



Establecimiento del proceso de obtención de quitosano a partir del (*Arapaima gigas*) Paiche (Escamas), considerando distintos métodos de extracción y su aplicación como biopelícula en distintos vegetales frescos (I Gama).

Cuenca Soto, Christopher Andrés

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología

Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

6 de Marzo de 2024

Reporte de Verificación de Contenido



CUENCA_CHRISTOPHER_TESIS (1).pdf

Scan details

Scan time:
March 11th, 2024 at 21:17 UTC

Total Pages:
112

Total Words:
27752

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	2.2%	610
Minor Changes	0.2%	55
Paraphrased	0.5%	138
Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage
AI text
Human text

Plagiarism Results: (60)

Foods | Free Full-Text | Edible Coatings as a Natural Packaging System to... 0.1%

https://www.mdpi.com/2304-8158/12/19/3570/review_report

Next Article in Journal Effect of Different Temperatures on the Storage Stability of Flaxseed Milk Previous Article in...

Synthesis of water-soluble chitosan from squid pens waste as raw mater... 0.1%

<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899x/509/1/012070>

This site uses cookies. By continuing to use this site you agree to our use of...

Registro Nacional de Trabajos de Investigación: Evaluación del quitosano... 0.1%

<https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/3156464>

Skip navigation English English ...

download 0.1%

<https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/e32df8d4-f5a5-43c2-bff2-4044c1911d7c/content>

gina

Universidad Católica de Santa María Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas Escuela Profesional de Ingeniería B...

Certified by
Copleaks

About this report
help.copleaks.com

copleaks.com



Firmado electrónicamente por:
SUNGEY NAYNEE
SANCHEZ LLAGUNO

Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

C.C.: 1205348673

Director del Proyecto de Investigación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Establecimiento del proceso de obtención de quitosano a partir del (Arapaima gigas) Paiche (Escamas), considerando distintos métodos de extracción y su aplicación como biopelícula en distintos vegetales frescos (I Gama)”** fue realizado por el señor **Cuenca Soto, Christopher Andrés**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 06 de marzo de 2024



.....
Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

C.C.: 1205348673

Director del Proyecto de Investigación



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de la Autoría

Yo, Cuenca Soto, Christopher Andrés, con cédula de ciudadanía n° 1900904275, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Establecimiento del proceso de obtención de quitosano a partir del (Arapaima gigas) Paiche (Escamas), considerando distintos métodos de extracción y su aplicación como biopelícula en distintos vegetales frescos (I Gama)”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 06 de marzo de 2024

.....
Cuenca Soto, Christopher Andrés

C.C.: 1900904275



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Cuenca Soto, Christopher Andrés**, con cédula de ciudadanía n° 1900904275, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Establecimiento del proceso de obtención de quitosano a partir del (Arapaima gigas) Paiche (Escamas), considerando distintos métodos de extracción y su aplicación como biopelícula en distintos vegetales frescos (I Gama)”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 06 de marzo de 2024

Cuenca Soto, Christopher Andrés

C.C.: 1900904275

Dedicatoria

A mis padres Mariela Soto y Robert Cuenca, que son el pilar esencial en mi vida, por brindarme su apoyo incondicional en todas las decisiones que he tomado y transmitirme mediante el ejemplo, los valores de la responsabilidad, honestidad y empatía.

A mi abuela paterna Ruth Castro y mi abuela materna Gretty Mendoza, por todo el amor genuino que he recibido a lo largo de estos años, el cual ha sido y sigue siendo el combustible de mi esfuerzo y dedicación académica.

A mis hermanos menores Mikael Cuenca y Cristina Cuenca, por ser el impulso que me motiva a superarme en el ámbito académico de mi día a día y por brindarme todo el cariño que un hermano pueda desear.

Agradecimiento

Agradezco principalmente a Dios por ser el guía y benefactor de mi vida, al protegerme constantemente, brindarme grandes oportunidades y darme una familia hermosa.

A todos los docentes apasionados por la enseñanza con los que he recibido clases, los cuales han logrado brindarme una formación sólida tanto teórica como técnica.

A la Dra. Sungey Sánchez y el Dr. Juan Neira por guiarme en el desarrollo de este proyecto académico, proporcionándome su asistencia profesional constante.

A mis tíos Fabián Cuenca y Viviana Cuenca, por enseñarme en base a sus experiencias lo necesario para afrontar los desafíos de la vida.

A mis amigos Diego Carvajal y Melanie Salazar por volver más fácil y amena esta travesía universitaria.

Índice de Contenido

Dedicatoria.....	I
Agradecimiento	II
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción	3
Capítulo I	4
Objetivos.....	4
Objetivo General	4
Objetivos Específicos	4
Hipótesis	5
Hipótesis Nula	5
Hipótesis Alternativa.....	5
Capítulo II	6
Estado del Arte	6
Fundamentación Teórica	7
Paiche	7
Clasificación Taxonómica	9
Hábitat	10
Morfología.....	10
Características de las Escamas.....	11
Quitosano.....	12
Propiedades del Quitosano.....	14
Aplicaciones del Quitosano.....	15
Fuentes del Quitosano.....	17
Producción de Quitosano.....	17

Pretratamiento.....	18
Desmineralización.....	19
Desproteínización.....	19
Despigmentación.....	20
Desacetilación.....	20
Purificación.....	22
Secado.....	22
Biopelículas de Quitosano.....	23
Efecto Antioxidante de las Biopelículas de Quitosano.....	23
Efecto Antibacteriano de las Biopelículas de Quitosano.....	25
Efecto Antifúngico de las Biopelículas de Quitosano.....	25
Formulación de Biopelículas Basadas en Quitosano.....	26
Combinación con Plastificantes.....	26
Combinación con Otros Polisacáridos.....	27
Preservación de Vegetales y Frutas de Primera Gama.....	27
Generalidades de la Uvilla.....	28
Características Postcosecha de la Uvilla.....	29
Generalidades del Tomate Cherry.....	29
Características Postcosecha del Tomate Cherry.....	30
Capítulo III.....	31
Metodología.....	31
Ubicación del Área de Investigación.....	31
Tipo de Investigación.....	32
Enfoque y Técnicas de Recolección de Datos.....	32
Fuentes de Recopilación de Información.....	32
Diseño Experimental.....	33

Tipo de Diseño Experimental para el Estudio de la Conservación de Vegetales Frescos ..	33
Variables Dependientes de la Prueba t de Student	33
Variables Dependientes del ANOVA	33
Factores y Niveles del Diseño Factorial	34
Tratamientos del Diseño Factorial.....	34
Análisis Estadístico del Diseño Factorial	35
Análisis Funcional del Diseño Factorial	35
Análisis de Componentes Principales	35
Materiales.....	36
Extracción y Evaluación del Quitosano	36
Preparación y Evaluación de las Soluciones Filmogénicas	37
Recubrimiento de los Vegetales Frescos	37
Análisis Físicoquímicos de los Vegetales Recubiertos	38
Análisis Microbiológicos de los Vegetales Recubiertos	39
Métodos	40
Acondicionamiento de las Escamas.....	40
Lavado y Secado de Escamas Crudas.	40
Molienda y Tamizado de Escamas Secas.	40
Desinfección y Despigmantación de Escamas Secas.....	40
Filtración y Neutralización de Escamas Despigmantadas.....	40
Secado de Escamas Despigmantadas.	40
Extracción del Quitosano Mediante el Método Químico	40
Desmineralización de Escamas.....	41
Filtración y Neutralización de Escamas Desmineralizadas.	41
Secado de Escamas Desmineralizadas.....	41
Desproteínización de Escamas.....	41

Filtración de Escamas Desproteinizadas.....	41
Desacetilación de la Quitina.....	41
Filtración y Neutralización del Quitosano.....	41
Extracción del Quitosano Mediante el Método Hindú.....	42
Desproteización de las Escamas.....	42
Filtración y Neutralización de Escamas Desproteinizadas.....	42
Desmineralización de las Escamas.....	42
Filtración y Neutralización de Escamas Desmineralizadas.....	42
Desacetilación de la Quitina.....	42
Filtración y Neutralización del Quitosano.....	43
Procesamiento del Quitosano.....	43
Secado.....	43
Molienda.....	43
Almacenamiento.....	43
Prueba Cualitativa de Solubilidad de Quitosano.....	43
Evaluación del Rendimiento de Quitosano.....	43
Evaluación de las Propiedades Fisicoquímicas del Quitosano.....	44
Grado de desacetilación (DDA).....	44
Humedad.....	44
Cenizas.....	45
Preparación de las Soluciones Filmogénicas.....	46
Solución Base de Almidón de Yuca.....	46
Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Químico.....	46
Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Hindú.....	46
Solución Base de Agar-Agar.....	46
Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Químico.....	46

Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Hindú	46
Evaluación del Tiempo de Gelificación de las Soluciones Filmogénicas	47
Recubrimiento de los Vegetales Frescos	47
Desinfección.....	47
Recubrimiento por Inmersión.....	47
Secado y Almacenamiento.....	47
Análisis Físicoquímico de los Vegetales Recubiertos.....	48
Sólidos solubles totales (SST).....	48
pH.....	48
Acidez Titulable.....	48
Humedad.....	49
Dureza.....	49
Color.....	49
Análisis Organoléptico.....	50
Análisis Microbiológico de los Vegetales Recubiertos	51
Preparación de las Muestras.....	51
Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias (EB).....	51
Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento Rápido de Aerobios (RAC).....	51
Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de E. coli (EC).....	51
Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de Coliformes (CC).....	52
Recuento de Microorganismos.....	52
Balance de Materiales	53
Rendimiento del Pretratamiento de las Escamas	54
Rendimiento de la Extracción por el Método Hindú.....	56
Rendimiento de la Extracción por el Método Químico	58
Capítulo IV	59

Resultados del Estudio de la Conservación de Vegetales Frescos	59
Extracción de Quitosano	59
Evaluación de las Soluciones Filmogénicas.....	63
Análisis de Varianza del Diseño Factorial Para el Tomate Cherry.....	64
Grados Brix	64
Acidez Titulable	64
pH	65
Humedad.....	65
Dureza.....	66
Delta E	66
Análisis Funcional del Diseño Factorial Para el Tomate Cherry	67
Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor A	67
Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor B	70
Prueba de Significancia de Tukey Para la Interacción AxB.....	73
Análisis de Varianza del Diseño Factorial Para la Uvilla.....	78
Grados Brix	78
Acidez Titulable	78
pH	79
Humedad.....	79
Dureza.....	80
Delta E	80
Análisis Funcional del Diseño Factorial Para la Uvilla	81
Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor A	81
Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor B	84
Prueba de Significancia de Tukey Para la Interacción AxB.....	87
Análisis de Componentes Principales	91

Análisis Microbiológico de los Vegetales Frescos	96
Evaluación Sensorial de los Vegetales Frescos	97
Capitulo V	100
Conclusiones	100
Respecto a la Extracción de Quitosano	100
Respecto al Balance de Materiales	100
Respecto a la Evaluación de las Soluciones Filmogénicas	100
Respecto al Efecto de las Biopelículas	100
Factor A (Formulaciones de Quitosano)	100
Factor B (Soluciones Filmogénicas)	101
Interacción A x B.	101
Respecto al Análisis de Componentes Principales.....	101
Respecto al Análisis Microbiológico	101
Respecto a la Evaluación Sensorial.....	102
Recomendaciones	103
Capítulo VI	104
Bibliografía	104

Índice de Tablas

Tabla 1 Propiedades detalladas del quitosano.....	14
Tabla 2 Principales áreas de aplicación del quitosano.....	15
Tabla 3 Relación entre los parámetros estructurales y actividades biológicas del quitosano. ...	24
Tabla 4 Factores y niveles a evaluar en el estudio de la conservación de vegetales frescos (I Gama).....	34
Tabla 5 Tratamientos a comparar en el estudio de la conservación de vegetales frescos (I Gama).	34
Tabla 6 Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la conservación de vegetales frescos (I Gama) mediante la aplicación de biopelículas basadas en quitosano.	35
Tabla 7 Recursos utilizados en la extracción y evaluación del quitosano.....	36
Tabla 8 Recursos utilizados en la preparación y evaluación de las soluciones filmogénicas. ...	37
Tabla 9 Recursos utilizados en el proceso de recubrimiento de los vegetales frescos.....	37
Tabla 10 Recursos utilizados en los análisis fisicoquímicos de los vegetales recubiertos.	38
Tabla 11 Recursos utilizados en los análisis microbiológicos de los vegetales recubiertos.....	39
Tabla 12 Características generales del quitosano extraído de las escamas de paiche.	59
Tabla 13 Resultados de la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los dos métodos de extracción de quitosano a partir de las escamas de paiche.....	59
Tabla 14 Tiempo de gelificación de las distintas soluciones filmogénicas.....	63
Tabla 15 ANOVA para los sólidos solubles totales (°Bx) del tomate cherry.	64
Tabla 16 ANOVA para la acidez titulable del tomate cherry.....	64
Tabla 17 ANOVA para el pH del tomate cherry.....	65
Tabla 18 ANOVA para la humedad del tomate cherry.	65
Tabla 19 ANOVA para la dureza del tomate cherry.	66
Tabla 20 ANOVA para la variación de color del tomate cherry.	66
Tabla 21 Resultados de la prueba de Tukey para el factor A en tomate cherry.	67

Tabla 22 Resultados de la prueba de Tukey para el factor B en tomate cherry.	70
Tabla 23 Resultados de la prueba de Tukey para las interacciones AxB en tomate cherry.....	73
Tabla 24 ANOVA para los sólidos solubles totales (°Bx) de la uvilla.....	78
Tabla 25 ANOVA para la acidez titulable de la uvilla.	78
Tabla 26 ANOVA para el pH de la uvilla.	79
Tabla 27 ANOVA para la humedad de la uvilla.	79
Tabla 28 ANOVA para la dureza de la uvilla.	80
Tabla 29 ANOVA para la variación de color de la uvilla.	80
Tabla 30 Resultados de la prueba de Tukey para el factor A en uvilla.	81
Tabla 31 Resultados de la prueba de Tukey para el factor B en uvilla.	84
Tabla 32 Resultados de la prueba de Tukey para las interacciones AxB en uvilla.	87
Tabla 33 Matriz de correlaciones para el análisis de componentes principales.....	91
Tabla 34 Varianza total explicada.....	92
Tabla 35 Matriz de componente rotado.....	93
Tabla 36 Resultados del análisis microbiológico para el mejor tratamiento (CHH + AL).	96
Tabla 37 Resultados de la evaluación sensorial del tomate cherry con distintos recubrimientos.	97
Tabla 38 Resultados de la evaluación sensorial de la uvilla con distintos recubrimientos.....	98

Índice de Figuras

Figura 1 Proceso de faenamiento del paiche adulto.....	8
Figura 2 Clasificación taxonómica del <i>A. gigas</i>	9
Figura 3 Morfología y escamas del paiche adulto.....	11
Figura 4 Representación esquemática de quitina completamente acetilada, quitosano completamente desacetilado y quitosano comercial.....	12
Figura 5 Comparación de los tres principales métodos de producción de quitosano.	18
Figura 6 Relación entre las características del quitosano y sus aplicaciones.	22
Figura 7 Mapa de ubicación del Campus IASA II	31
Figura 8 Balance de materiales del proceso de acondicionamiento de las escamas de paiche.	53
Figura 9 Balance de materiales de la extracción de quitosano mediante método hindú.	55
Figura 10 Balance de materiales de la extracción de quitosano mediante el método químico.	57
Figura 11 Análisis de las variables evaluadas en la extracción de quitosano.	60
Figura 12 Diagramas de cajas y bigotes para el factor A evaluado en tomate cherry.	68
Figura 13 Diagramas de cajas y bigotes para el factor B evaluado en tomate cherry.	71
Figura 14 Gráficos descriptivos para las interacciones AxB evaluadas en tomate cherry.	74
Figura 15 Diagramas de cajas y bigotes para el factor A evaluado en uvilla.....	82
Figura 16 Diagramas de cajas y bigotes para el factor B evaluado en uvilla.....	85
Figura 17 Gráficos descriptivos para las interacciones AxB evaluadas en uvilla.	88
Figura 18 Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales.....	92
Figura 19 Gráfico de componente de espacio rotado.	94
Figura 20 Gráfico de radar del análisis sensorial para el tomate cherry.....	97
Figura 21 Gráfico de radar del análisis sensorial para la uvilla.	98

Resumen

En el presente estudio se realizó la extracción de quitosano a partir de las escamas de paiche (*Arapaima gigas*) mediante dos métodos (químico e hindú) para su posterior aplicación como biopelícula en dos vegetales de primera gama: uvilla y tomate cherry. Para la extracción se realizaron cinco repeticiones por cada método y se analizaron cuatro variables: rendimiento, grado de desacetilación (DDA), humedad y cenizas. Una vez extraído el quitosano, se evaluó su efecto como recubrimiento considerando seis variables fisicoquímicas: grados Brix, acidez titulable, pH, humedad, dureza y delta E (variación de color). Se elaboró un diseño factorial AxB con cuatro repeticiones, el factor A incluyó tres formulaciones de quitosano (CHQ, CHH y N/A) y el factor B involucró a dos tipos de soluciones filmogénicas (AL y AG). El procesamiento estadístico fue realizado en los paquetes de software IBM SPSS Statistics 29 y Statistica v10.0. El quitosano obtenido mediante el método hindú presentó una mejor apariencia, rendimiento ($13.41 \pm 0.80\%$) y DDA ($77.08 \pm 1.70\%$). No obstante, también fue el que obtuvo un mayor porcentaje de humedad ($7.84 \pm 0.15\%$) y cenizas ($78.86 \pm 0.81\%$). El recubrimiento con los mejores resultados fue el quitosano obtenido por método hindú (CHH) en combinación con almidón de yuca (AL), esto debido a que los dos tipos de vegetales recubiertos registraron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E; al mismo tiempo que lograron retener la acidez titulable, humedad y dureza luego de un periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C. Asimismo, este tratamiento tuvo un excelente efecto antimicrobiano y la mayor aceptabilidad sensorial.

Palabras clave: Escamas de paiche, quitosano, biopelículas, vegetales frescos.

