

Evaluación *in vivo* del efecto cicatrizante de un gel a base de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

Healing effect of a chitosan-based gel obtained from the exoskeleton of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its evaluation *in vivo*

Heimy Franceline Martínez Sánchez*, Amada Yerén Escobedo Lozano**, Evaristo Méndez-Gómez***, Alfredo Emmanuel Vázquez****, Manuel de Jesús Sol Hernández*****, Anahí Elizabeth Osuna Lizárraga*****

Resumen

En México alrededor del 62 % de la población sufre de accidentes causantes de alteraciones en la piel como quemaduras, heridas y diabetes principalmente. Para atender esta problemática, se propone el uso de un gel de quitosano, obtenido del exoesqueleto de camarón ya que presenta actividad antimicrobiana e inmunológica acelerando la cicatrización. Se evaluó el efecto sinérgico sobre la velocidad de cicatrización, aplicándolo en heridas de 1 cm² infringidas a 48 ratones albinos, agrupados en cuatro tratamientos; Quitosano 0.15 y 0.30 %, producto cicatrizante (Ketanserina al 2 %) y blanco (testigos sin tratamiento). El tiempo para la cicatrización sin tratamiento y el producto comercial fue 14 días, teniendo el control un efecto cicatrizante del 0 %, mientras que los geles de quitosano 0.15 y 0.30 % cicatrizaron en 7 días (P> 0.05) con efecto cicatrizante del 58 % para el quitosano 0.15 y 64 % para el quitosano 0.30.

Palabras clave: piel, heridas, gel, quitosano, cicatrización.

Abstract

Skin problems in Mexico have steadily increased (62 %) by burns, wounds and diabetes mainly. To solve this problem, chitosan can be implemented; this polysaccharide has an antimicrobial and immunology activity against bacteria and fungi, accelerating healing. Therefore, synergistic effect of chitosan gel on the rate of healing, obtained from the exoskeleton of shrimp, that was evaluated. This was tested by applying it 1 cm² of inflicted wounds of 48 albino mice, of 45 days old and between 23 to 26 g of weight, during 14 days, and grouped into four treatments: 1) 0.15 % chitosan 2) 0.30 % chitosan, 3) commercial product 2 % Ketanserine and 4) A batch of untreated controls. The time required for healing without treatment was 14 days and with the utilization of 0.30 % chitosan gel was achieved in 7 days (P> 0.05) with the healing effect 58 % for the chitosan 0.15 and 64 % for chitosan 0.30.

Key words: skin, wounds, gel, chitosan, healing.

Recibido: octubre 15 de 2013

Aprobado: abril 15 de 2014

* M.C., Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México.

** Ph.D., Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México. amada1.ayel@gmail.com

*** Ph.D., Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México.

**** M. en I., Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México.

***** M.C., Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México.

***** M.C., Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Mazatlán, Mazatlán Sinaloa, México.

Introducción

Estudios realizados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía, señalan que la incidencia de problemas en la piel ocasionados por heridas y quemaduras en México se ha incrementado en el 2009, ya que el 62 % de la población había sufrido alteraciones en la piel (INEGI, 2009), además el 14 % de la población mexicana presenta trastornos en la piel ocasionadas por la diabetes. Al respecto, México se encuentra en el séptimo lugar a nivel mundial con problemas de diabetes (FMD, 2010)., presentándose en los afectados problemas de cicatrización, con engrosamiento y endurecimiento en la piel, los cuales pudieran ser estudiados mediante la aplicación de quitosano (poli β -N-acetil-glucosamina-co- β -glucosamina) por vía tópica, gel o mezclado con otras sustancias, sin añadir antibióticos, ya que se ha descrito actividad antimicrobiana e inmunológica del quitosano frente a bacterias y hongos (Khan *et al.*, 2002).

