite cryogels: I. kinetic and isotherm studies. *The Journal of Sol-Gel Science and Technology* 43. 2007
25. Wang X. Min B. Cadmium sorption properties of poly(vinyl alcohol)/hydroxyapatite cryogels: II. Effects of operating parameters. *The Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 45. 2008.
26. Berger, J. Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A. y Gurny, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 57. 2004.
27. Paulino, A. T., Guilherme M R., Reis A. V., Tambourgi E. B., Nozaki J., Muniz E. C. Capacity of adsorption of Pb²⁺ and Ni²⁺ from aqueous solutions by chitosan produced from silkworm chrysalides in different degrees of deacetylation. *Journal of Hazardous Materials*. 147. 2007.
28. Vijaya, Y., Popuri, S. R., Boddu, V. M., Krishnaiah, A. Modified chitosan and calcium alginate biopolymer sorbents for removal of nickel (II) through adsorption. *Carbohydrate Polymers*, 72 (2). 2008.
29. Feng, C. W., Ru, L. T., Ruey, S. J. A review and experimental verification of using chitosan and its derivatives as adsorbents for selected heavy metals. *Journal of Environmental Management*. 91. 2010.
30. Güzel, F., Yakut, H., Topal, G. Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Mn (II), Co (II), Ni (II) and Cu (II) from aqueous solution by black carrot (*Daucus carota L.*) residues. *Journal of Hazardous Materials*. 153. 2008.
31. García-Mendieta, A. Características y propiedades de sorbentes naturales como materiales alternativos para disminuir las concentraciones de hierro y manganeso presentes en agua potable. División de Posgrado e Investigación (Instituto Tecnológico de Toluca). México, 2010. (Tesis doctoral).