Abstract

In the present study, chitosan was extracted from paiche (*Arapaima gigas*) scales by two methods (chemical and Indian) for subsequent application as a biofilm on two first range vegetables: cape gooseberry and cherry tomato. For the extraction, five replicates were carried out for each method and four variables were analyzed: yield, degree of deacetylation (DDA), moisture and ash content. Once the chitosan was extracted, its effect as a coating was evaluated considering six physicochemical variables: degrees Brix, titratable acidity, pH, moisture, hardness and delta E (color variation). An AxB factorial design with four replicates was developed, factor A included three chitosan formulations (CHQ, CHH and N/A) and factor B involved two types of filmogenic solutions (AL and AG). Statistical processing was performed in IBM SPSS Statistics 29 and Statistica v10.0 software packages. The chitosan obtained by the Indian method presented better appearance, yield ($13.41 \pm 0.80\%$) and DDA ($77.08 \pm 1.70\%$). However, it also had the highest percentage of moisture ($7.84 \pm 0.15\%$) and ash ($78.86 \pm 0.81\%$) content. The coating with the best results was the chitosan obtained by the Indian method (CHH) in combination with cassava starch (AL), because the two types of coated vegetables showed a lower increase in Brix, pH and delta E; at the same time, they managed to retain titratable acidity, moisture and hardness after a 14-day storage period at 8 °C. Likewise, this treatment had an excellent antimicrobial effect and the highest sensory acceptability.

Keywords: Paiche scales, chitosan, biofilms, fresh vegetables.

Introducción

La región amazónica del Ecuador alberga una especie de pez de agua dulce de gran relevancia ecológica, cultural y económica: el paiche (*Arapaima gigas*). Su carne es especialmente valorada por su exquisito sabor y calidad nutricional (Reinoso, 2021). Sin embargo, para asegurar una gestión acuícola apropiada y maximizar los beneficios para los productores locales, es esencial abordar el aprovechamiento integral de este espécimen (Alcántara et al., 2006).

Recientemente, la Universidad de las Fuerzas Armadas, Sede Santo Domingo, ha llevado a cabo un proyecto de vinculación titulado “Estudio del manejo del paiche y su influencia en la composición y valoración nutricional para su aprovechamiento en la industria agroalimentaria”. Este proyecto se presenta como una alternativa valiosa para diversificar la oferta de productos semielaborados y en conserva de la asociación de producción acuícola “ASOARAPAIMA” en la provincia de Sucumbíos, contribuyendo significativamente a la investigación en este ámbito.

En este contexto, surge la propuesta de aprovechar no solo la carne del paiche, sino también sus escamas, con el objetivo de extraer compuestos bioactivos, como el quitosano. Esta iniciativa representa un enfoque biotecnológico innovador, a pesar del escaso número de estudios existentes sobre la obtención de quitosano a partir de las escamas de esta especie en particular (Carneiro, 2022). Adicionalmente, las propiedades antimicrobianas, antioxidantes y filmogénicas de este polímero natural podrían aprovecharse para su aplicación como biopelícula en vegetales frescos (I Gama) como lo son la uvilla y el tomate cherry.

Al prolongar la vida útil de los productos y reducir el crecimiento de microorganismos, estas biopelículas podrían contribuir a la seguridad alimentaria y al mantenimiento de la calidad de los alimentos de primera gama. En un momento en que la sostenibilidad y la innovación son esenciales en la industria, esta investigación promete ofrecer soluciones valiosas para enfrentar los retos presentes en la conservación y calidad de los productos agroalimentarios.

Capítulo I

Objetivos

Objetivo General

Establecer el proceso de obtención de quitosano a partir de las escamas de paiche (*Arapaima gigas*), considerando distintos métodos de extracción y su aplicación como biopelícula en distintos vegetales frescos (I Gama).

Objetivos Específicos

Realizar la extracción de quitosano a partir de las escamas de paiche (*Arapaima gigas*), mediante el método químico y el método hindú.

Identificar el mejor método de extracción evaluando el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas del quitosano obtenido a partir de las escamas de paiche (*Arapaima gigas*).

Formular soluciones filmogénicas de quitosano combinado con dos tipos de polisacáridos (almidón de yuca y agar-agar) para su aplicación como biopelículas.

Analizar el efecto de las soluciones filmogénicas enriquecidas con quitosano, al ser aplicadas como biopelículas en dos tipos de vegetales frescos (I Gama).

Hipótesis

Hipótesis Nula

Ho: El método de extracción (método químico e hindú) no afecta al rendimiento y a las propiedades fisicoquímicas del quitosano obtenido a partir de escamas de paiche.

Ho: La formulación de quitosano (CHH, CHQ y N/A) no influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Ho: El tipo de solución filmogénica (almidón de yuca y agar-agar) no influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Ho: El efecto de las interacciones entre la formulación de quitosano y el tipo de solución filmogénica no influyen en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Hipótesis Alternativa

Ha: El método de extracción (método químico e hindú) afecta al rendimiento y a las propiedades fisicoquímicas del quitosano obtenido a partir de escamas de paiche.

Ha: La formulación de quitosano (CHH, CHQ y N/A) influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Ha: El tipo de solución filmogénica (almidón de yuca y agar-agar) influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Ha: El efecto de las interacciones entre la formulación de quitosano y el tipo de solución filmogénica influyen en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Capítulo II

Estado del Arte

La necesidad de polímeros biodegradables para envases primarios, incluidas biopelículas comestibles, ha fomentado el desarrollo de nuevos materiales como una alternativa para reducir la cantidad de residuos y el impacto ambiental (Thomas et al., 2020c). El uso de biopelículas comestibles es un método natural de empaquetado primario que tiene muchas propiedades funcionales, como proteger los alimentos de los efectos adversos del entorno y contener ingredientes activos (Broek & Boeriu, 2020). La formulación de este tipo de biopelículas requiere utilizar al menos un componente (macromolécula) capaz de formar una matriz estructural con suficiente cohesividad y se ha reportado que solo los polímeros de alto peso molecular, pueden producir dicha estructura (Crini & Lichtfouse, 2019; Ooi et al., 2021).

En este contexto, el quitosano emerge como un candidato prometedor para aplicaciones en recubrimientos comestibles semipermeables y actualmente varios estudios han reportado que su aplicación ha logrado mejorar la vida útil de frutas y verduras perecedoras durante el tratamiento postcosecha (Maharsih et al., 2021; Ooi et al., 2021; Tokatlı & Demirdöven, 2020). Además, se conoce que la producción de este biopolímero puede realizarse aprovechando la abundancia de los desechos marinos como son las escamas de pescado (Hermiyati et al., 2019; Florencia et al., 2022; Tello, 2017; Fuentes, 2021). Sin embargo, estas biopelículas también tienen algunos inconvenientes que restringen su uso en condiciones específicas, debido a su baja resistencia a la difusión del vapor de agua y su resistencia a la tracción relativamente baja, especialmente en ambientes húmedos (Thomas et al., 2020c). Como resultado, existen una serie de estrategias que se han utilizado en la literatura, como la reticulación o mezcla con otros biopolímeros (lípidos, polisacáridos, proteínas, nanocristales de celulosa, etc.), para reducir su sensibilidad al agua (Kim, 2010). La mezcla de polímeros es uno de los métodos más eficaces para obtener nuevos materiales con las propiedades deseadas (Rhim et al., 2006); por esta razón, resulta esencial investigar más a fondo esta temática.

Fundamentación Teórica

Paiche

El paiche, pirarucú o arapaima (*Arapaima gigas*) es un pez noble que habita exclusivamente en la cuenca del río Amazonas en América del Sur, el cual es descrito como una especie rústica originaria del período Jurásico (Bezerra et al., 2013). El nombre pirarucú, como se le llama en Brasil, proviene del filo lingüístico tupí que significa “pez rojo”, debido al color de las escamas, el abdomen y la cola como se muestra en la Figura 1 (Bezerra et al., 2013). *A. gigas* es considerado como el pez de agua dulce y con escamas más grande del mundo, por lo que ha sido nombrado como el “gigante amazónico”, ya que existen registros de que puede llegar hasta los 200 kg de peso corporal y 4.5 m de largo en su entorno natural (Alcántara et al., 2006; FAO, 2023). Al ser un pez que obtiene hasta el 95% de su consumo de oxígeno mediante la respiración, es capaz de tolerar niveles de oxígeno extremadamente bajos en el agua (Du et al., 2019).

La combinación de adaptaciones inusuales hace del paiche un candidato prometedor para el desarrollo de la acuicultura intensiva en la Región Amazónica y a pesar de su dieta carnívora, también presenta un excelente sabor de carne (Du et al., 2019). Este pez exhibe una alta tasa de crecimiento con un extraordinario desarrollo de peso, lo cual resulta en un alto valor de mercado (Reinoso, 2021). En el sistema de cría semi intensivo este pez puede alcanzar los 10 kg de peso corporal durante el primer año de engorde y la intensa vascularización de su vejiga natatoria, le permite permanecer fuera del agua durante unos treinta minutos, lo cual facilita su manipulación (Bezerra et al., 2013). El paiche juvenil es el único pez en el mundo que puede engordar más de 1 kg por mes en cautiverio y generalmente está listo para el sacrificio cuando alcanza un peso de entre 14 y 15 kg (Reinoso, 2021).

Aunque la intensa explotación comercial de peces en su entorno natural provocó perturbaciones ambientales y *A. gigas* ahora forma parte de la lista de animales en peligro de extinción, el desarrollo de sistemas de crianza en cautiverio para su explotación comercial ha

reducido sustancialmente la presión sobre las poblaciones (Alcántara et al., 2006). De esta manera, la piscicultura se ha convertido en una alternativa para incrementar la producción del paiche en el mercado interno y constituye una práctica económicamente viable debido al alto rendimiento del filete con piel, producto de gran valor comercial ya que no contiene huesos intramusculares (FAO, 2023). Por otra parte, el rendimiento de cuero animal representa el 10% del peso del pescado y en la industria se puede utilizar como materia prima para la producción de bolsos, zapatos, cinturones y prendas de vestir (Reinoso, 2021). Además, las escamas de gran tamaño se utilizan como papel de lija o adornos típicos hechos a mano (Alcántara et al., 2006). Actualmente, los esfuerzos de los investigadores se han enfocado en comprender aspectos biológicos del paiche, entre ellos hábitos alimentarios, patrón reproductivo y comportamiento en ambiente natural y en cautiverio, sin embargo, el metabolismo del pez aún posee varias facetas desconocidas (Reinoso, 2021).

Figura 1

Proceso de faenamiento del paiche adulto.



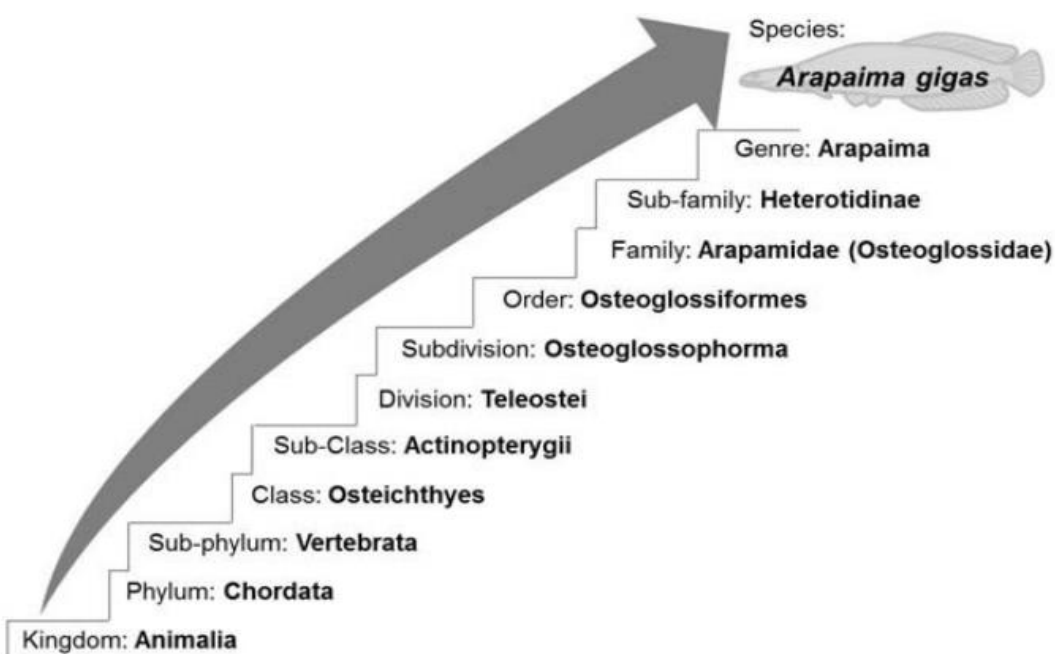
Nota. Elaboración propia. Proyecto de vinculación de la Universidad de las Fuerzas Armadas.

Clasificación Taxonómica

El orden de los Osteoglossiformes son uno de los grupos vivos de teleósteos más antiguos y con una amplia distribución geográfica, estos se caracterizan por tener lenguas huesudas o dientudas y se presume que surgieron en el Período Jurásico (hace 165 millones de años) posiblemente en el supercontinente Pangea, abarcando 6 familias, 29 géneros y alrededor de 217 especies (Bezerra et al., 2013; Reinoso, 2021). Los géneros de Osteoglossiformes actuales son endémicos en regiones tropicales de agua dulce, algunos ejemplos incluyen: *Papyrocranus*, *Gymnarchus* y *Pantodon* (India y África), *Scleropages* (Región Indoaustraliana), *Arapaima* y *Osteoglossum* (América del Sur) (Bezerra et al., 2013). El género *Arapaima* se encuentra descrito entre los 4 géneros de la familia Osteoglossidae y *A. gigas* se considera una especie importante debido a su ubicación en la base del árbol filogenético de los teleósteos (véase Figura 2), ya que representa un vínculo entre los teleósteos antiguos y los derivados de peces teleósteos (Bezerra et al., 2013).

Figura 2

Clasificación taxonómica del *A. gigas*.



Nota. Por Bezerra et al., 2013.

Hábitat

Es un pez nativo de la cuenca hidrográfica del Amazonas, excepto las áreas de Bolivia y el sur de Perú (Alcántara et al., 2006). No obstante, se estima que hace 30 años, fue introducido accidental o intencionalmente desde la cuenca del río Ucayali a la cuenca de Madre de Dios en Perú y ahora se ha extendido por toda la cuenca amazónica del norte de Bolivia (FAO, 2023). Se ha informado que el paiche también ha sido introducido en China, Filipinas, Singapur, Tailandia, Cuba y México (Reinoso, 2021). *A. gigas* tiene estrategias para adaptarse a las variaciones diarias y anuales del nivel del agua y a diversos ambientes de llanura aluvial, así como a temperaturas que oscilan entre 14 y 31 °C (Bezerra et al., 2013). *A. gigas* vive principalmente en aguas blancas de las llanuras aluviales del Amazonas, las tierras bajas de la región de Várzea, incluidos bosques inundados, ríos, lagos y drenajes costeros, generalmente hasta los primeros rápidos importantes o cascadas de un río (Alcántara et al., 2006). Durante la sequía se encuentran principalmente en lagos y en el canal principal que atraviesa el sistema de llanura aluvial; algunos también se encuentran en áreas poco profundas de los conductos de ríos y lagos (Bezerra et al., 2013).

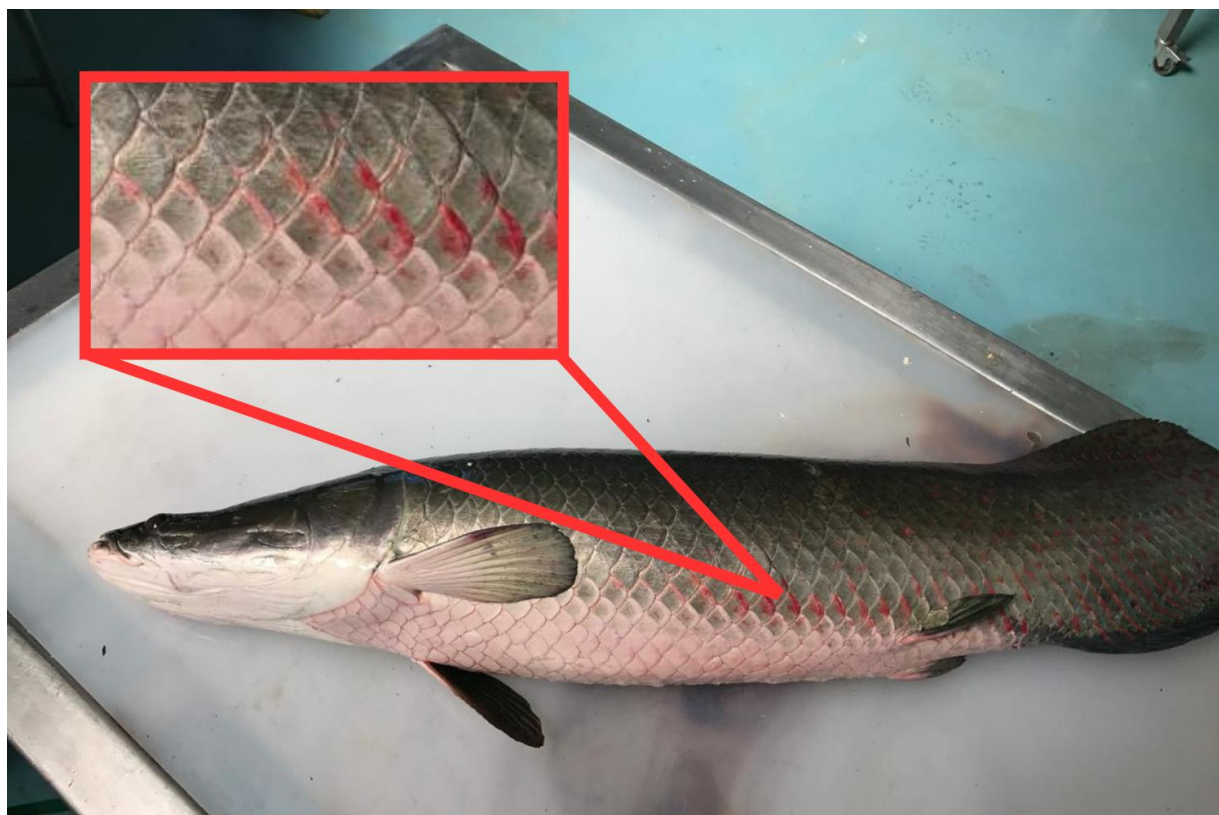
Morfología

A. gigas tiene un cuerpo subcilíndrico y extendido que se va aplanando gradualmente desde el origen de la aleta dorsal (Reinoso, 2021). La cabeza plana y el espacio entre los ojos es pequeño en relación con el cuerpo y corresponde aproximadamente al 10% del peso total (Alcántara et al., 2006). Existen 58 placas óseas de diferentes tamaños distribuidas en la superficie de la cabeza; cada una de estas placas tiene de 6 a 8 poros en su extremo posterior (Bezerra et al., 2013). La boca superior del pez es grande y oblicua, con prognatismo en la mandíbula inferior, la aleta dorsal se origina en el tercio posterior del cuerpo y sus últimos radios pasan más allá del origen caudal (FAO, 2023). La aleta anal comienza dos filas de escamas detrás del origen de la dorsal y la aleta caudal es redondeada; las aletas abdominal y ventral son mucho más tardías (FAO, 2023).