México tiene una gran fuente para la extracción de quitina y obtención de quitosano, debido a su elevada productividad camaronera, destacándose la acuicultura de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, la cual representa el 70 % de la producción anual total (CONAPESCA, 2010). Cabe aclarar que ninguna investigación específica el uso de quitina extraída de esta especie de camarón utilizada para la elaboración de un gel de quitosano como se propone en esta investigación, aunque su uso como cicatrizante se ha propuesto (Baltodano *et al.*, 2007, García *et al.*, 2008). Existen geles cicatrizantes a base Hialuronato de zinc y Ketanserina elaborados con sustancias químicas (Salazar *et al.*, 2000), haciéndolos toxigénicos con mínima biocompatibilidad y biodegradabilidad nula, también existen ungüentos de quitosano obtenido de caparazón de cangrejo presentando menor toxicidad (Baltodano *et al.*, 2007).

Por otro lado, el procesamiento del camarón en este país genera desechos que alcanzan un 30 % de la producción, esto indica la falta de aprovechamiento de biomoléculas de alta demanda mundial como la quitina, que puede ser transformada en quitosano teniendo diversas aplicaciones en agricultura, ganadería, industria (Lárez, 2003), cosméticos y biomedicina (Tapia *et al.*, 2009), requiriéndose la refinación del mismo para que adquiera grado farmacéutico y emplearlo en la curación de heridas, ya que la cicatrización conduce a la distorsión del tejido cicatrizante y daños morfofuncionales, ocasionados por la formación de tejido conectivo con disposición desordenada de apariencia fibrosa (Khalam *et al.*, 2003).

Por las razones anteriores, se propone evaluar *in vivo* el efecto cicatrizante de un gel de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, que ayude a la reconstrucción estructural adecuada de la piel (Feedar, 1995). Para ello, los lisosomas (órganulos encargados de la digestión celular de bacterias y agentes externos) son activados por las

células dañadas (células animales) y estimulados por el quitosano cuando éste se encuentra en contacto con la herida (Rhoades y Roller, 2000). La estimulación de los lisosomas ocurre por la presencia de tres grupos acetilos consecutivos localizados en la estructura del quitosano, permitiendo la identificación y degradación del mismo formando oligómeros que exponen el grupo amino y acetilo que actúan como antisépticos (Rabea *et al.*, 2003). Al ser activados los lisosomas por el quitosano, se induce la activación de los glicosaminoglicanos (GAG), los cuales se encuentran unidos a proteoglicanos formando proteínas de adhesión y encargados de la formación de fibrillas y enlaces con el colágeno de forma ordenada (Yadav y Bhise, 2009).

Por otro lado, la importancia de elaborar este gel radica en la utilización de los desechos de esta especie, contribuyendo en la disminución del problema de contaminación que causa y a su vez elaborar un producto tecnológico con aplicación biomédica, realizando una evaluación *in vivo* del efecto cicatrizante y comparándolo con un blanco (testigo sin tratamiento) y un control (producto comercial).

Materiales y métodos

El exoesqueleto de camarón blanco fue sometido a un tratamiento químico en tres etapas: desmineralización con ácido clorhídrico (HCl) a 37 °C, desproteínización con hidróxido de sodio (NaOH) a 50-60 °C para obtener quitina, la cual se caracterizó de acuerdo a los parámetros establecidos por Sahidí y Gamage en el 2007. La desacetilación se realizó empleando NaOH al 50 % para obtener el quitosano con relación p/p 1:10a 37 °C por tres horas. Para obtener quitosano grado farmacéutico, se purificó aplicando disolución y sistema de filtrado auxiliado con bomba de vacío, enseguida se centrifugó a una velocidad de 8000 rpm durante 15 minutos a 29 °C.

La calidad del quitosano (grado farmacéutico ó grado industrial) se determinó evaluando contenido de cenizas en base a la técnica establecida en la NMX-F-083-1986, porcentaje de humedad en base a la técnica establecida en la NMX-F-066-S-1978, porcentaje de grasas y aceites por la técnica de la NMX-AA-005-SCFI-2000, porcentaje de nitrógeno por la técnica establecida por la NMX-068-S-1980. El grado de desacetilación fue evaluado con el método de valoración potenciométrica (Baltodano *et al.*, 2007) y el peso molecular se determinó por el método viscosimétrico (Pastor, 2004).

Caracterizado el quitosano, se elaboró el gel 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 en-

vasaron en frascos de polietileno de 100 g previamente esterilizados (García y Roca., 2008).