Características de las Escamas. El cuerpo del *A. gigas* está cubierto de escamas elasmoides (véase Figura 3), compuestas por una capa exterior altamente mineralizada que proporciona resistencia a la penetración a través de su dureza, y una capa interior de laminillas colagenas (50 - 60 μm de espesor para cada una) más dúctil, siguiendo un patrón tipo Bouligand, que le confiere un alto grado de deformabilidad (Yang et al., 2019; Yang et al., 2014). La capa exterior de las escamas del paiche contiene crestas y protuberancias en pequeñas áreas divididas ($\sim 3 \text{ mm}^2$), que se cree que mejoran la flexibilidad de las escamas, generando así una cerámica "dúctil" (Yang et al., 2019). El resultado es una escama dura con una resistencia excepcional al agrietamiento por la penetración de los dientes de los depredadores (Reinoso, 2021).

Figura 3

Morfología y escamas del paiche adulto.



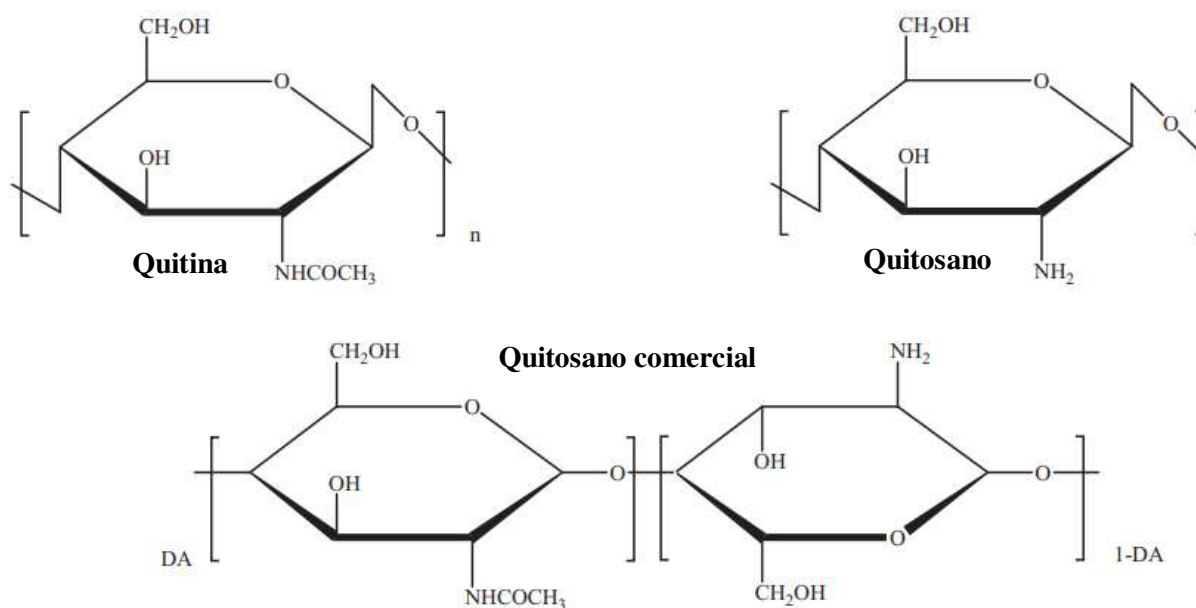
Nota. Elaboración propia. Proyecto de vinculación de la Universidad de las Fuerzas Armadas.

Quitosano

El quitosano (Número CAS 9012-76-4) es un biopolímero policatiónico, que se obtiene de la desacetilación parcial o total de la quitina, compuesto de unidades de D-glucosamina (GlcN) y N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) unidas por enlaces glicosídicos β -(1 \rightarrow 4) como se muestra en la Figura 4 (Dotto et al., 2017). Cuando la fracción de unidades de GlcN es superior al 50%, el polímero se denomina comúnmente quitosano y el número de unidades glicosídicas de GlcN se denomina grado de desacetilación (DDA) (Davis, 2011). Quitina, por otro lado, es el término utilizado cuando la fracción de unidades glicosídicas N-acetiladas son superiores al 50% y el número de unidades de GlcNAc se denomina grado de acetilación (DA), por lo que, matemáticamente: $DDA = 1 - DA$ (Jennings & Bumgardner, 2016; Crini, 2022; Davis, 2011). Se sabe que los grupos NH_2 y OH de la estructura del quitosano son los principales responsables de sus propiedades y de sus ilimitadas aplicaciones potenciales (Broek & Boeriu, 2020).

Figura 4

Representación esquemática de quitina completamente acetilada, quitosano completamente desacetilado y quitosano comercial.



Nota. Adaptado de Crini, 2022.

Existen ciertos parámetros para diferenciar la quitina del quitosano además del DDA, por ejemplo, el quitosano es altamente reactivo e hidrolizable por lipasas, a diferencia de la quitina (Crini, 2022); además, sus propiedades tecnológicas como la versatilidad en implementación de biomateriales también son diferentes (Dotto et al., 2017). Otra definición para distinguir la quitina del quitosano se basa en su diferencia de solubilidad en agua, de hecho, la quitina es un material inerte e insoluble en agua porque sus cadenas de macromoléculas hidrófobas tienen un bajo contenido de grupos amino (Jennings & Bumgardner, 2016). La quitina también es insoluble en ácidos diluidos, bases diluidas, concentradas y disolventes orgánicos; solo es soluble en altas concentraciones de soluciones de ácido clorhídrico, sulfúrico y fosfórico (Broek & Boeriu, 2020). Por otra parte, el quitosano como biopolímero hidrófilo es soluble en ácidos diluidos ($\text{pH} < 6$) como el ácido acético acuoso ya que los grupos amino libres protonados en la GlcN facilitan la solubilidad de la molécula polimérica (Broek & Boeriu, 2020; Kim, 2010; Davis, 2011).

El quitosano es un polímero no tóxico, biodegradable, de alto peso molecular y muy similar a la celulosa, una fibra vegetal (Hasan et al., 2022). Dependiendo de la fuente y el procedimiento de preparación, su peso molecular puede oscilar entre 300 y más de 1000 kDa con un DDA del 30% al 95% (Kim, 2010), aunque por convención, sólo los polímeros con más del 50% de DDA se denominan quitosano (Jennings & Bumgardner, 2016). Las propiedades funcionales del quitosano (véase Tabla 1), como la formación de biopelículas, la actividad antimicrobiana y el uso como agente espesante, están relacionadas con su peso molecular y DDA (Thomas et al., 2020b). Estos dos parámetros son muy importantes porque afectan las posibles aplicaciones de los quitosanos en diversos campos. Por ejemplo, el quitosano de bajo peso molecular tiene baja viscosidad, lo que limita sus aplicaciones y sus oligómeros no forman películas (Kim, 2010). Además, el efecto antimicrobiano del quitosano es más fuerte si el peso molecular es superior a 100 kDa y tiene un DDA alto (Kim, 2010).

Propiedades del Quitosano

Tabla 1

Propiedades detalladas del quitosano.

Tipo de propiedad	Descripción
Fisicoquímicas	<p>Aminopolisacárido lineal con alto contenido de nitrógeno.</p> <p>Biopolímero hidrofílico con alta cristalinidad y reactividad.</p> <p>Base débil, nucleófilo potente: pKa ~ 6,3 - 6,5</p> <p>Soluble en soluciones ácidas diluidas.</p> <p>Insoluble en agua y disolventes orgánicos.</p> <p>Capacidad de formar enlaces de hidrógeno.</p> <p>Propiedades electrostáticas, quelantes y complejantes.</p> <p>Retención de agua, conductividad iónica y comportamiento reológico.</p>
Biológicas	<p>No tóxico, biodegradable y biocompatible.</p> <p>Propiedades de microencapsulación y bioadhesión.</p> <p>Efecto antimicrobiano: fungicida y bactericida.</p> <p>Antiácido, antioxidante, antiinflamatorio y efecto analgésico.</p> <p>Antidiabético, anticancerígeno y antitumoral.</p> <p>Estimulación de la regeneración ósea y curación de heridas.</p>
Tecnológicas	<p>Poliectrolito a pH ácido.</p> <p>Propiedades tensoactivas y de biosorción.</p> <p>Agente hidratante, coagulante y floculante.</p> <p>Viscosidad y capacidad de gelificación.</p> <p>Alta versatilidad: soluciones, biosorbentes, fibras, biopelículas, etc.</p>

Nota. Adaptado de Crini, 2022; Broek & Boeriu, 2020; Jennings & Bumgardner, 2016.

Aplicaciones del Quitosano

Este biopolímero destaca por ser altamente susceptible a la modificación química a través de uno de sus tres grupos funcionales reactivos: el grupo amino, así como los grupos hidroxilo primario y secundario en C(2), C(3) y C(6) respectivamente (Hasan et al., 2022). La presencia de estos grupos funcionales permite una fácil modificación del quitosano mediante reacciones químicas controladas además de poder alterar químicamente sus propiedades en solución (Thomas et al., 2020b). Por este motivo, debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas únicas, existen aplicaciones en diversos sectores de interés comercial (véase Tabla 2), como son la industria alimentaria, agricultura, agroquímica, acuicultura, cosmetología, biomedicina, farmacéutica, biotecnología, tratamiento de aguas residuales, industrias del papel, los textiles, el cemento y la producción de combustibles (Thomas et al., 2020a; Thomas et al., 2020b; Crini, 2022; Dotto et al., 2017; Davis, 2011; Kim, 2010).

Tabla 2

Principales áreas de aplicación del quitosano.

Área de aplicación	Ejemplos
Industria alimentaria	Aditivos, agentes antimicrobianos, espesantes, agentes encapsulantes, precipitaciones de proteínas, conservantes de frutas y verduras, nutraceuticos, industria de bebidas, agentes clarificantes, agentes reguladores de la acidez, enología, biopelículas comestibles, empaques activos.
Agricultura	Elicitor, mejora del suelo, suplemento y aditivo alimenticio, tratamiento de semillas, sanidad vegetal, biopesticida, conservación de frutas, acuicultura.

Área de aplicación	Ejemplos
Biomedicina	Administración de medicamentos, formulaciones terapéuticas, vectorización de medicamentos, vacunas, adhesivos, hilos quirúrgicos, cicatrización de heridas, piel artificial, medicina regenerativa, sustitutos óseos, implantes, odontología, oftalmología, dermatología, inmunología, hematología, terapia génica, terapia contra el cáncer, bioimagen, medicina veterinaria.
Biotecnología	Microbiología, enzimología, recuperación celular, separación de proteínas, biosensores, biodispositivos, análisis metabólico de fluidos.
Cosmetología	Productos para el cuidado de la piel y la higiene bucal, champú, fragancias, desodorantes, antitranspirantes, cosmeceúticos.
Aguas residuales	Biosorción de metales y colorantes, biocoagulación, biofloculación, clarificación, biofiltración, eliminación de olores, deshidratación de lodos, agente antiincrustante, desnitrificación biológica, filtración por membrana, ultrafiltración asistida por polímeros.
Industrial papelera	Fabricación de papel, aditivos en el proceso de producción, industria tabacalera, papel autocopiativo, papel higiénico, agente complejante.
Industrial textil	Fabricación de fibras y tejidos, ropa interior sanitaria, material médico textil, cosmetotextiles.
Otros	Separación de disolventes, detergentes, plásticos, pinturas, cromatografía, disolventes verdes, producción de biodiésel, industria petrolera, industria del cemento, catálisis, electroquímica, puntos cuánticos, disolventes eutécticos profundos, eliminación de CO ₂ .

Nota. Adaptado de Crini, 2022; Hasan et al., 2022; Dotto et al., 2017.

Fuentes del Quitosano

El quitosano es el segundo biopolímero natural más abundante después de la celulosa en términos de disponibilidad, con una disponibilidad de más de 10 gigatoneladas (1×10^{13}) al año (Jennings & Bumgardner, 2016). Actualmente, los crustáceos marinos (especialmente camarones, cangrejos y langostas) son la principal fuente de extracción comercial de quitosano porque una gran cantidad de desechos están disponibles como subproductos renovables y de bajo costo de la industria pesquera en muchos lugares del mundo (Crini & Lichtfouse, 2019). Otras fuentes menores de origen acuático usadas comúnmente para obtener quitosano a escala de laboratorio incluyen a los calamares, sepias, moluscos, celentéreos y escamas de ciertos peces (Dotto et al., 2017). En cuanto a las fuentes terrestres destacan los hongos y setas, insectos (escorpiones, arañas, escarabajos, mosquitos, cucarachas, abejas, avispas, hormigas, grillos, langostas, mariposas), ciertos microorganismos (algas, levaduras, esporas) y los nematodos (Thomas et al., 2020b).

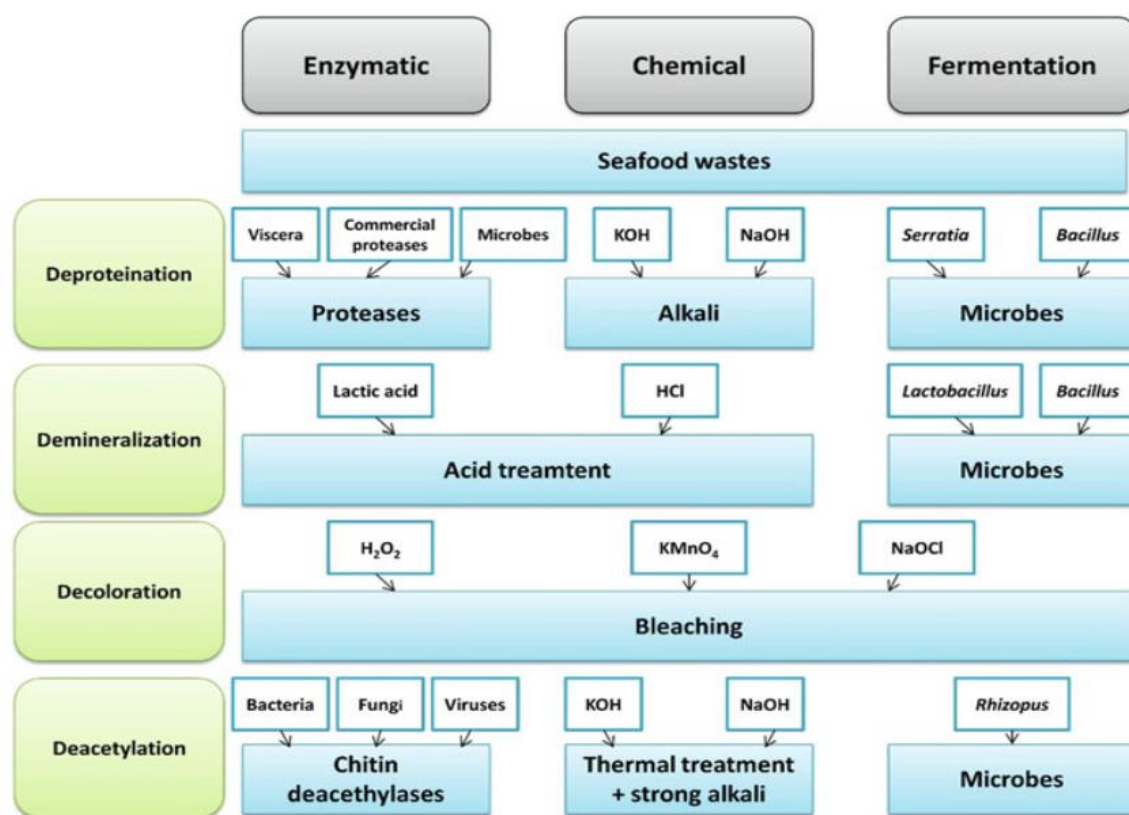
Producción de Quitosano

En general, se utilizan 3 métodos principales para la obtención de quitosano: el proceso químico convencional, el método enzimático y el método fermentativo (Dotto et al., 2017; Thomas et al., 2020a; Broek & Boeriu, 2020). En la Figura 5 se puede visualizar una comparación de estas tres metodologías utilizadas para la obtención de quitosano. En el proceso convencional y enzimático, las fuentes comúnmente son crustáceos, insectos o moluscos (Dotto et al., 2017). En primer lugar, la quitina se aísla de las materias primas mediante varios tratamientos químicos o mediante proteasas, que eliminan cenizas, proteínas, colores y sabores (Broek & Boeriu, 2020). Luego, la quitina se convierte en quitosano mediante desacetilación alcalina o un grupo de enzimas denominadas quitina desacetilasas (Dotto et al., 2017). La purificación se puede realizar mediante varias etapas de disolución, precipitación, centrifugación y, finalmente, se emplea la etapa de secado (Jennings & Bumgardner, 2016).

Por otra parte, en el proceso fermentativo, el quitosano se obtiene a partir de hongos principalmente (Broek & Boeriu, 2020). Inicialmente, la biomasa fúngica que contiene complejos de glucano con quitina o quitosano se obtiene mediante fermentación (Broek & Boeriu, 2020). Luego, la biomasa se separa del medio de fermentación mediante filtración, se seca y se realizan pasos secuenciales para extraer el quitosano (Dotto et al., 2017). Se sabe que cada proceso tiene ventajas e inconvenientes, pero, en el presente trabajo, sólo se abordará el proceso convencional ya que es el más común y se utiliza industrialmente.

Figura 5

Comparación de los tres principales métodos de producción de quitosano.



Nota. Por Crini & Lichtfouse, 2019.

Pretratamiento. El paso de pretratamiento agrupa todas las actividades necesarias en la preparación de la biomasa para la extracción de quitosano, esto puede comprender la eliminación de tejidos blandos mediante raspado, ebullición y presión (Dotto et al., 2017).

También se aplica un tratamiento físico para modificar el tamaño del material, incluido el corte, la molienda y el tamizado en tamaños más pequeños para facilitar el proceso de extracción (Kurniawan et al., 2019). Se recomienda obtener tamaños de partícula de la materia prima en números de malla N20, N40, N50 y N60 para asegurar un mejor rendimiento (Samar et al., 2013; Putri et al., 2021). De igual forma, se recomienda secar la muestra pretratada a 80°C en un horno de aire caliente durante 2 o 3 días (Varun et al., 2017).

Desmineralización. El objetivo principal de esta etapa es la reducción del contenido de cenizas (contenido mineral) en la materia prima pretratada, las cenizas están compuestas principalmente por carbonatos, fosfatos y otras sales minerales (Varun et al., 2017). La desmineralización se realiza principalmente con una proporción de materia prima y solución de 1:10 (p/v), utilizando soluciones diluidas de ácido clorhídrico (HCl) en un rango de concentración de 1 al 10% (v/v), bajo agitación y temperatura ambiente (20 - 30 °C), durante períodos de tiempo cortos (1 - 3 h) (Dotto et al., 2017). Este tratamiento asegura la eliminación completa del contenido mineral, sin degradación de las cadenas poliméricas de quitina (Varun et al., 2017). Esta reacción utiliza ácido clorhídrico para descomponer el carbonato de calcio en cloruro de calcio con la liberación de agua y dióxido de carbono (Thomas et al., 2020b). También se pueden utilizar otros ácidos, como el ácido nítrico (HNO₃), ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido fórmico (HCOOH), ácido acético (CH₃COOH) y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); estos ácidos son eficaces, pero pueden provocar daños en la estructura de la quitina, por ejemplo, despolimerización (Dotto et al., 2017). Posteriormente, las cáscaras desmineralizadas se filtran al vacío y se lavan con agua destilada durante 30 minutos hasta que el pH se vuelva neutro, finalmente, se secan en un horno a unos 60°C durante 24 horas (Thomas et al., 2020b).

Desproteínización. En este proceso, se emplea un tratamiento con álcalis para eliminar el contenido de proteínas adherido a los desechos de los crustáceos (Broek & Boeriu, 2020), entre los reactivos comúnmente utilizados se encuentra el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), carbonato de sodio (Na₂CO₃), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de

potasio (K_2CO_3), hidróxido de calcio [$Ca(OH)_2$], sulfito de sodio (Na_2SO_3), bisulfito de sodio ($NaHSO_3$), bisulfito de calcio [$CaHSO_3$], fosfato de sodio (Na_3PO_4), y sulfuro de sodio (Na_2S) (Thomas et al., 2020b). La opción más común es el uso de NaOH en una proporción de materia prima y solución de 1:20, 1:10, 1:8 o 1:5 (p/v), concentración del 1 al 10% (v/v) bajo agitación continua, la temperatura utilizada en esta operación varía de 20 a 100 °C y el período de tiempo varía de 2 a 72 horas (Fuentes, 2021; Tello, 2017; Varun et al., 2017; Putri et al., 2021). La desproteización requiere un control efectivo del tiempo y la temperatura, ya que las altas temperaturas y períodos de tiempo prolongados pueden provocar despolimerización y desacetilación (Thomas et al., 2020b). Una forma alternativa de desproteización es el tratamiento enzimático con proteasas como la pepsina, tripsina y papaína, esta alternativa enzimática es más suave, pero menos eficaz que el tratamiento alcalino (Dotto et al., 2017).

Despigmentación. Esta operación se encarga de eliminar pigmentos y olores (Fuentes, 2021). Para este fin se utilizan habitualmente etanol, acetona, permanganato de potasio ($KMnO_4$), hipoclorito de sodio ($NaOCl$) o peróxido de hidrógeno (H_2O_2) con concentraciones que van desde el 2% al 6,5% (p/v) (Tello, 2017; Dotto et al., 2017). Si la materia prima son los crustáceos, en este paso se puede emplear la extracción con disolventes para la recuperación de un pigmento rosa-anaranjado denominado astaxantina, el cual es conocido por su actividad antioxidante (Dotto et al., 2017). Es importante resaltar que, a los pasos antes mencionados de desmineralización y desproteización les siguen varios lavados consecutivos con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro (Fuentes, 2021). El producto de la desmineralización, desproteización y desodorización/despigmentación es la quitina, la cual luego puede secarse para su uso posterior o desacetilarse inmediatamente para producir quitosano (Tello, 2017).

Desacetilación. La reacción de desacetilación es el paso más importante en el que la quitina se convierte en quitosano debido a que los grupos acetamido en la posición C-2 se convierten en grupos amino (NH_2) (Broek & Boeriu, 2020). Cuando el porcentaje de grupos amino alcanza alrededor del 50% o más, el polímero se vuelve soluble en medios ácidos

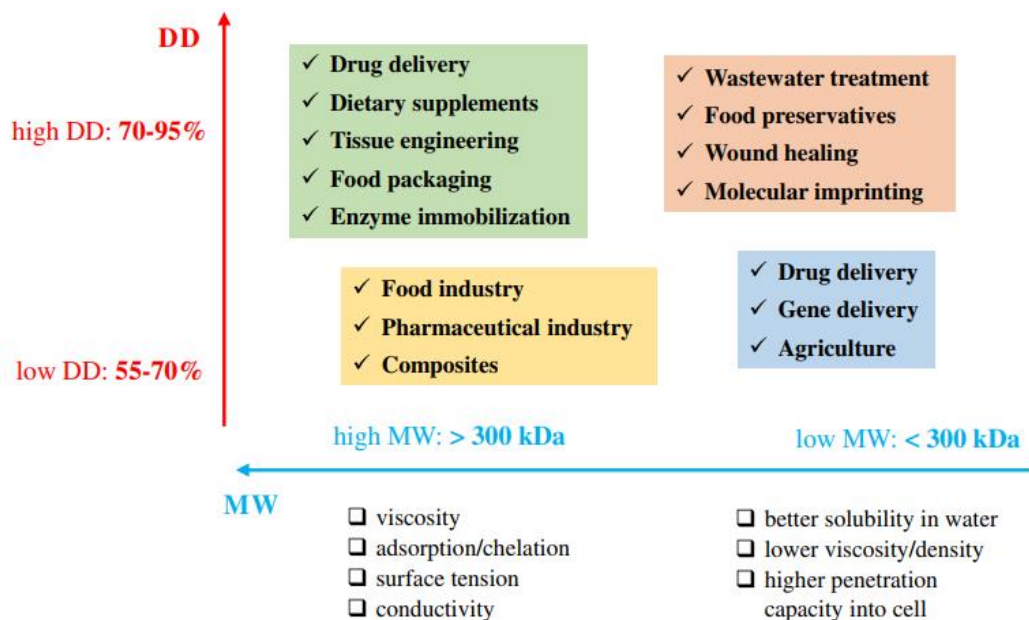
acuosos y se llama quitosano (Kim, 2010). Existen dos métodos de desacetilación química (homogéneo y heterogéneo) que permiten obtener quitosano con diferentes DDA para aplicaciones específicas como lo indica la Figura 6. Se puede realizar un proceso de desacetilación homogéneo en dos pasos para producir quitosano soluble con un DDA de entre 48% y 55% (Hasan et al., 2022). Este proceso produce desacetilación con grupos acetilo distribuidos uniformemente a lo largo de la cadena de la estructura del quitosano (Hasan et al., 2022). En la desacetilación homogénea la quitina se trata con NaOH al 40 - 50% (p/v) a temperatura ambiente (25 °C) durante 3 horas seguidas de una disolución en hielo picado a aproximadamente 0 °C (Thomas et al., 2020b).

También se puede realizar una desacetilación heterogénea en un proceso de un solo paso con quitina sólida para obtener un DDA del 85 al 99% (Kim, 2010). En estas condiciones, principalmente las zonas amorfas se ven afectadas, lo que lleva a un patrón de distribución irregular del residuo de N-acetil-D-glucosamina (Broek & Boeriu, 2020). La desacetilación heterogénea se realiza comúnmente con concentraciones altas de álcali acuoso del 40 al 50 % (p/v), a temperaturas más altas (100-160°C) y se prefiere para fines industriales (Broek & Boeriu, 2020).

Los principales factores que afectan la reacción de desacetilación son la concentración de álcali, el tiempo de reacción, la relación sólido-líquido, la temperatura y el tamaño de las partículas de quitina (Dotto et al., 2017). Se están investigando algunas técnicas alternativas para mejorar o sustituir la hidrólisis alcalina convencional, que incluyen medios enzimáticos, explosión de vapor, desacetilación asistida por microondas y desacetilación asistida por ultrasonidos (Dotto et al., 2017; Samar et al., 2013).

Figura 6

Relación entre las características del quitosano y sus aplicaciones.



Nota. MW: peso molecular y DD: grado de desacetilación. Adaptado de Crini, 2022.

Purificación. En este paso, el producto de la desacetilación se disuelve en medio ácido generando una solución viscosa con una fracción insoluble, la cual está compuesta por impurezas, principalmente cenizas que no fueron eliminadas por completo en el paso de desmineralización (Thomas et al., 2020b). A continuación, esta solución viscosa se centrifuga o filtra y se desecha la fracción insoluble, luego se añade un álcali, formando una suspensión con el quitosano precipitado (Davis, 2011). Posteriormente la suspensión se centrifuga nuevamente generando quitosano puro (90 - 95%) en forma de pasta, los pasos mencionados anteriormente se pueden repetir muchas veces con el objetivo de obtener un quitosano de alta pureza (>99%), cuyo precio por kg varía desde los 1000 a los 1300 dólares americanos (Dotto et al., 2017).

Secado. Finalmente, esta última operación en la obtención de quitosano es muy importante para garantizar el contenido de humedad necesario para el almacenamiento del

producto, sin provocar alteraciones en el material (Davis, 2011; Espinales & Hojas, 2020). En general, después del secado, el producto deseado debe contener un contenido de humedad inferior al 10% (base húmeda), para asegurar buenos aspectos fisicoquímicos y microbiológicos durante períodos prolongados de almacenamiento (Arantes et al., 2014). La polimerización y las reacciones de Maillard son las principales alteraciones que se deben evitar durante la operación de secado (Arantes et al., 2014). Algunas técnicas generalmente utilizadas son el secado en bandeja por convección, secado en lecho fluido, secado por aspersion, secado al sol, secado en horno, secado por infrarrojos, liofilización y secado sobrecalentado a baja presión (Dotto et al., 2017).

Biopelículas de Quitosano

Como envase activo para alimentos, el quitosano se puede aplicar a los alimentos en forma de una biopelícula o recubrimiento comestible (Elsabagh et al., 2023). En general, el quitosano regula el intercambio de gases, inhibe la tasa de respiración y reduce la tasa de producción de etileno durante el período de almacenamiento de frutas (Zárate et al., 2023). Se ha informado que el quitosano es fungistático y bacteriostático, es capaz de inducir respuestas de defensa del huésped, incluida la acumulación de hidrolizados antifúngicos y fitoalexinas (Samar et al., 2013; Xing et al., 2016). Además, los estudios muestran que la aplicación de quitosano tiene un efecto beneficioso en la preservación de la firmeza, la acidez titulable, el contenido de agua, el contenido de sólidos totales y el mantenimiento del color en vegetales frescos perecederos (Crini & Lichtfouse, 2019; Ooi et al., 2021).

Efecto Antioxidante de las Biopelículas de Quitosano. Se ha informado que el quitosano es un polímero con excelentes propiedades antioxidantes, esta actividad se correlaciona con la fuente del material, el peso molecular y el DDA como se establece en la Tabla 3 (Samar et al., 2013). Por ejemplo, se ha demostrado que los recubrimientos que contienen 1, 2 y 3% de quitosano con un alto grado de DDA prolongaron la calidad del fruto de guayaba (*Psidium guajava*) durante el almacenamiento, a través del aumento de la capacidad

de eliminación de radicales (Crini & Lichtfouse, 2019; Kim, 2010). Además, la presencia de recubrimientos de quitosano contribuye a un aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes que controlan el metabolismo de las especies reactivas de oxígeno (Samar et al., 2013). Se ha registrado que el recubrimiento de rodajas de melón recién cortadas con una biopelícula de quitosano podría mejorar la firmeza, el color y mantener el contenido de vitamina C y carotenoides, lo que podría prolongar su vida útil hasta 15 días (Carvalho et al., 2016). Este recubrimiento también redujo los niveles de radical peróxido de hidrógeno y condujo a un bajo grado de peroxidación lipídica; la alta calidad visual y las bajas enzimas asociadas al pardeamiento enzimático también se encontraron en las rodajas de melón tratadas con quitosano (Carvalho et al., 2016).

Tabla 3

Relación entre los parámetros estructurales y actividades biológicas del quitosano.

Actividad biológica	Relación con el parámetro estructural
Analgésico	Directamente proporcional al DDA
Antimicrobiano	Directamente proporcional al DDA y PM
Antioxidante	Directamente proporcional al DDA Inversamente proporcional al PM
Biodegradabilidad	Inversamente proporcional al DDA y PM
Biocompatibilidad	Directamente proporcional al DDA
Cristalinidad	Inversamente proporcional al PM
Solubilidad	Directamente proporcional al DDA
Viscosidad	Directamente proporcional al DDA

Nota. DDA: grado de desacetilación. PM: peso molecular. Adaptado de Hasan et al., 2022.

Efecto Antibacteriano de las Biopelículas de Quitosano. Recientemente se han propuesto varios mecanismos de actividad antimicrobiana del quitosano. Una de las hipótesis afirma que el quitosano podría inhibir el crecimiento de bacterias al formar complejos con elementos o nutrientes esenciales (Crini & Lichtfouse, 2019). Otro mecanismo potencial de actividad antimicrobiana del quitosano puede estar relacionado con la unión del quitosano cargado positivamente a la superficie bacteriana cargada negativamente, lo que conduce a una fuga intracelular y, en consecuencia, a la muerte celular (Xing et al., 2016). La presencia de grupos amino (NH_3^+) de la glucosamina en el quitosano provoca la capacidad de interactuar directamente con la membrana celular, el ácido teicoico en las bacterias Gram positivas y los lipopolisacáridos en las bacterias Gram negativas son responsables de crear enlaces con el quitosano (Elsabagh et al., 2023). De esta manera, se crea una capa impermeable alrededor de la célula, que impide el transporte de sustancias esenciales al interior (Elsabagh et al., 2023). El último mecanismo propuesto de actividad antimicrobiana del quitosano incluye la interacción entre el quitosano y los productos de hidrólisis del ADN microbiano, lo que conduce a la inhibición del ARNm y la síntesis de proteínas (Varun et al., 2017).

Efecto Antifúngico de las Biopelículas de Quitosano. Según la literatura, el quitosano tiene una gran actividad antifúngica contra hongos sensibles al quitosano (Crini, 2022). La hipótesis predice que el quitosano con carga positiva puede interactuar con los fosfolípidos con carga negativa de la membrana celular del hongo sensible, provocando la destrucción de la membrana y la entrada a la célula, en cambio, la membrana celular de los hongos resistentes al quitosano forma una barrera para el quitosano y este polisacárido permanece en la superficie exterior (Crini & Lichtfouse, 2019). Se ha concluido que la razón de la diferencia en la permeación entre hongos resistentes y sensibles al quitosano radica en que las membranas plasmáticas de los hongos sensibles tienen más ácidos grasos poliinsaturados que los hongos resistentes, lo que sugiere que su permeabilización por el quitosano puede depender de la fluidez de la membrana (Palma et al., 2010). Se ha demostrado que el

quitosano de origen fúngico con bajo peso molecular y alto DDA tiene la mayor actividad antifúngica contra *Candida spp.* (Tayel et al., 2010). También se ha registrado su efectividad con altas zonas de inhibición contra cuatro hongos fitopatógenos diferentes: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum accutatum* y *Phytophthora infestans* (Divya et al., 2018).

Formulación de Biopelículas Basadas en Quitosano

Aunque las biopelículas de quitosano tienen propiedades reconocidas que les permiten ser aplicados en sistemas alimentarios, también tienen algunos inconvenientes que restringen su uso en condiciones específicas, debido a su baja resistencia a la difusión del vapor de agua y su resistencia a la tracción relativamente baja, especialmente en ambientes húmedos (Thomas et al., 2020c). Como resultado, existen una serie de estrategias que se han utilizado en la literatura, como la reticulación o mezcla con biopolímeros (lípidos, polisacáridos, proteínas, nanocristales de celulosa, etc.), para reducir su sensibilidad al agua (Kim, 2010). La mezcla de polímeros es uno de los métodos más eficaces para obtener nuevos materiales con las propiedades deseadas (Rhim et al., 2006). Mezclando quitosano con otros componentes con diferentes propiedades mecánicas, de permeabilidad y ópticas se pueden obtener películas con propiedades adaptadas a la aplicación deseada (Thomas et al., 2020c).

Combinación con Plastificantes. En comparación con las películas plásticas sintéticas, una limitación importante de las biopelículas a base de quitosano son sus propiedades mecánicas, especialmente su capacidad de elongación y uno de los medios más comunes para mejorar este aspecto es agregar un plastificante a la formulación (Dotto et al., 2017). Los plastificantes son aditivos utilizados para fabricar películas con mayor porcentaje de alargamiento a la rotura y más flexibles, necesarios para facilitar el procesamiento y las aplicaciones de los polímeros (Dotto et al., 2017). Los tipos de plastificantes ampliamente utilizados en las películas de quitosano son polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), azúcares (glucosa y sacarosa) y lípidos (Davis, 2011). El glicerol es el plastificante más utilizado en la elaboración de polímeros biodegradables, especialmente en biopelículas de

quitosano ya que reduce los valores de resistencia a la tracción y aumenta el alargamiento relativo porcentual a rotura (Broek & Boeriu, 2020). Sin embargo, el efecto del glicerol en la matriz de quitosano depende del solvente utilizado, pH de la solución, grado de desacetilación, peso molecular y tiempo de almacenamiento, entre otros (Broek & Boeriu, 2020).

Combinación con Otros Polisacáridos. Diversos estudios han evaluado cómo afecta la combinación e interacción del quitosano con otros polisacáridos como la celulosa, agar-agar, kefiran, almidón, goma xantana, goma guar, entre otros (Maharsih et al., 2021; Rhim et al., 2006; Tokatlı & Demirdöven, 2020; Yusof et al., 2019). Las modificaciones en las propiedades de la película debido a la interacción entre polisacárido-polisacárido dependen de la estructura y propiedades intrínsecas del polisacárido seleccionado (Crini & Lichtfouse, 2019). En el caso del almidón, las interacciones quitosano-almidón son más complejas, y las modificaciones en las propiedades mecánicas y de barrera dependen del origen, estructura (relación amilosa-amilopectina) del almidón, las propiedades del quitosano y el disolvente utilizado (Crini & Lichtfouse, 2019). La formulación de soluciones filmogénicas de quitosano-almidón permite lograr una disminución de la resistencia a la tracción y del nivel de degradación que presenta cada polisacárido cuando se forman biopelículas por separado (Yusof et al., 2019; Maharsih et al., 2021).