Evaluación experimental *in vivo* del gel a base de quitosano

- Se realizaron 4 tratamientos por triplicado del Gel Q 0.30 (gel al 0.30 %), Gel Q 0.15 (gel al 0.15 %), blanco (sin tratamiento) y un control (tratados con producto comercial cicatrizante a base de Ketanserina al 2 %). En cada grupo experimental se trabajó con 12 animales, 6 hembras y 6 machos, colocados en jaulas individuales.
- Se utilizaron jaulas individuales de acero, con dimensiones de 15 x 12 x 12 cm, con sistema de limpieza y desinfección en base a la "Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: "ratón" (Fuentes *et al.*, 2008).
- Manejo de los ratones. Se alimentaron diariamente con pellets previamente esterilizados en autoclave y se cuidaron durante una semana sin tratamiento alguno para lograr su adaptación al sitio experimental, verificando el cumplimiento del peso necesario para el estudio. Después se depilaron con crema en el primer tercio dorsal anterior en un área de 1 cm². Posterior a la depilación, los ratones se colocaron en sus respectivas jaulas individuales, teniendo libre acceso a bebida y comida (Fuentes *et al.*, 2008).
- Incisión. Después de 24 horas de la depilación, el ratón fue colocado sobre la mesa de trabajo, desinfectando el área depilada y marcando el área de corte longitudinal utilizando una plantilla de plástico de 2 x 0.5 cm para lograr una herida de 1cm². Se reseco la piel con la aplicación de alcohol etílico al 85 %, retirando la primera capa de la piel hasta dejar expuesta la fascia, sin lesionarla (Baltodano *et al.*, 2007).
- Tratamiento. Para el grupo del Control se cubrió la herida con un tratamiento alterno constituido por una base gelificada con Ketanserina al 2 % como ingrediente activo; el grupo del Gel Q 0.15 fue tratado con gel con quitosano 0.15 %, el grupo Gel Q 0.30 se cubrió con gel con quitosano 0.30 % y ambos fueron cubiertos con un apósito limpio asegurando el contacto con la superficie de la herida, al grupo Blanco no se le aplicó nada en la herida. La curación se realizó cada 24 horas, renovando la aplicación de los geles y el apósito.
- Medición de variable directa. Las variables directas a evaluar para cada uno de los tratamientos fueron: Cicatrización y Peso. La cicatrización se valoró mediante la comparación de la evolución del área de crecimiento de tejido, la cual fue fotografiada inmediatamente después de realizar la herida, a las 24, 48 y 72 horas, 7 y 14 días después, para calcular el porcentaje de efecto cicatrizante

se aplicó la siguiente fórmula (Baltodano *et al.*, 2007):

$$\frac{(\text{Tiempo de cicatrización blanco} - \text{Tiempo cicatrización}) * 100}{\text{Tiempo cicatrización blanco}}$$

Para cada uno de los tratamientos se les realizó la prueba de normalidad de Shapiro y homoscedasticidad de Bartlett por género. El tejido cicatrizado fue analizado mediante un Análisis de varianza de dos vías (ANAVA) (P<0.05). Al final del estudio se comparó el peso promedio de machos y hembras mediante la prueba T de Student de varianzas iguales (P<0.05) (Baltodano *et al.*, 2007).

Resultados

a) Elaboración del gel a base de quitosano

La quitina obtenida fue de color amarillento, con textura sólida, soluble en ácidos inorgánicos y orgánicos, e insoluble en agua, por lo que pudo ser transformada a quitosano obteniendo un rendimiento del 31 % el cual fue sometido a una técnica de purificación establecida por Pastor en el 2008. Una vez purificado se obtuvo un rendimiento de quitosano grado farmacéutico del 20.55 %. En cuanto al diseño de la forma farmacéutica se obtuvo un gel a base de quitosano semisólido grado farmacéutico. Los parámetros evaluados en la caracterización del quitosano grado farmacéutico se encontraron dentro del rango sugerido por Khan y colaboradores en el año 2002 (tabla 1).

Tabla 1. Comparación de las características del quitosano obtenido con un quitosano comercial.