Preservación de Vegetales y Frutas de Primera Gama

Las verduras y frutas frescas que no han recibido ningún tratamiento de conservación (primera gama alimentaria) se caracterizan por ser alimentos muy perecederos ya que contienen 80-90% de agua en peso (Dhall, 2013). Si se dejan sin cutícula, el agua comienza a evaporarse rápidamente, lo que reduce la vida útil del producto, entre la cosecha y el consumo se producen pérdidas importantes en calidad y cantidad de frutas y hortalizas frescas (Zárate et al., 2023). Cuando se recolecta el fruto se produce un cambio del equilibrio gaseoso entre el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, en esta nueva condición, las células no se renuevan y las tasas de transferencia de gases aumentan, provocando una

pérdida metabólica y llevando el fruto a una maduración gradual y eventual senescencia (Dhall, 2013). Además, la contaminación de la pulpa de la fruta puede ocurrir a partir de la piel, provocando deterioros bioquímicos como pardeamiento, desarrollo de sabores desagradables y degradación de la textura, disminuyendo la calidad de la fruta y aumentando el riesgo para el consumidor debido a la presencia de microorganismos patógenos (Xing et al., 2016). Por ejemplo, varios tipos de *Salmonella*, así como *E. coli* O157:H7, han estado implicados en brotes transmitidos por alimentos por el consumo de melón y sandía (Harris et al., 2003). La extensión óptima de la vida postcosecha de los productos alimenticios depende críticamente de tres factores: (1) reducción de la desecación, (2) reducción del proceso fisiológico de maduración y senescencia, y (3) reducción del inicio y la tasa de crecimiento microbiano (Harris et al., 2003). Es en esta situación, en la que los recubrimientos comestibles podrían contribuir a extender la vida útil de frutas y verduras frescas al reducir la humedad y la migración de solutos, el intercambio de gases, la respiración y la oxidación (Dhall, 2013).

Generalidades de la Uvilla

La uvilla, uchuva o aguaymanto (*Physalis peruviana*) es una planta originaria de los Andes sudamericanos perteneciente a la familia de las Solanáceas (Carpio et al., 2018). Esta planta produce frutos jugosos parecidos a bayas de color amarillo anaranjado, con un diámetro entre 1,25 - 2,50 cm y un peso entre 4 - 10 g, dependiendo de las condiciones de cosecha (Agudelo et al., 2023; Carpio et al., 2018). La uvilla produce un fruto climatérico caracterizado por un sabor agridulce y fresco, textura y aroma agradable, el cual, a su vez, tiene un alto valor nutricional debido a la notable presencia de compuestos como vitaminas (ácido ascórbico, tiamina, riboflavina y niacina) y minerales (calcio, fósforo y hierro) (Cárdenas et al., 2021; Vega et al., 2020; Muñoz et al., 2021). Además, tiene un alto contenido en carotenos y otros compuestos minoritarios que favorecen su capacidad antioxidante y le confieren un efecto hepatoprotector, antimutagénico, depurativo, fortalecedor del sistema inmunológico y reductor del colesterol, el azúcar en sangre (Agudelo et al., 2023; Muñoz et al., 2021).

Características Postcosecha de la Uvilla. No obstante, la forma mayoritaria de comercialización es fresca, lo que convierte al fruto de la uvilla en un alimento altamente perecedero debido a su contenido de humedad, sensibilidad al etileno, alta actividad respiratoria y la incidencia de procesos de maduración que aceleran el fenómeno de senescencia y determinan el detrimento de su textura, sabor y aroma; limitando así su vida útil entre 10 y 12 días, aproximadamente (Agudelo et al., 2023; Cárdenas et al., 2021).

Generalidades del Tomate Cherry

El tomate cherry, tomate cereza, tomate pasa o tomate uva (*Solanum lycopersicum var. cerasiforme*), es una planta herbácea anual o perenne de la familia Solanaceae (Z. Yang et al., 2023; Reis et al., 2015). Esta variedad de tomate es delicada y de apariencia pequeña, presenta un período reproductivo corto y un período de suministro largo (Tsouvaltzis et al., 2023). El tomate cherry, que es básicamente una fruta, pero a veces se considera una verdura, es bastante popular y se consume en todo el mundo (Z. Yang et al., 2023). El fruto se presenta numerosamente (15 - 50) en racimos largos, se caracteriza por tener una forma redonda, un color brillante, sabor intenso típicamente agrídulce y tener un peso entre 10 y 30 g (Razali et al., 2021; Kumar et al., 2020; Z. Yang et al., 2023). Además, destacan por ser resistentes a las enfermedades y tolerantes a una humedad relativa elevada (> 80%) (Z. Yang et al., 2023).

El tomate cherry es una gran fuente de vitaminas, minerales y fibra, importantes para la nutrición y la salud humana (Reis et al., 2015). No obstante, el valor nutricional del tomate se atribuye principalmente a componentes de alta capacidad antioxidante, como el licopeno, β -caroteno y fenoles solubles totales; cuya concentración se ve afectada tanto por factores pre como postcosecha (Tsouvaltzis et al., 2023). El contenido de licopeno del tomate cherry supera los 10 mg/100 g de peso fresco y su ingesta se ha relacionado con una menor incidencia y gravedad de varios tipos de cáncer y enfermedades cardíacas (Z. Yang et al., 2023). Por otra parte, el β -caroteno exhibe fuertes funciones quimioprotectoras y una mayor actividad de la provitamina A en el metabolismo humano (Tsouvaltzis et al., 2023).

Características Postcosecha del Tomate Cherry. El fruto del tomate cherry es climatérico y perecedero con una vida útil corta que oscila entre 15 y 21 días dependiendo de las condiciones de almacenamiento (Kumar et al., 2020). El color es el rasgo externo más importante para evaluar el estado de maduración y vida postcosecha y, a su vez, incide en la decisión del consumidor sobre su compra (Razali et al., 2021). Los cambios de color de verde a naranja y luego a rojo que se observan durante la maduración de los frutos del tomate, se deben a la síntesis de carotenoides, específicamente licopeno y β -caroteno, así como a la descomposición de la clorofila, debido a la conversión de cloroplastos en cromoplastos (Razali et al., 2021). El color externo de los frutos del tomate se determina mediante colorímetros que miden la luminosidad (L^*), así como los parámetros a^* y b^* (Z. Yang et al., 2023). Durante la maduración de los frutos de tomate, el parámetro a^* y la relación a^*/b^* aumentan, mientras que el ángulo de tonalidad, el parámetro b^* y la luminosidad (L^*) disminuyen (Z. Yang et al., 2023). Por otra parte, estos frutos, que normalmente se cosechan inmaduros, tienen una firmeza elevada inicialmente, lo que los hace resistentes al manejo postcosecha, pero disminuye durante su maduración (Razali et al., 2021). Durante la maduración de los frutos del tomate se producen varios cambios en la estructura de los polisacáridos de las paredes celulares (pectinas, hemicelulosas, celulosas), dando lugar a una disminución de la firmeza (Reis et al., 2015). Estos cambios se aceleran por la actividad de enzimas, como las poligalacturonasas, hidrolasas y liasas (Kumar et al., 2020).

Capítulo III

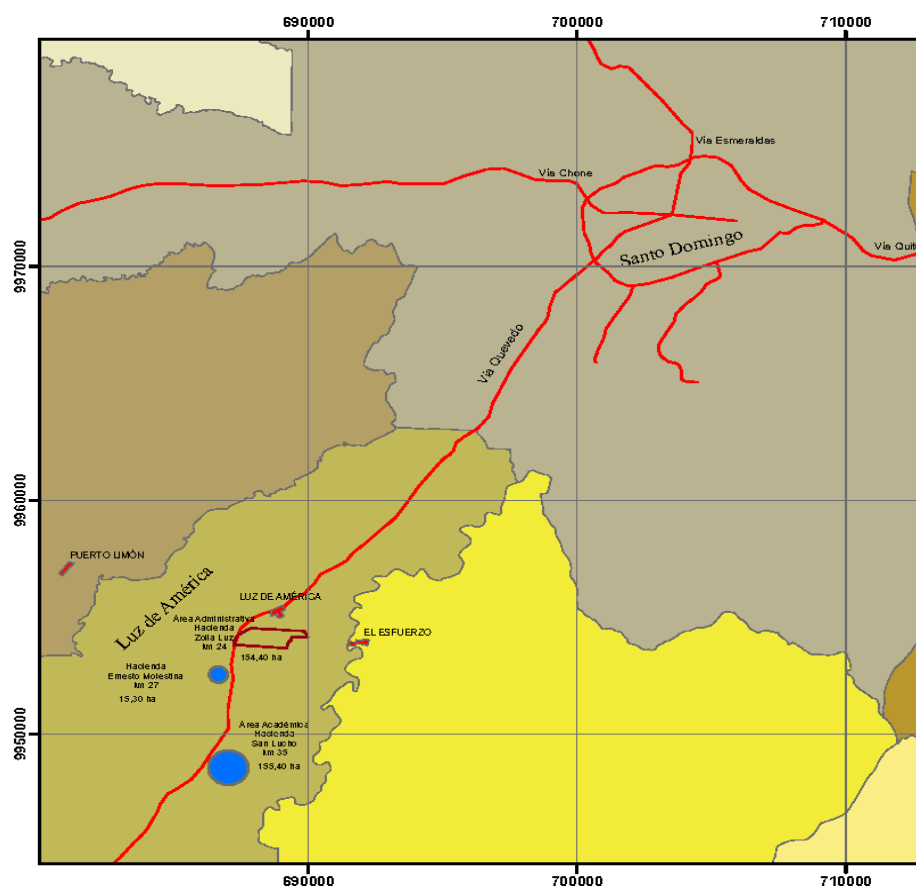
Metodología

Ubicación del Área de Investigación

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en el Laboratorio de Bromatología y Biociencias del Campus IASA II de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”, Extensión Santo Domingo de los Tsáchilas, localizada en la Parroquia Luz de América, Hacienda Zoila Luz, vía Quevedo km. 24 margen izquierdo.

Figura 7

Mapa de ubicación del Campus IASA II



Nota. Adaptado de Mapa de ubicación área administrativa, académica y de producción del IASA II, por Uday, 2013.

Tipo de Investigación

El presente proyecto se realizó en base a un tipo de investigación experimental desde que se realizó la extracción de quitosano de las escamas de paiche aplicando dos métodos (químico e hindú), hasta que se evaluó el efecto de este compuesto en la conservación de vegetales frescos (tomate cherry y uvilla) mediante la elaboración de biopelículas en combinación con distintas soluciones filmogénicas (almidón de yuca y agar-agar).

Enfoque y Técnicas de Recolección de Datos

Se empleó un enfoque de investigación mixto. La aplicación del método cuantitativo mediante protocolos experimentales y equipos analíticos permitió la medición de las variables de rendimiento, grado de desacetilación (DDA), humedad y cenizas de los dos tipos de quitosano obtenidos para poder determinar el mejor método de extracción; en cuanto al estudio de la conservación de vegetales frescos, esta metodología hizo posible la cuantificación de variables adicionales como tiempo de gelificación, grados Brix, acidez titulable, pH, humedad, dureza, variación de color (delta E) y la contaminación bacteriana.

Por otra parte, el método cualitativo hizo posible la evaluación organoléptica de los vegetales frescos recubiertos con distintas biopelículas, esto mediante la recopilación de las percepciones subjetivas de consumidores mediante fichas sensoriales. Los atributos evaluados fueron el color, aroma, sabor, textura y aceptabilidad general en base a una escala hedónica compuesta por 5 categorías descriptivas.

Fuentes de Recopilación de Información

Los fundamentos teóricos y la metodología experimental se recolectaron a partir de una exhaustiva revisión bibliográfica teniendo como fuentes principales de información a libros, artículos científicos y normativas técnicas. Y como fuentes secundarias a tesis de pregrado y postgrado.

Diseño Experimental

Tipo de Diseño Experimental para el Estudio de la Conservación de Vegetales Frescos

Con el propósito de evaluar los dos métodos de extracción de quitosano (método químico e hindú) a partir de las escamas de paiche, se realizaron 5 réplicas por cada método obteniendo un total de 10 unidades experimentales y se aplicó una prueba t de Student bilateral para muestras independientes con un nivel de significancia de $p < 0,05$. También se evaluó la magnitud del efecto en las variables dependientes con el estadístico d de Cohen.

Para el análisis de la efectividad de las biopelículas en la conservación de vegetales frescos, se desarrolló un DBCA (diseño de bloques completos al azar) con arreglo factorial AxB (3x2) en donde el factor A hace referencia a la formulación de quitosano y el factor B a la solución filmogénica. De esta manera, se definieron 6 tratamientos, se realizaron 4 réplicas por cada uno y se obtuvo un total de 24 unidades experimentales. Finalmente, se aplicó un ANOVA (análisis de varianza) con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

El procesamiento estadístico de los datos y la generación de gráficos fueron realizados utilizando el software IBM SPSS Statistics 29, Statistica v10.0 y Microsoft Excel.

Variables Dependientes de la Prueba t de Student

- Rendimiento (%)
- Humedad (%)
- Grado de desacetilación (%)
- Cenizas (%)

Variables Dependientes del ANOVA

- Grados Brix (°Bx)
- Humedad (%)
- Acidez titulable (%)
- Dureza (kgf)
- pH
- Delta E

Factores y Niveles del Diseño Factorial

Tabla 4

Factores y niveles a evaluar en el estudio de la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Factores de estudio	Simbología	Niveles
Factor A: Formulación de quitosano	a0	CHH
	a1	CHQ
	a2	N/A
Factor B: Solución filmogénica	b0	AL
	b1	AG

Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar.

Tratamientos del Diseño Factorial

Tabla 5

Tratamientos a comparar en el estudio de la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Tratamientos	Simbología	Descripción
T1	a0 + b0	Quitosano obtenido por método hindú + almidón de yuca
T2	a0 + b1	Quitosano obtenido por método hindú + agar-agar
T3	a1 + b0	Quitosano obtenido por método químico + almidón de yuca
T4	a1 + b1	Quitosano obtenido por método químico + agar-agar
T5	a2 + b0	Sin aplicar quitosano + almidón de yuca
T6	a2 + b1	Sin aplicar quitosano + agar-agar

Análisis Estadístico del Diseño Factorial

Tabla 6

Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la conservación de vegetales frescos (I Gama) mediante la aplicación de biopelículas basadas en quitosano.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F de Fisher	Valor-p
Factor A	SC _A	2	CM _A	CM _A / CM _E	p (F > F ^A)
Factor B	SC _B	1	CM _B	CM _B / CM _E	p (F > F ^B)
Interacción AxB	SC _{AB}	2	CM _{AB}	CM _{AB} / CM _E	p (F > F ^{AB})
Réplicas	SC _R	3	CM _R	CM _R / CM _E	p (F > F ^R)
Error	SC _E	15	CM _E		
Total	SC _T	23			

Análisis Funcional del Diseño Factorial

Para evaluar los tratamientos en el diseño factorial AxB que obtuvieron una diferencia estadísticamente significativa, se realizó la prueba post-hoc de Tukey ($p < 0,05$).

Análisis de Componentes Principales

Con el propósito de simplificar la interpretación del conjunto de datos completo, con los resultados fisicoquímicos tanto de la uvilla como del tomate cherry, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con una extracción fija de 3 factores y un método de rotación Quartimax.

Materiales

Extracción y Evaluación del Quitosano

Tabla 7

Recursos utilizados en la extracción y evaluación del quitosano.

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
Licuadaora	Tamiz N° 20	Agua destilada	Escamas de paiche molidas
Estufa	Balones de aforo	Hipoclorito de sodio 3% (v/v)	
Mufla	Embudo Büchner	Ácido clorhídrico 7% (v/v)	
Balanza analítica	Matraz de Erlenmeyer	Ácido clorhídrico 5% (v/v)	
Campana	Vasos de precipitado	Hidróxido de sodio 4% (p/v)	
extractora de gases	Desecador	Hidróxido de sodio 40% (p/v)	
	Agitadores magnéticos	Hidróxido de sodio 50% (p/v)	
Planchas de agitación y calentamiento	Espátulas	Ácido acético 1% (v/v)	
	Varillas de agitación	Hidróxido de sodio 0.1 N	
Termómetros digitales	Guantes de calor	Ácido clorhídrico 0.1 N	
	Probetas		
Micromolino	Pipetas		
vibratorio	Propipetas		
Potenciómetro	Gasas estériles		
	Crisoles		
	Pinzas metálicas		
	Soporte universal		
	Bureta		

Preparación y Evaluación de las Soluciones Filmogénicas

Tabla 8

Recursos utilizados en la preparación y evaluación de las soluciones filmogénicas.

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
Planchas de agitación y calentamiento	Vasos de precipitado Balones de aforo Probetas	Agua destilada Glicerol (GL) Almidón de yuca (AL)	Quitosano extraído por método químico (CHQ)
Balanza analítica	Pipetas	Agar-agar (AG)	Quitosano extraído
Refrigerador	Propipetas	Ácido acético 1% (v/v)	por método hindú
Cronómetro	Papel aluminio Guantes de calor Agitadores magnéticos Espátulas		(CHH)

Recubrimiento de los Vegetales Frescos

Tabla 9

Recursos utilizados en el proceso de recubrimiento de los vegetales frescos.

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
Refrigerador	Vasos de precipitado Varillas de agitación Placas de Petri Colador metálico	Agua destilada Ácido cítrico 2% (p/v) Solución filmogénica AL 5% + GL 1%	Uvillas Tomates cherry

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
	Película transparente de uso alimenticio	Solución filmogénica AG 5% + GL 1%	
	Papel Parafilm	Solución filmogénica	
	Pinzas metálicas	AL 5% + GL 1% + CHH 1%	
	Tijeras metálicas	Solución filmogénica AL 5% + GL 1% + CHQ 1%	
		Solución filmogénica AG 5% + GL 1% + CHH 1%	
		Solución filmogénica AG 5% + GL 1% + CHQ 1%	

Análisis Físicoquímicos de los Vegetales Recubiertos

Tabla 10

Recursos utilizados en los análisis físicoquímicos de los vegetales recubiertos.

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Vasos de precipitado	Agua destilada	Uvillas
Plancha de calentamiento	Soporte universal Mortero de porcelana	Etanol al 70% (v/v)	recubiertas Tomates cherry
Potenciómetro	Gotero plástico	Hidróxido de sodio 0.1 N	recubiertos
Refractómetro	Gasas estériles	Fenolftaleína al 1% (p/v)	
Penetrómetro	Bureta		
Teléfono celular	Malla metálica		

Análisis Microbiológicos de los Vegetales Recubiertos

Tabla 11

Recursos utilizados en los análisis microbiológicos de los vegetales recubiertos.

Equipos	Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Puntas de micropipeta	Agua destilada	Uvillas recubiertas
Plancha de	Gradilla para puntas	Etanol al 70% (v/v)	con el mejor
agitación y	Matraz de Erlenmeyer	Agua de peptona	tratamiento
calentamiento	Mortero de porcelana	tamponada	Tomates cherry
Autoclave	Tubos de ensayo con tapa		recubiertos con el
Micropipeta	Papel Kraft		mejor tratamiento
Cámara de flujo	Guantes de calor		
laminar	Gradilla plástica		
Contador de	Algodón		
colonias digital	Gasas estériles		
	Pipetas		
	Propipetas		
	3M Placas Petrifilm™ para		
	Enterobacterias (EB)		
	3M Placas Petrifilm™ para		
	Aerobios (RAC)		
	3M Placas Petrifilm™ para		
	Coliformes (CC)		
	3M Placas Petrifilm™ para		
	E. coli (EC)		

Métodos

Acondicionamiento de las Escamas

La metodología utilizada para el pretratamiento de las escamas de paiche se desarrolló en base a los estudios realizados por Samar et al. (2013), Fuentes (2021) y Tello (2017).

Lavado y Secado de Escamas Crudas. 300 g de escamas se lavaron vigorosamente con agua destilada a 80 °C para remover cualquier tipo de impureza adherida, luego se colocaron en una bandeja de aluminio y se secaron en una estufa a 70 °C durante 24 horas hasta obtener un peso constante.

Molienda y Tamizado de Escamas Secas. Las escamas secas se trituraron en una licuadora Oster BLST4655 de 600W a la menor velocidad durante 5 minutos con intervalos de enfriamiento de 15 minutos, este proceso se repitió hasta producir un material granulado homogéneo que después se tamizó utilizando un tamiz malla N° 20 (840 µm).

Desinfección y Despigmantación de Escamas Secas. Las escamas molidas se sumergieron lentamente en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3% (v/v) siguiendo una relación de 3:10 (p/v), se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente en una campana extractora de gases.

Filtración y Neutralización de Escamas Despigmantadas. La mezcla se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual y se realizaron 4 lavados consecutivos a las escamas despigmantadas con agua destilada hasta obtener un pH cercano a 7.

Secado de Escamas Despigmantadas. La materia prima despigmantada se secó en una estufa a 70 °C durante 12 horas hasta obtener un peso constante.

Extracción del Quitosano Mediante el Método Químico

El método químico de extracción de quitosano se desarrolló en base a los estudios realizados por Thomas et al. (2020b), Hasan et al. (2022), Varun et al. (2017), Younes y Rinaudo (2015), Varma y Vasudevan (2020).

Desmineralización de Escamas. Se sumergió el material despigmentado en una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 7% (v/v) siguiendo una relación de 3:10 (p/v), luego se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente en una campana extractora de gases.

Filtración y Neutralización de Escamas Desmineralizadas. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual, se realizaron 4 lavados consecutivos con agua destilada y se ajustó el pH con una solución 0,1 N de hidróxido de sodio (NaOH) hasta alcanzar un valor cercano a 7.

Secado de Escamas Desmineralizadas. Las escamas desmineralizadas y neutralizadas se secaron en una estufa a 70 °C durante 12 horas hasta obtener un peso constante.

Desproteización de Escamas. Se mezcló el material desmineralizado con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 4% (p/v) siguiendo una relación 3:10 (p/v), se sometió a un proceso de agitación continua a 300 rpm durante 1 hora a 70 °C en una campana extractora de gases.

Filtración de Escamas Desproteinizadas. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual e inmediatamente se procedió con la etapa de desacetilación.

Desacetilación de la Quitina. Se mezcló el material desproteinado con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% (p/v) siguiendo una relación 3:5 (p/v), se sometió a un proceso de agitación continua a 300 rpm durante 1 hora a 100 °C en una campana extractora de gases.

Filtración y Neutralización del Quitosano. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual, se realizaron 4 lavados consecutivos con agua destilada y se

ajustó el pH con una solución 0,1 N de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar un valor cercano a 7.

Extracción del Quitosano Mediante el Método Hindú

El método hindú de extracción de quitosano se adaptó del protocolo desarrollado por Madhavan (1974) en el Instituto Central de Tecnología Pesquera (CIFT) de la India.

Desproteización de las Escamas. Se sumergió el material despigmentado en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 4% (p/v) siguiendo una relación 3:10 (p/v), se sometió a un proceso de agitación continua a 300 rpm durante 1 hora a 70 °C en una campana extractora de gases.

Filtración y Neutralización de Escamas Desproteinizadas. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual, se realizaron 4 lavados consecutivos con agua destilada y se ajustó el pH con una solución 0,1 N de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar un valor cercano a 7.

Desmineralización de las Escamas. Se mezcló el material desproteinado con una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 5% (v/v) siguiendo una relación 3:10 (p/v), se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente en una campana extractora de gases.

Filtración y Neutralización de Escamas Desmineralizadas. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual, se realizaron 4 lavados consecutivos con agua destilada y se ajustó el pH con una solución 0,1 N de hidróxido de sodio (NaOH) hasta alcanzar un valor cercano a 7.

Desacetilación de la Quitina. Se mezcló el material desmineralizado con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 50% (p/v) siguiendo una relación 3:5 (p/v), se sometió a un proceso de agitación continua a 300 rpm durante 1 hora a 100 °C.

Filtración y Neutralización del Quitosano. Pasado este tiempo, la solución se filtró utilizando 3 capas de gasas estériles en un embudo Büchner acoplado a un matraz, se descartó el solvente residual, se realizaron 4 lavados consecutivos con agua destilada y se ajustó el pH con una solución 0,1 N de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar un valor cercano a 7.

Procesamiento del Quitosano

Secado. Los gránulos de quitosano obtenidos por ambos métodos se secaron en una estufa durante 48 horas a 50 °C según lo indica Arantes et al. (2014), con el propósito de evitar su despolimerización.

Molienda. Concluido el tiempo de secado, se procedió a pulverizar los gránulos de quitosano obtenidos por ambos métodos en un micromolino vibratorio FRITSCH durante 3 minutos empleando la amplitud de oscilación mínima (1 mm).

Almacenamiento. Se pesaron los dos tipos de quitosano pulverizado, se colocaron en frascos de vidrio rotulados y previamente secados hasta obtener un peso constante, se taparon y se almacenaron en un desecador hasta su posterior uso.

Prueba Cualitativa de Solubilidad de Quitosano

La prueba cualitativa para verificar la obtención del quitosano se realizó mediante el método de solubilidad recuperado del trabajo de Yusharani et al. (2019). Se homogeneizó 0,1 g de cada muestra en 5 mL de una solución de ácido acético al 1% (v/v) y al observar un proceso de gelificación inmediato, se corroboró la presencia de quitosano.

Evaluación del Rendimiento de Quitosano

El rendimiento de quitosano obtenido en cada método se calculó como el peso seco de quitosano en relación con el peso húmedo de las escamas de paiche crudas, según lo indica Qamarul et al. (2019). Para esto se aplicó la siguiente fórmula:

$$R = \frac{P2}{P1} \times 100$$

Siendo:

R: Rendimiento de quitosano (%).

P1: Peso húmedo de las escamas crudas (g).

P2: Peso seco de quitosano extraído (g).

Evaluación de las Propiedades Fisicoquímicas del Quitosano

Grado de desacetilación (DDA). Para determinar el DDA de ambas muestras se utilizó la técnica de titulación cuya metodología fue adaptada de Qamarul et al. (2019) y del trabajo de Pérez y Vilas (2018). Se disolvieron completamente 0,1 g de las dos muestras de quitosano en 50 mL de ácido clorhídrico 0,1 M a temperatura ambiente. Bajo agitación constante, las soluciones se valoraron con hidróxido de sodio 0,1 M y se registró el volumen necesario para alcanzar un pH de 3,75. La valoración continuó hasta un pH de 8 y se registró el volumen total de la solución utilizada de hidróxido de sodio (NaOH). El DDA se calculó usando la siguiente ecuación:

$$DDA = C \times \frac{N \times (V2 - V1)}{W1} \times 100$$

Siendo:

DDA: Grado de desacetilación del quitosano (%).

C: Masa molar del monómero de quitosano completamente desacetilado ($161,16 \times 10^{-3}$ g/mol).

V1: Volumen (mL) requerido para alcanzar el primer punto de equivalencia (pH 3,75).

V2: Volumen (mL) requerido para alcanzar el segundo punto de equivalencia (pH 8).

N: Concentración de la solución de NaOH (0,1 mol/L).

W: Masa de la muestra de quitosano (0,1 g).

Humedad. El contenido de humedad total se adaptó del estudio de Espinales y Hojas (2020). Se colocaron dos crisoles en una estufa por 30 minutos a 120 °C hasta obtener un peso constante y terminado este tiempo se enfriaron en un desecador. Se pesó cada crisol en una

balanza analítica (M2) y se agregó 1 g de cada muestra de quitosano (M0). Posteriormente se colocaron en una estufa a 130 °C durante 2 horas, pasado este tiempo se dejaron enfriar en un desecador y se registró el peso final de los crisoles con la muestra seca (M1). El contenido de humedad se calculó mediante la fórmula:

$$H = \frac{M1 - M2}{M0} \times 100$$

Siendo:

H: Humedad en porcentaje de masa (%).

M1= Peso del crisol y la muestra seca (g).

M2= Peso del crisol seco (g).

M0= Peso de la muestra húmeda (g).

Cenizas. El contenido de ceniza total se adaptó del estudio de Espinales y Hojas (2020). Se colocaron dos crisoles en una estufa por 30 minutos a 120 °C hasta obtener un peso constante y terminado este tiempo se enfriaron en un desecador. Se pesó cada crisol en una balanza analítica (M2) y se agregó 1 g de cada muestra de quitosano (M0). Posteriormente se colocaron en una mufla a 600 °C durante 3 horas, pasado este tiempo se dejaron enfriar en un desecador y se registró el peso final de los crisoles con la muestra calcinada (M1). El contenido de cenizas se calculó mediante la fórmula:

$$C = \frac{M1 - M2}{M0} \times 100$$

Siendo:

C: Ceniza total en porcentaje de masa (%).

M1= Peso del crisol y la muestra calcinada (g).

M2= Peso del crisol seco (g).

M0= Peso de la muestra húmeda (g).

Preparación de las Soluciones Filmogénicas

La formulación de las soluciones filmogénicas se desarrolló en base a los estudios realizados por Frazão et al. (2017), Ojeda et al. (2020), Maharsih et al. (2021) y Yusof et al. (2019).

Solución Base de Almidón de Yuca. Se preparó una solución de almidón al 5% (p/v) y glicerol al 1% (v/v), disolviendo 25 g de almidón de yuca en 500 mL de agua destilada, se agregó 5 mL de glicerol y se homogeneizó durante 30 minutos a 70 °C y 300 rpm.

Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Químico. Se disolvió 2 g de quitosano en 200 mL de ácido acético al 1% (v/v) a 40 °C durante 30 minutos y 300 rpm. Después, se agregó la solución de quitosano-ácido acético a 200 mL de la solución de almidón-glicerol y se mezcló a 40 °C y 300 rpm hasta conseguir una solución filmogénica homogénea.

Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Hindú. Se disolvió 2 g de quitosano en 200 mL de ácido acético al 1% (v/v) a 40 °C durante 30 minutos y 300 rpm. Después, se agregó la solución de quitosano-ácido acético a 200 mL de la solución de almidón-glicerol y se mezcló a 40 °C y 300 rpm hasta conseguir una solución filmogénica homogénea.

Solución Base de Agar-Agar. Se preparó una solución de agar-agar al 5% (p/v) y glicerol al 1% (v/v), disolviendo 25 g de agar-agar en 500 mL de agua destilada, se agregó 5 mL de glicerol y se homogeneizó durante 30 minutos a 70 °C y 300 rpm.

Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Químico. Se disolvió 2 g de quitosano en 200 mL de ácido acético al 1% (v/v) a 40 °C durante 30 minutos y 300 rpm. Después, se agregó la solución de quitosano-ácido acético a 200 mL de la solución de agar-glicerol y se mezcló a 40 °C y 300 rpm hasta conseguir una solución filmogénica homogénea.

Adición de Quitosano al 1% Obtenido por Método Hindú. Se disolvió 2 g de quitosano en 200 mL de ácido acético al 1% (v/v) a 40 °C durante 30 minutos y 300 rpm. Después, se agregó la solución de quitosano-ácido acético a 200 mL de la solución de agar-glicerol y se mezcló a 40 °C y 300 rpm hasta conseguir una solución filmogénica homogénea.

Evaluación del Tiempo de Gelificación de las Soluciones Filmogénicas

Este procedimiento se basó en la normativa INEN 1520 para evaluar el tiempo de gelificación en postres de gelatina (INEN, 1986c). Se tomó una alícuota de las soluciones filmogénicas y se dividió en 6 porciones iguales en vasos de precipitado de 25 mL. Se colocaron en refrigeración a una temperatura de 8 °C y se registró la hora inicial. Se visualizó la muestra al transcurrir la primera hora y se continuó la observación en intervalos de 30 minutos, hasta completar tres horas. Se registró el tiempo de gelificación de cada solución cuando al invertir cada recipiente, el gel no se derramaba.

Recubrimiento de los Vegetales Frescos

Desinfección. Se sumergieron los vegetales frescos a utilizar en 1000 mL de una solución de ácido cítrico al 2% (p/v) durante 5 minutos.

Recubrimiento por Inmersión. Se sumergieron 4 uvillas y 4 tomates cherry en cada una de las 6 soluciones filmogénicas durante 5 minutos como lo indica Vázquez et al. (2023). Las soluciones filmogénicas evaluadas fueron: almidón de yuca al 5%; agar-agar al 5%; almidón de yuca al 5% + quitosano al 1% (método químico); almidón de yuca al 5% + quitosano al 1% (método hindú); agar-agar al 5% + quitosano al 1% (método químico); y agar-agar al 5% + quitosano al 1% (método hindú).

Secado y Almacenamiento. Se retiraron cuidadosamente los vegetales recubiertos con pinzas metálicas estériles y se colocaron en un colador previamente desinfectado con etanol al 70%, se escurrieron durante 1 minuto para eliminar el exceso de solución filmogénica. Se colocaron 4 muestras de cada vegetal recubierto sobre cajas de Petri estériles sin tapa, se envolvieron con una película transparente autoadherente y se sellaron con papel Parafilm. Finalmente se rotuló cada placa de Petri y se almacenaron en un refrigerador a 8 °C durante 14 días.

Análisis Fisicoquímico de los Vegetales Recubiertos

Sólidos solubles totales (SST). Se utilizó un refractómetro digital Mettler Toledo MyBrix, el cual se calibró previamente con agua destilada. Se trituró cada muestra, se colocó 1 gota sin diluir en el centro de la celda y se realizó la medición directa de grados Brix (°Bx) según lo indica Romero et al. (2020).

pH. El potencial de hidrógeno se midió siguiendo el procedimiento sugerido por la normativa INEN 389 para conservas vegetales (INEN, 1986b). Se trituró 25 gramos de cada muestra, se agregó agua destilada en proporción 1:1 (p/v), se llevó a ebullición durante 30 minutos hasta homogeneizar completamente la muestra, se filtró con gasas estériles y se midió el pH con el potenciómetro.

Acidez Titulable. Para determinar la acidez titulable, se tomó como referencia la normativa INEN 381 para conservas vegetales sólidas (INEN, 1986a). Se trituró cada muestra, se pesó 25 gramos, se mezcló en un vaso con 50 mL de agua destilada, se dejó hervir durante 30 minutos y se filtró la solución. Se aforó la muestra filtrada a 250 mL y se recuperó 25 mL de la dilución resultante en un vaso de precipitado. Se añadió rápidamente de 10 a 50 mL de una solución 0,1 N de hidróxido de sodio (NaOH), agitando hasta alcanzar pH de 6. Se continuó agregando lentamente la solución hasta obtener pH de 7, luego se adicionó la solución gota por gota, registrando el volumen de la misma y el pH obtenido después de cada adición, hasta alcanzar un pH de 8,3 aproximadamente. Usando interpolación, se estableció el volumen exacto para llegar a un pH de 8,1. Se utilizó el ácido cítrico anhidro como referencia y la siguiente fórmula para estimar la acidez en productos sólidos:

$$A = \frac{V1 \times N1 \times M}{V2}$$

Siendo:

A: Valor de acidez (g de ácido por 100 g de muestra).

V1: Volumen de NaOH empleado para la titulación de la alícuota (mL).

N1: Normalidad de la solución de NaOH (0,1 N).

M: Peso molecular del ácido de referencia (192,12 g/mol).

V2: Volumen de la alícuota utilizada para la titulación (25 mL).

Humedad. El procedimiento para estimar el contenido de humedad de los vegetales frescos se adaptó del estudio de Zhang et al. (2023). Se colocaron dos crisoles en una estufa por 30 minutos a 120 °C hasta obtener un peso constante y terminado este tiempo se enfriaron en un desecador. Se pesó cada crisol en una balanza analítica (M2) y se agregó 0.01 g de cada muestra de vegetal recubierto (M0). Posteriormente se colocaron en una estufa a 105 °C durante 1 hora, luego se secaron a 80 °C hasta obtener un peso constante, pasado este tiempo se dejaron enfriar en un desecador y se registró el peso final de los crisoles con la muestra seca (M1). El contenido de humedad se calculó mediante la fórmula:

$$H = \frac{M1 - M2}{M0} \times 100$$

Siendo:

H: Humedad en porcentaje de masa (%).

M1= Peso del crisol y la muestra seca (g).

M2= Peso del crisol seco (g).

M0= Peso de la muestra húmeda (g).

Dureza. Se utilizó un penetrómetro digital Turoni BC-TR53215 con un puntal de 6 mm de diámetro y se realizaron 3 mediciones en distintas partes del fruto de forma perpendicular y ejerciendo una presión constante, se registró el valor promedio de la dureza en unidades de kilogramo-fuerza (kgf) según lo indica Sarango (2023).

Color. La evaluación del color se realizó utilizando el sistema de coordenadas L*a*b* definido por la International Commission on Illumination (CIE), en donde L* se refiere a luminosidad (0 indica negro, 100 indica blanco); a* se refiera a la intensidad rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde) y b* se refiere a la intensidad amarillo/azul (+b indica amarillo, -b

indica azul) (Mendoza & Rodríguez, 2012). Para esto, se utilizó un teléfono celular con la aplicación móvil Color Picker para evaluar el espacio de color $L^*a^*b^*$ de cada una de las muestras recubiertas, mediante fotografías con flash dentro de una caja negra y siempre a la misma muestra según lo indica Zhao et al. (2023). Después se calculó la diferencia total de color de cada tratamiento definida como la variable Delta E (ΔE) mediante la siguiente fórmula:

$$\Delta E = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2}$$

Siendo:

ΔE : Diferencia total de color.

L_1^* : Valor de luminosidad de vegetales frescos pretratamiento (40,50 para el tomate cherry y 49,91 para la uvilla).