Parámetro %	Quitosano producido en esta investigación	Quitosano Grado farmacéutico (Khan <i>et al.</i> , 2002)
Cenizas	0.51	0.60
Humedad	2.73	11.58
Nitrógeno	6.23	6-8.4
Desacetilación	76.45	79
Peso molecular gr/mol	1.5 x10 ⁵	1-3x10 ⁵
Grasas y aceites g/Kg	0.8	—

b) Evaluación experimental

El análisis de comparación entre los pesos de hembras y machos no mostró diferencias significativas (p>0.05) para los tiempos 1, 7 y 14 días (tabla 2).

El análisis de varianza realizado en los cuatro tratamientos aplicados en ratones hembras dio como re-

sultado diferencias significativas ($p>0.05$) al 4to entre el tratamiento Gel 0.30 respecto al control y blanco, para el séptimo día resultaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el gel de quitosano en ambas concentraciones respecto a los tratamientos blanco y control, presentando el 100 % de tejido cicatrizado en menor tiempo el gel de quitosano en ambas concentraciones.

El análisis de varianza realizado en los cuatro tratamientos aplicados en ratones machos dio como resultado diferencias significativas ($p>0.05$) para el cuarto día entre el gel de quitosano 0.30 % respecto al blanco y control, mientras que el gel de quitosano 0.15 % presentó diferencias significativas ($p>0.05$) respecto al control, para el séptimo día resultaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el gel de quitosano en ambas concentraciones respecto al control y blanco.

El porcentaje de cicatrización promedio de hembras y machos observado en esta investigación, fue analizado estadísticamente para determinar las diferencias empleando la prueba T de Student de varianzas iguales, los resultados señalaron que no existieron diferencias significativas ($p<0.05$) en las cicatrizaciones (Resultados no mostrados).

La valoración del porcentaje de cicatrización de los tratamientos ensayados empleando la fórmula propuesta por Gutiérrez y colaboradores en el 2005, se obtuvo que con el tratamiento correspondiente al gel de quitosano aplicado al 0.30 % y empleando la fórmula que relaciona área cicatrizada con el tiempo y lo compara con el testigo sin tratamiento, se obtuvo un porcentaje de efecto cicatrizante del 64 % seguido del gel de quitosano al 0.15 % con efecto de cicatrización del 58 % ya que cicatrizaron la herida en un 100 % al día 7; mientras que el control tuvo un efecto de cicatrización de 0 ya que cicatrizó hasta el final del tratamiento (día 14) al igual que el blanco.

Declaración conflicto e intereses: Los autores declararon no tener conflictos de intereses.

Discusión

a) Obtención de quitosano grado farmacéutico

La transformación de quitina a quitosano obtenida en este estudio, cumplió con los parámetros de color, tex-

tura y solubilidad sugeridos por Shaidí y Gamage en el 2007, quienes establecieron que el color debe de estar entre blanco a blanco-amarillento, la textura debe de ser sólida y debe de ser soluble en ácidos orgánicos e insoluble en agua.

La despolimerización de la quitina a quitosano obtenido a partir del exoesqueleto del camarón, arrojó un rendimiento del 31 %, el cual se encuentra por encima del máximo rendimiento reportado por Hernández en el 2009 (especie no especificada), quién obtuvo un 30 % de rendimiento (peso/peso).

El rendimiento de quitosano grado farmacéutico obtenido en esta investigación fue 20.55 %, superior al rendimiento reportado por J. Gacén e I. Gacén en 1996, quién señaló haber obtenido solo el 10 %. El quitosano obtenido en esta investigación reportó un contenido bajo de grasas de 0.8 g/Kg nivel que no interfiere en el proceso de cicatrización y por ello permite que el quitosano sea utilizado en la curación de heridas. El contenido de grasas y aceites en las terapias para la curación de las heridas en la piel, debe de aplicarse en cantidades pequeñas ya que puede obstruir el proceso de cicatrización (Alfonso, 2001).