L_2^* : Valor de luminosidad de vegetales frescos postratamiento.

a_1^* : Valor de intensidad rojo/verde de vegetales frescos pretratamiento (49,60 para el tomate cherry y 25,11 para la uvilla).

a_2^* : Valor de intensidad rojo/verde de vegetales frescos postratamiento.

b_1^* : Valor de intensidad amarillo/azul de vegetales frescos pretratamiento (31,59 para el tomate cherry y 50,23 para la uvilla).

b_2^* : Valor de intensidad amarillo/azul de vegetales frescos postratamiento.

Análisis Organoléptico. Se elaboró una ficha sensorial de 6 parámetros (color, aroma, textura, sabor y aceptabilidad) para cada vegetal evaluado estableciendo una escala hedónica de 5 puntos, siendo el valor más alto el mejor. Esto se realizó en base a las escalas definidas por Ramírez (2012) y Álvarez y Peña (2016) para vegetales frescos y mínimamente procesados.

Análisis Microbiológico de los Vegetales Recubiertos

Preparación de las Muestras. En una cámara de flujo laminar, se trituró una muestra de vegetal recubierto por el mejor tratamiento establecido previamente mediante los análisis fisicoquímicos y la evaluación sensorial, se filtró con gasas estériles y se realizó una dilución 1:10 (p/v) en agua de peptona tamponada empleando una micropipeta.

Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias (EB). En una cámara de flujo laminar, se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra diluida con una micropipeta, se levantó de forma parcial la lámina de protección de la placa y se añadió la alícuota en el centro de la lámina inferior. Se volvió a colocar cuidadosamente la lámina protectora y se ubicó el molde circular de plástico con la cara lisa hacia arriba presionando suavemente durante 1 minuto hasta que la muestra se distribuyera de forma correcta. Se retiró el molde y se incubó la placa en una estufa a 30 °C durante 24 horas.

Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento Rápido de Aerobios (RAC). En una cámara de flujo laminar, se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra diluida con una micropipeta, se levantó de forma parcial la lámina de protección de la placa y se añadió la alícuota en el centro de la lámina inferior. Se volvió a colocar cuidadosamente la lámina protectora y se ubicó el molde circular de plástico con la cara lisa hacia arriba presionando suavemente durante 1 minuto hasta que la muestra se distribuyera de forma correcta. Se retiró el molde y se incubó la placa en una estufa a 30 °C durante 72 horas.

Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de E. coli (EC). En una cámara de flujo laminar, se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra diluida con una micropipeta, se levantó de forma parcial la lámina de protección de la placa y se añadió la alícuota en el centro de la lámina inferior. Se volvió a colocar cuidadosamente la lámina protectora y se ubicó el molde circular de plástico con la cara lisa hacia arriba presionando suavemente durante 1 minuto hasta que la muestra se distribuyera de forma correcta. Se retiró el molde y se incubó la placa a 35 °C durante 48 horas.

Cultivo en 3M Placas Petrifilm™ para Recuento de Coliformes (CC). En una cámara de flujo laminar, se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra diluida con una micropipeta, se levantó de forma parcial la lámina de protección de la placa y se añadió la alícuota en el centro de la lámina inferior. Se volvió a colocar cuidadosamente la lámina protectora y se ubicó el molde circular de plástico con la cara lisa hacia arriba presionando suavemente durante 1 minuto hasta que la muestra se distribuyera de forma correcta. Se retiró el molde y se incubó la placa en una estufa a 35 °C durante 24 horas.

Recuento de Microorganismos. Se estimó la cantidad total de UFC por mililitro de muestra diluida para cada una de las 3M Placas Petrifilm™ empleando un contador de colonias digital J2-ISOLAB y aplicando la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} = \frac{N \times F}{V}$$

Siendo:

N: Número de colonias identificadas.

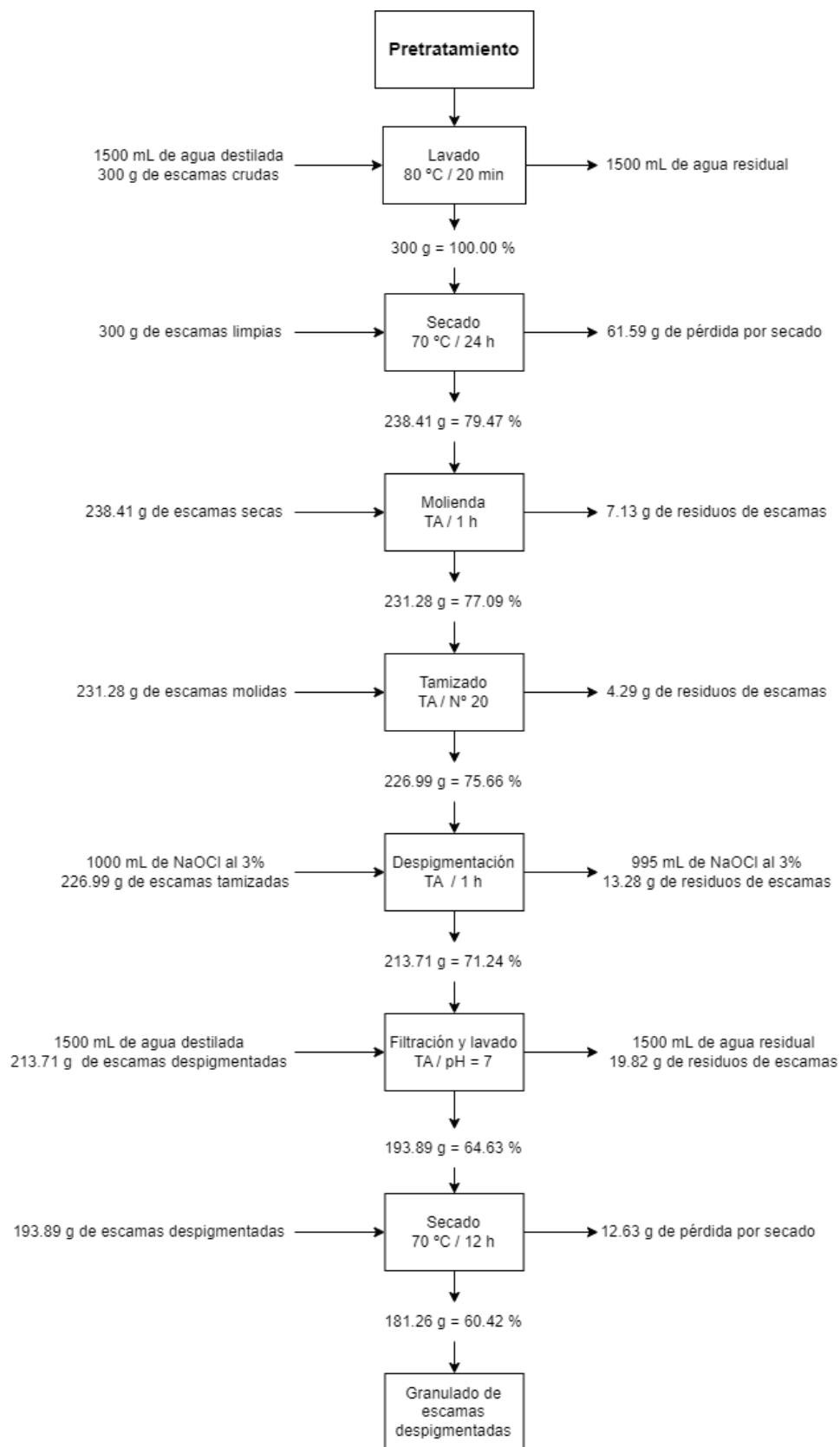
F: Factor de dilución (10^{-1}).

V: Volumen de la alícuota (1 mL).

Balance de Materiales

Figura 8

Balance de materiales del proceso de acondicionamiento de las escamas de paiche.



Rendimiento del Pretratamiento de las Escamas

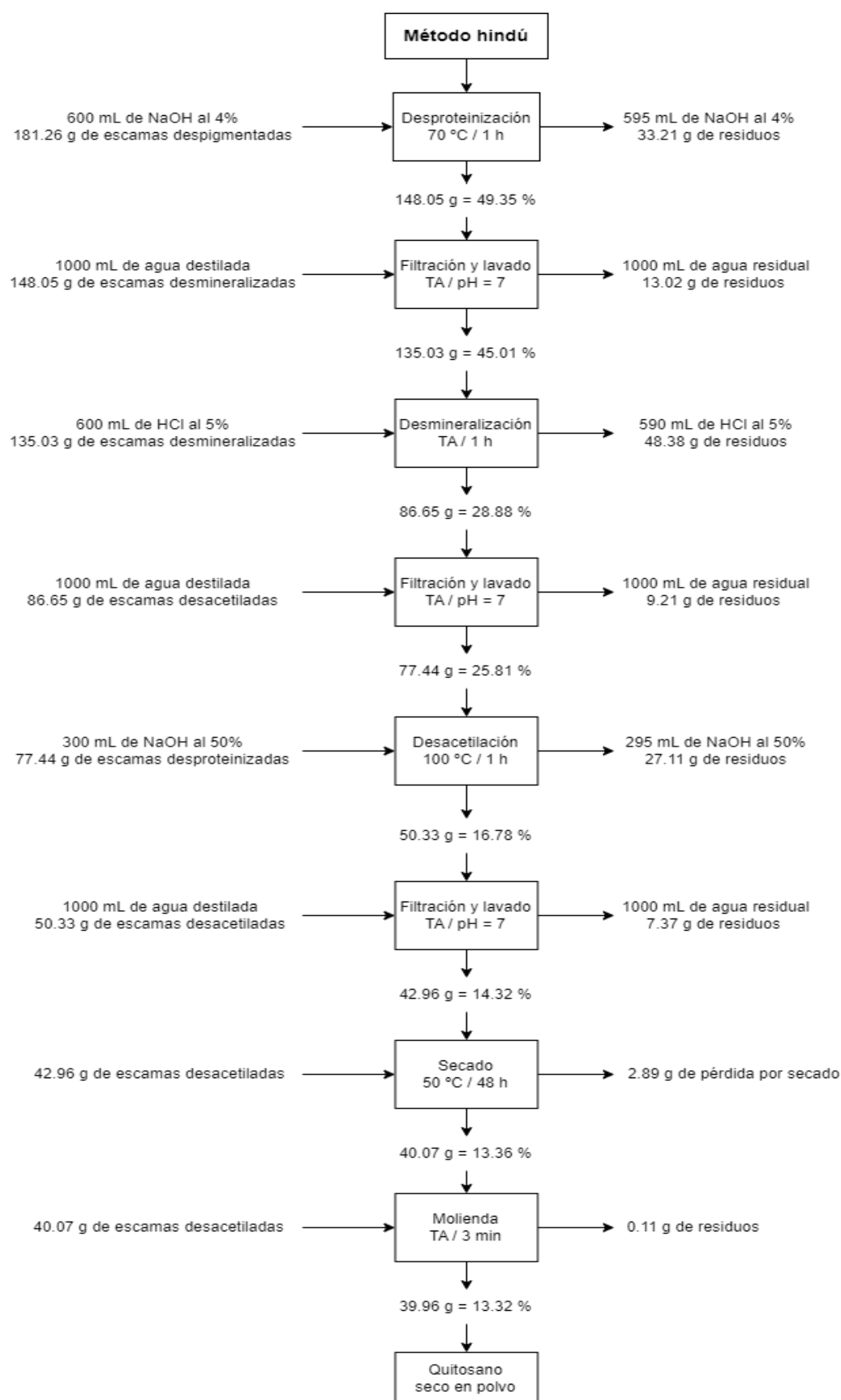
$$R = \frac{\text{Peso final (escamas acondicionadas)}}{\text{Peso inicial (escamas crudas)}} \times 100\%$$

$$R = \frac{181.26 \text{ g}}{300.00 \text{ g}} \times 100\%$$

$$R = 60.42\%$$

Figura 9

Balace de materiales de la extracción de quitosano mediante método hindú.



Rendimiento de la Extracción por el Método Hindú

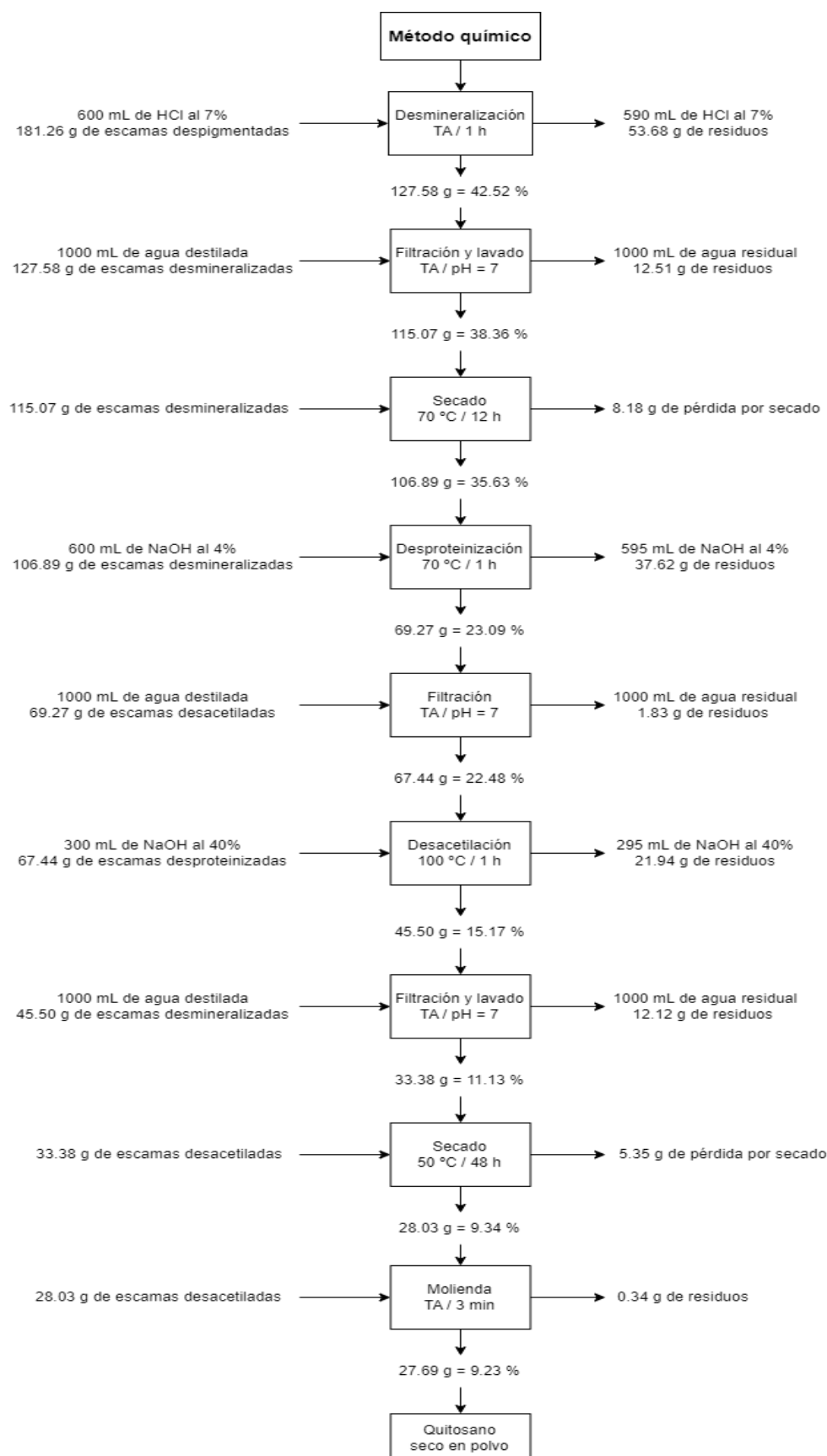
$$R = \frac{\text{Peso final (quitosano en polvo)}}{\text{Peso inicial (escamas crudas)}} \times 100\%$$

$$R = \frac{39.96 \text{ g}}{300.00 \text{ g}} \times 100\%$$

$$R = 13.32\%$$

Figura 10

Balace de materiales de la extracción de quitosano mediante el método químico.



Rendimiento de la Extracción por el Método Químico

$$R = \frac{\text{Peso final (quitosano en polvo)}}{\text{Peso inicial (escamas crudas)}} \times 100\%$$

$$R = \frac{27.69 \text{ g}}{300.00 \text{ g}} \times 100\%$$

$$R = 9.23\%$$

Capítulo IV

Resultados del Estudio de la Conservación de Vegetales Frescos

Extracción de Quitosano

Tabla 12

Características generales del quitosano extraído de las escamas de paiche.

Parámetros	Método hindú	Método químico
Prueba de solubilidad	Positivo en AA 1% (v/v)	Positivo en AA 1% (v/v)
Apariencia	Material granular	Polvo fino
Color	Blanco amarillento	Blanco brillante
Olor	Inodoro	Olor químico tenue

Nota. AA: Ácido acético.