Los porcentajes de ceniza, humedad y nitrógeno contenidos en el quitosano obtenido en esta investigación, fueron menores a los valores reportados por la empresa (Khodaverdi *et al.*, 2012), lo cual demuestra que se encuentra dentro de los parámetros estándares establecidos por esta empresa (tabla 2). El parámetro denominado Contenido de Cenizas es determinado por la presencia de carbonatos (CaCO_3), abundantes en el exoesqueleto de los crustáceos, sin embargo, el nivel encontrado en esta investigación fue bajo ya que los minerales son retenidos en la etapa de desacetilación (Guinama, 2010). J. Gacén e I. Gacén en 1996, sugirieron para el quitosano un porcentaje de humedad entre el 2 al 10 % ya que permite una mejor manipulación del quitosano y su almacenamiento. En esta investigación se registró un 2.73 % de humedad, encontrándose este parámetro dentro del rango. El porcentaje de nitrógeno registrado de 6.23 %, se registró dentro del rango sugerido por Khan y colaboradores en el 2002; así como Khodaverdi y colaboradores en el año 2012 (6-8 %), para el quitosano grado farmacéutico. La pre-

Tabla 2. Peso promedio y desviación estándar de ratones albinos hembras y machos.

Muestra (g)	Tiempo (días)					
	0		7		14	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Blanco	24.72 ± 1.21	24.78 ± 1.22	24.7 ± 1.64	24.92 ± 1.70	25.35 ± 1.93	25.31 ± 1.74
Control	24.74 ± 1.32	25.55 ± 1.14	24.72 ± 1.67	25.02 ± 1.60	25.27 ± 1.65	25.55 ± 1.68
Gel A 0.15	23.47 ± 0.46	24.28 ± 1.11	23.51 ± 1.22	24.33 ± 0.74	24.22 ± 1.34	24.84 ± 0.88
Gel A 0.30	23.53 ± 0.64	24.93 ± 0.91	23.51 ± 0.98	25.01 ± 1.20	24.05 ± 1.27	25.49 ± 1.16

sencia de grupos aminos y acetilos, desempeñan una función anfotérico y bacteriostática.

El grado de desacetilación del quitosano recomendado por Pastor (2004) lo establece entre el 60 al 90 %, ya que fuera de éste se degradaría lentamente en la herida, los acetilos liberados irritan, inflaman e incrementa el tiempo de cicatrización, pudiendo ocasionar severas complicaciones en las personas que presentan diabetes, además, deben de mantenerse un mínimo de tres unidades acetiladas consecutivas, ya que son importantes para que sea reconocido por las lisoenzimas y estas puedan degradarlo, facilitando la granulación y organización celular del tejido nuevo, formándose una cicatriz disminuida (Pastor, 2004). El grado de desacetilación del quitosano en este trabajo fue del 76 %.

El peso molecular obtenido para el quitosano fue de 1.5×10^5 g/mol, encontrándose dentro del rango sugerido por Khan y colaboradores en el 2002 1 a 3×10^5 g/mol (tabla 1). Para la preparación del gel a base de quitosano en concentraciones del 0.15 y 0.30 % se utilizó Carbopol al 50 % y Trietanolamina al 40 %, que mantiene el ingrediente activo en contacto con la piel, permite el transporte de oxígeno del exterior hacia el interior y funciona como un vendaje oclusivo (Khan et al., 2002).

b) Evaluación experimental *in vivo* del gel a base de quitosano

El peso de los ratones hembras y machos al no presentar diferencias significativas indican que no estuvieron sometidos a estrés, presentaron buena alimentación y se les dio un manejo adecuado durante todo el tratamiento, así como también reflejan que no hay interferencia en pérdida o aumento de peso por acción de las hormonas.

Los tratamientos Gel Q 0.15 (GQ15) y Gel Q 0.30 (GQ30) aplicados en hembras alcanzaron el 100 % de la cicatrización el día 7, el control (C) alcanzó el 100 % de la cicatrización el día 14 y el blanco (B) al concluir el tiempo del experimento (14 días) tenía un 96.29 % de tejido cicatrizado, mostrando mayor velocidad de cicatrización el gel de quitosano en ambas concentraciones. El análisis de varianza aplicado a los resultados de cicatrización, mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) a partir del día 4 entre los cuatro tratamientos (GQ15, GQ30, C y B) observándose desde este día mayor efectividad en los geles de quitosano y alcanzando la regeneración completa del tejido en menor tiempo el Gel Q 0.30 en comparación del blanco control y el de quitosano al 0.15 %.

Los tratamientos Gel Q 0.15 y Gel Q 0.30 aplicados en los machos alcanzaron el 100% de tejido cicatrizado al día 7, el tratamiento blanco (B) cicatrizó el día 14 y el control (C) mostró un porcentaje de cicatrización del 97 %, al término del tratamiento. Los tratamientos Gel Q 0.15 y Gel Q 0.30 reportaron el mayor porcentaje de cicatrización desde el primer día. El análisis de

varianza mostró diferencias significativas para el día 4 entre el gel Q 0.30 respecto al blanco y el control; mientras que para el día 7 se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos Gel Q 0.15 y Gel Q 0.30 respecto a los tratamientos blanco y control, confirmando estadísticamente que el mayor porcentaje de cicatrización media lo presentó el tratamiento Gel Q 0.30.

Debido a que los tratamientos Gel Q 0.15, Gel Q 0.30, Control (C) y Blanco (B) no mostraron diferencias significativas entre hembras y machos, se obtuvieron para ambos sexos los mismos porcentajes de efecto de cicatrización mostrando mayor efectividad el Gel A 0.30 con el 100 % de tejido cicatrizado al día 7 del experimento (64 % efecto cicatrizante). Baltodano en 2007² reportó un 72 % de efecto cicatrizante, el cual es mayor que el obtenido en la presente investigación aun cuando empleó misma especie, edad y manejo experimental, estas diferencias se deben posiblemente a que ella obtuvo el quitosano a partir de cangrejo *cáncer cetosus* y lo aplicó en un ungüento de vaselina.

Conclusiones

Bajo las condiciones experimentales aplicadas en este trabajo, se logró extraer quitosano de exoesqueletos de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) con un rendimiento del 31% del peso del exoesqueleto, lo que permite señalar que se logró una transformación eficiente. Se logró la desacetilación termoalcalina de la quitina en un 72.45%. Los resultados de porcentaje de cenizas, humedad, grasas y aceites, demuestran que la calidad del quitosano obtenido en este trabajo es aceptable para aplicaciones médicas o farmacéuticas. Se logró preparar gel a base de quitosano con calidad farmacéutica.

La evaluación realizada en ratones proporcionó un efecto cicatrizante del 0 % para el control, mientras que los geles de quitosano 0.15 y 0.30 % cicatrizaron en 7 días ($P > 0.05$) con efecto cicatrizante del 58 % para el quitosano 0.15, y 64 % para el quitosano 0.30, respecto al tratamiento blanco. Resultando diferencias significativas entre los tratamientos blanco y control respecto al gel de quitosano en ambas concentraciones (0.15 y 0.30 %).

El género de sexo (macho ó hembra) no mostró diferencias significativas en las evaluaciones realizadas a 36 °C y 22 °C.

Los resultados anteriores nos permiten deducir que el gel de quitosano en ambas concentraciones pueden ser utilizados en la regeneración de heridas, reduciendo en un 50% el tiempo de cicatrización, sin embargo como no presentaron diferencias significativas en la regeneración de tejido, se puede recomendar el gel en concentraciones del 0.15%, debido a la menor cantidad de ingrediente activo, lo que puede reducir

los costos con la misma efectividad que la del gel al 0.30%.

Agradecimientos

Agradezco al Instituto Tecnológico de Mazatlán por sus instalaciones para el desarrollo de esta investigación.

Referencias bibliográficas

- Arce, A.; y Camilo, C. 2011. Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales; Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia. 30. (25)
- Baltodano L C., Yaipen J.; y Fuertes, C M. 2009. Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante. *ECIPERU*. 2007. 6(8): 77-85.
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. "Anuario estadístico 2010". [Monografía en internet] México. CONAPESCA 2010. [Consultado 2012 marzo], Disponible en: <http://www.conapesca.sagarpa/>.
- Diario Oficial de la Federación con fecha. Norma Oficial Mexicana NOM-F066-S-1978 "Determinación de cenizas en alimentos". 3 de noviembre de 1978. México.
- Diario Oficial de la Federación Norma Mexicana NMX.068-S-1980. "Alimentos. Determinación de proteínas". 4 de agosto de 1980. México.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Mexicana NMX-AA-005-SCFI-2000. "Determinación de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas método de prueba". 25 de marzo de 1980. México.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Mexicana NMX-F-083-1986 "Alimentos; determinación de humedad en productos alimenticios". 14 de julio de 1986. México.
- Feedar J A. 1995 Wound healing alternative in management. Editorial F. A. Davis Company 2da. Edición. *Philadelphia*. 3-17.
- Fuentes F, Mendoza R., Rosales A.; y Cisneros R. 2008. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. 1ra. Edición. Perú.: 7-50.
- García T, Roca J. 2008. Industrialización de los crustáceos para la obtención de quitosano en ungüento con efecto cicatrizante. [Serie en internet] 2008 consultado 2012 abril 18]; 24(11): [aprox. 3 pp]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S181099932008000200004&lng=es&nrm=iso. ISSN 1810-9993. 24/11/2011.
- Gutiérrez M, Castañón C, Güitrón A.; y Vega A. 2005. Model for the quantitative evaluation of cicatrization. Pilot study with bee honey. *ProQuest Medical*. 27: 116-117.
- Hernández CH, Águila AE, Flores AO, Viveros NE.; y Cassellis R. 2009. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*. 22: 57-60.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [monografía en internet]. México. INEGI, 2009. [consultado 2012 marzo]. Disponible en: www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeres-y-hombres/2009/MyH_2009_1.pdf.
- Kalam A, Sermisintham N, Chandkrachang S.; y Frans, W.F. 2003. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: Characterization and clinical application. *Journal Biomedical Materials*. 69: 216-222.
- Khan T, Peh K.; y Ch'ng H. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal Pharmaceutical*. 3: 205-212.
- Khan, T.A., Peh, K.K. y Ch'ng, H.S. 2002. Reporting Degree Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(3): 205212.
- 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.
- Krasnov MS, Rybakova EY, Tikhonov VE, Stretskii GM, Avdeenko OE, Shaikhaliyev AI, Yamskova VP, Yamskov IA. 2012. Burn-healing effects of a composition containing chitosan gel and a blood serum bioregulator. *Bull Exp Biol Med*. 153(4):550-3.
- Lárez V. 2003. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 4: 21.
- Pastor A. 2004. Obtención de quitina y quitosano a partir de desechos de crustáceos. En: Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú: *Proyecto CYTED IV*: (19):29-312.
- Rabea E I, Badawy M, Stevens C, Smagge G.; y Steurbaut W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Bio macromolecules*. 6:1457-1465.
- Rhoades J, Roller S. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Application Environment Microbiology*. 66: 80.
- Salazar J, León I, Serrano G, Torres M. 2000. Estudio comparativo entre ketanserina y dextranómero en el tratamiento de úlceras en enfermos de lepra. *Leprolología*. 3: 518-522.
- Secretaría de Gobernación. Federación Mexicana del Diabetes [monografía en internet]. México. FMD, 2010. [consultado 2012 marzo], disponible en: <http://www.dof.gob.mx/documentos/3868/Salud/Salud.htm>.
- Shahidi F, Gamage A. 2007. Use of chitosan for the removal of metal ion contaminants and proteins for water (Tesis). Environmental science program, department of biochemistry. Canadá: University of Newfoundland.
- Tapia P, Soto D, Vergara L, Alburquerque C, Maccioni A, Matamata, A. 2009. Efecto antifúngico de quitosán de alto peso molecular en cepas de *Candida sp* aisladas de muestras clínicas. *Revista Chilena de Infectología*. 26: 515-519.
- Valentine R, Athanasiadis T, Moratti S, Hanton L, Robinson S, Wormald PJ. 2010. The efficacy of a novel chitosan gel on hemostasis and wound healing after endoscopic sinus surgery. *Am J Rhinol Allergy*. 24(1):70-5.
- Yadav A. V., Bhise S. B. 2004. Chitosan: a potential biomaterial effective against thypoid. *Current Science*. 87: 1176-1178 p.