Tabla 13

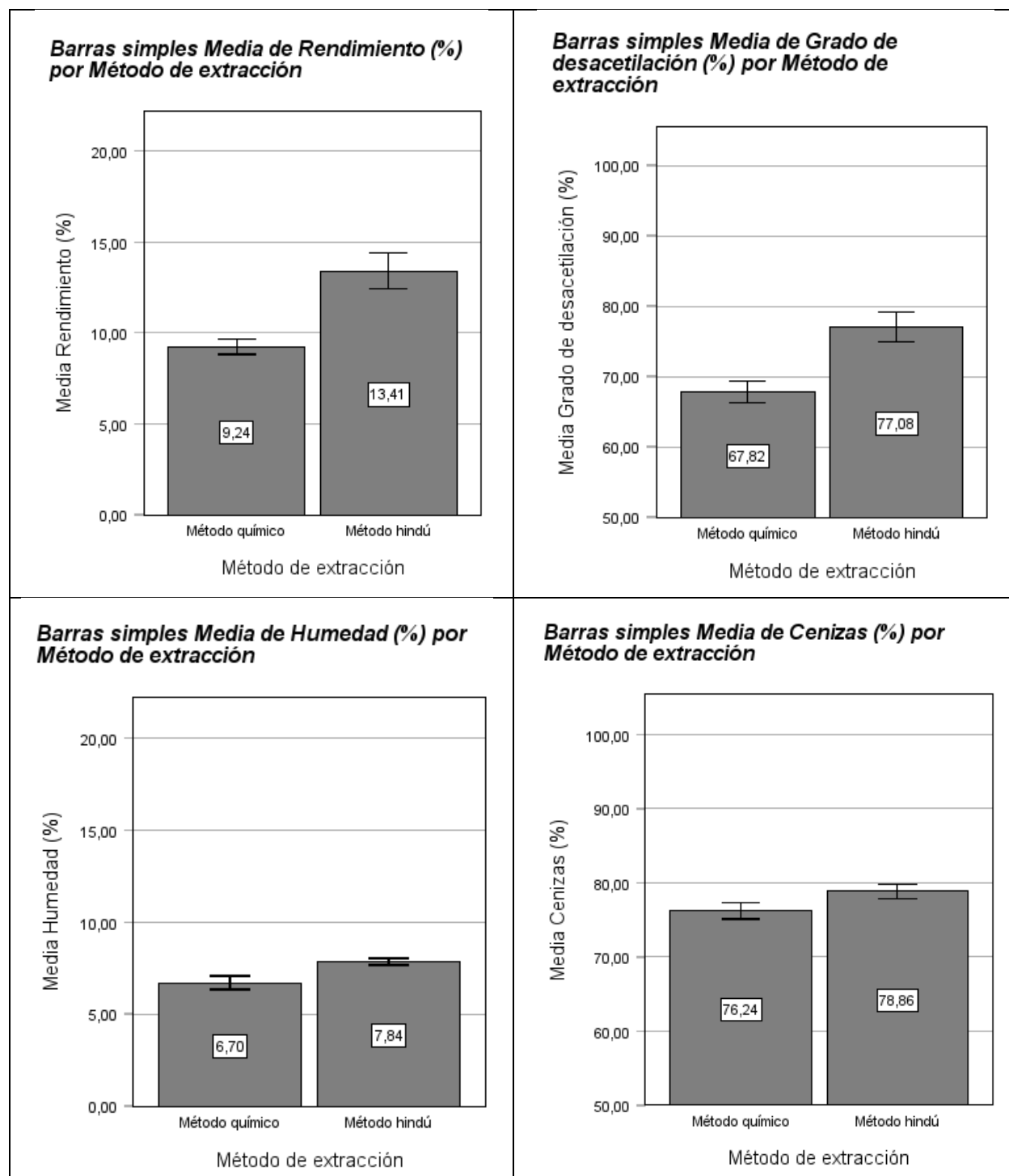
Resultados de la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los dos métodos de extracción de quitosano a partir de las escamas de paiche.

Parámetro	Métodos de extracción		t	p	d de Cohen
	Método hindú	Método químico			
Rendimiento (%)	13,41 ± 0,80	9,24 ± 0,34	10,771	< 0,001***	6,812
DDA (%)	77,08 ± 1,70	67,82 ± 1,22	9,879	< 0,001***	6,248
Humedad (%)	7,84 ± 0,15	6,70 ± 0,29	7,772	< 0,001***	5,916
Cenizas (%)	78,86 ± 0,81	76,24 ± 0,90	4,836	0,001**	3,059

Nota. Nivel de significancia: *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$. DDA: Grado de desacetilación.

Figura 11

Análisis de las variables evaluadas en la extracción de quitosano.



Nota. Barras simples con intervalos de confianza del 95%.

La Tabla 12 establece que el compuesto extraído por ambos métodos fue efectivamente quitosano debido a que tuvo una alta solubilidad en ácido acético al 1% (v/v) con un consecuente proceso de aglutinación, lo que concuerda con el estudio de Hossain et al. (2019) en el que se aplicó la misma prueba cualitativa y se obtuvo una solubilidad de alrededor del 97%. Este fenómeno se relaciona con el DDA, ya que según Tello (2017), el quitosano se solubiliza en ácidos diluidos al aumentar su capacidad hidrofílica cuando más del 50% de los grupos aminos son protonados, lo cual no sucede con la quitina. La Tabla 12 también demuestra que existieron diferencias en cuanto a la apariencia, el color y el olor de cada tipo de quitosano extraído.

La Tabla 13 muestra los resultados de la prueba t de Student bilateral, en la cual se determina que existió una alta diferencia significativa entre ambos métodos de extracción en cuanto a las 4 variables estudiadas. Además, el tamaño del efecto representado mediante la d de Cohen fue mayor a 1 en todos los casos, indicando un efecto considerablemente grande, es decir, existe una influencia sustancial del método de extracción en estas variables dependientes. La Figura 11 indica que el quitosano obtenido mediante el método hindú presentó en promedio un mayor rendimiento ($13,41 \pm 0,80\%$), DDA ($77,08 \pm 1,70\%$), humedad ($7,84 \pm 0,15\%$) y cenizas ($78,86 \pm 0,81\%$) que el quitosano obtenido por el método químico.

El menor grado de DDA del quitosano obtenido por método químico se podría relacionar con una menor concentración de NaOH (40%) utilizada durante el proceso de desacetilación de la quitina, esta misma relación se encontró en el estudio de Hermiyati et al. (2019), en el que el DDA se redujo del 74% al 47,58% cuando se disminuyó la concentración de NaOH del 60% al 50%, respectivamente. No obstante, en el presente trabajo, el rendimiento de la extracción por ambos métodos (véase Figuras 9 y 10) fue mayor en comparación al obtenido por Carneiro (2022), en el que también se aplicó un proceso de extracción heterogéneo, pero sin acondicionar previamente las escamas de paiche, obteniendo en promedio un rendimiento del 7,67%.

El mayor rendimiento de quitosano en este estudio podría estar relacionado con la etapa de pretratamiento de las escamas (véase Figura 8), específicamente, con el proceso de molienda. Samar et al. (2013) corrobora este supuesto, ya que, en su estudio sobre la extracción de quitosano a partir de residuos de camarón con diferentes tamaños de partículas y concentraciones de NaOH, descubrió una relación inversamente proporcional del tamaño de partícula de la materia prima utilizada, con el rendimiento y DDA final del quitosano. De esta forma, Samar et al. (2013) logró obtener un rendimiento del 85,39% y DDA del 78,83% cuando se utilizó un tamaño de partícula de la materia prima de 840 μm (malla N° 20) y una concentración de NaOH del 50%.

De acuerdo con el estudio de Tello (2017), el quitosano extraído por el método hindú cumple con las especificaciones comerciales en cuanto a DDA ($> 70\%$) y humedad ($< 10\%$). Sin embargo, no cumple con el límite aceptable de cenizas ($< 2\%$) al tener un valor muy alto de impurezas, esto se relaciona con el elevado nivel de mineralización de las escamas de pescado, especialmente las de paiche (*Arapaima gigas*); esto lo confirma Carneiro (2022), el cual registró en promedio un contenido de cenizas del 31,16% en este tipo de escamas. Además, en el trabajo de Carneiro (2022) se obtuvo un porcentaje similar de cenizas (75,76 %) en el quitosano extraído a partir de las escamas de paiche.

Por otra parte, los valores de cenizas obtenidos en el presente estudio han sido menores en comparación con investigaciones en las que se han utilizado las escamas de otros especímenes como fuente primaria para la extracción de este biopolímero. Específicamente, Florencia et al. (2022) extrajo quitosano a partir de las escamas de pargo rojo (*Lutjanus spp.*) y obtuvo en promedio un valor del 89,54% de cenizas, de igual manera, Hermiyati et al. (2019) obtuvo un 88,50% de cenizas al utilizar las escamas del pez ballesta estrellado (*Abalistes stellaris*). Tello (2017) reportó un contenido de cenizas del 89,69% en el quitosano extraído de las escamas de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

Evaluación de las Soluciones Filmogénicas

Tabla 14

Tiempo de gelificación de las distintas soluciones filmogénicas.

Formulación de quitosano	Solución filmogénica	Tiempo de gelificación
CHH 1%	AL 5% + GL 1%	12 min
CHH 1%	AG 5% + GL 1%	10 min
CHQ 1%	AL 5% + GL 1%	25 min
CHQ 1%	AG 5% + GL 1%	15 min
N/A	AL 5% + GL 1%	90 min
N/A	AG 5% + GL 1%	13 min

Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar. GL: Glicerol.

La Tabla 14 indica que la solución filmogénica con un menor tiempo de gelificación promedio (10 minutos) fue la compuesta por quitosano obtenido por método hindú al 1% (p/v), agar-agar al 5% (p/v) y glicerol al 1% (v/v). Por otra parte, la solución filmogénica compuesta únicamente de almidón de yuca al 5% (p/v) y glicerol al 1% (v/v) fue la que tuvo un mayor tiempo de gelificación (1 hora y 30 minutos).

En este caso se visualizó una disminución del tiempo de gelificación del almidón y agar-agar, cuando se combinan con quitosano obtenido por método hindú, a diferencia de la combinación con quitosano obtenido por método químico. Esto coincide con los hallazgos reportados en el estudio de Ganji et al. (2007), en el cual se afirma que el tiempo de gelificación tiende a disminuir a medida que se incrementa el DDA del quitosano. Además, un menor tiempo de gelificación permite un recubrimiento más rápido y uniforme cuando se aplican biopelículas de quitosano en diferentes tipos de alimentos (Ganji et al., 2007).

Análisis de Varianza del Diseño Factorial Para el Tomate Cherry

Grados Brix

Tabla 15

ANOVA para los sólidos solubles totales (°Bx) del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	1,275	2	0,561	781,316	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	1,123	1	0,113	157,857	<0,0001***
Interacción A*B	0,034	2	0,017	23,639	<0,0001***
Réplicas	0,005	3	0,002	2,341	0,1145
Error	0,011	15	0,001		
Total	1,286	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 15 se demuestra que existió diferencia significativa en los grados Brix para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Acidez Titulable

Tabla 16

ANOVA para la acidez titulable del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,004	2	0,002	722,346	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	$4,0 \times 10^{-4}$	1	$4,0 \times 10^{-4}$	143,486	<0,0001***
Interacción A*B	$1,3 \times 10^{-4}$	2	$6,4 \times 10^{-5}$	22,874	<0,0001***
Réplicas	$2,3 \times 10^{-5}$	3	$7,7 \times 10^{-6}$	2,769	0,1145
Error	$4,2 \times 10^{-5}$	15	$2,8 \times 10^{-6}$		
Total	0,005	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 16 se demuestra que existió diferencia significativa en la acidez titulable para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

pH

Tabla 17

ANOVA para el pH del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,314	2	0,157	89,565	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,017	1	0,017	9,728	0,0070**
Interacción A*B	0,023	2	0,011	6,415	0,0097**
Réplicas	0,012	3	0,004	2,210	0,1292
Error	0,026	15	0,002		
Total	0,392	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 17 se demuestra que existió diferencia significativa en el pH para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Humedad

Tabla 18

ANOVA para la humedad del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	29,935	2	14,968	4653,543	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,023	1	0,023	7,287	0,0165*
Interacción A*B	1,192	2	0,596	185,289	<0,0001***
Réplicas	0,013	3	0,004	1,345	0,2973
Error	0,048	15	0,003		
Total	31,212	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 18 se demuestra que existió diferencia significativa en la humedad para la formulación de quitosano (Factor A), la solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Dureza

Tabla 19

ANOVA para la dureza del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,026	2	0,013	420,594	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,006	1	0,006	209,025	<0,0001***
Interacción A*B	0,001	2	4,4×10 ⁻⁴	14,374	0,0003***
Réplicas	8,1×10 ⁻⁵	3	2,7×10 ⁻⁵	0,876	0,4754
Error	4,6×10 ⁻⁴	15	3,1×10 ⁻⁵		
Total	0,034	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 19 se demuestra que existió diferencia significativa en la dureza para la formulación de quitosano (Factor A), la solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Delta E

Tabla 20

ANOVA para la variación de color del tomate cherry.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	5,607	2	2,804	146,397	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	14,852	1	14,852	775,530	<0,0001***
Interacción A*B	0,172	2	0,086	4,488	0,0297*
Réplicas	0,060	3	0,020	1,049	0,3996
Error	0,287	15	0,019		
Total	20,979	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 20 se demuestra que existió diferencia significativa en la variación de color para la formulación de quitosano (Factor A), la solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Análisis Funcional del Diseño Factorial Para el Tomate Cherry

Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor A

Tabla 21

Resultados de la prueba de Tukey para el factor A en tomate cherry.

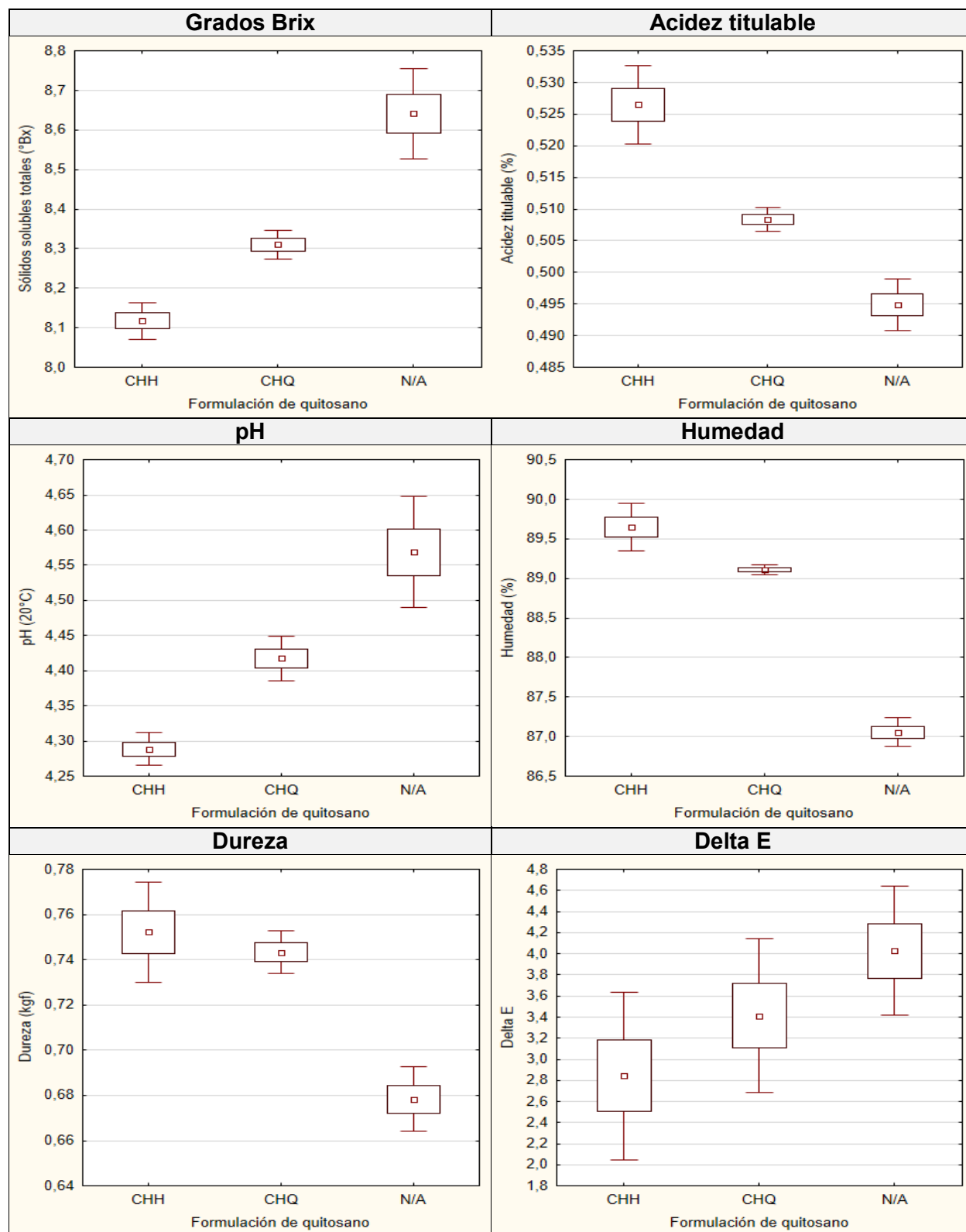
Variables	Factor A: Formulación de quitosano		
	CHH	CHQ	N/A
Grados Brix	8,12 ^A	8,31 ^B	8,64 ^C
Acidez titulable (%)	0,527 ^A	0,508 ^B	0,495 ^C
pH	4,29 ^A	4,42 ^B	4,57 ^C
Humedad (%)	89,65 ^A	89,11 ^B	87,06 ^C
Dureza (kgf)	0,752 ^A	0,743 ^B	0,678 ^C
Delta E	2,84 ^A	3,41 ^B	4,03 ^C

Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano.

Respecto a la Tabla 21, los tomates cherry recubiertos con la formulación de quitosano obtenido por método hindú (CHH), obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (8,12), pH (4,29) y diferencia de color (2,84), mientras que presentaron una mayor acidez titulable (0,527), contenido de humedad (89,65) y dureza (0,752).

Figura 12

Diagramas de cajas y bigotes para el factor A evaluado en tomate cherry.



La Figura 12 demuestra que los tomates cherry recubiertos con la formulación de quitosano obtenido por método hindú (CHH) con un DDA del $77,08 \pm 1,70\%$ y una concentración del 1% (p/v) tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C.

Kibar & Sabir (2018) obtuvieron resultados similares al aplicar recubrimientos comestibles de quitosano (DDA del 75 al 85%) en tomates frescos, evaluando diferentes concentraciones (0,5%, 1% y 2%) y condiciones de almacenamiento (20 días a 5 °C y 10 días a 21 °C). Se registró que los tomates recubiertos con quitosano al 1% (p/v) fueron más firmes, tenían mayor acidez titulable y exhibieron menos cambios bioquímicos que la fruta de control al final del almacenamiento tanto a 5 °C como a 21 °C (Kibar & Sabir, 2018). Además, la pérdida de calidad visual se redujo significativamente en todas las concentraciones y condiciones de almacenamiento en comparación con el control (Kibar & Sabir, 2018).

Sree et al. (2020) también aplicó, en tomates frescos, recubrimientos de quitosano extraído de residuos de camarón mediante la técnica de inmersión y evaluó el efecto de distintas concentraciones (0,5%, 1%, 2% y 2,5%) durante un periodo de almacenamiento de 30 días a temperatura ambiente. Se registró que los tomates recubiertos con quitosano eran más firmes y tenían una mayor acidez titulable (Sree et al., 2020). También se observó que el incremento en el pH y los SST fue menor en las muestras recubiertas que en la fruta de control al final del almacenamiento, siendo la concentración de quitosano del 2,5% (p/v), la más efectiva al extender de mejor forma la vida útil de los tomates (Sree et al., 2020).

Por otra parte, Shiekh et al., (2013) afirma que el quitosano reduce la pérdida de humedad y la tasa de respiración en los frutos al formar una barrera adicional contra la difusión de agua y el intercambio de gases a través de las estomas, disminuyendo así la pérdida de peso, retrasando el proceso de maduración y extendiendo la vida útil durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor B

Tabla 22

Resultados de la prueba de Tukey para el factor B en tomate cherry.

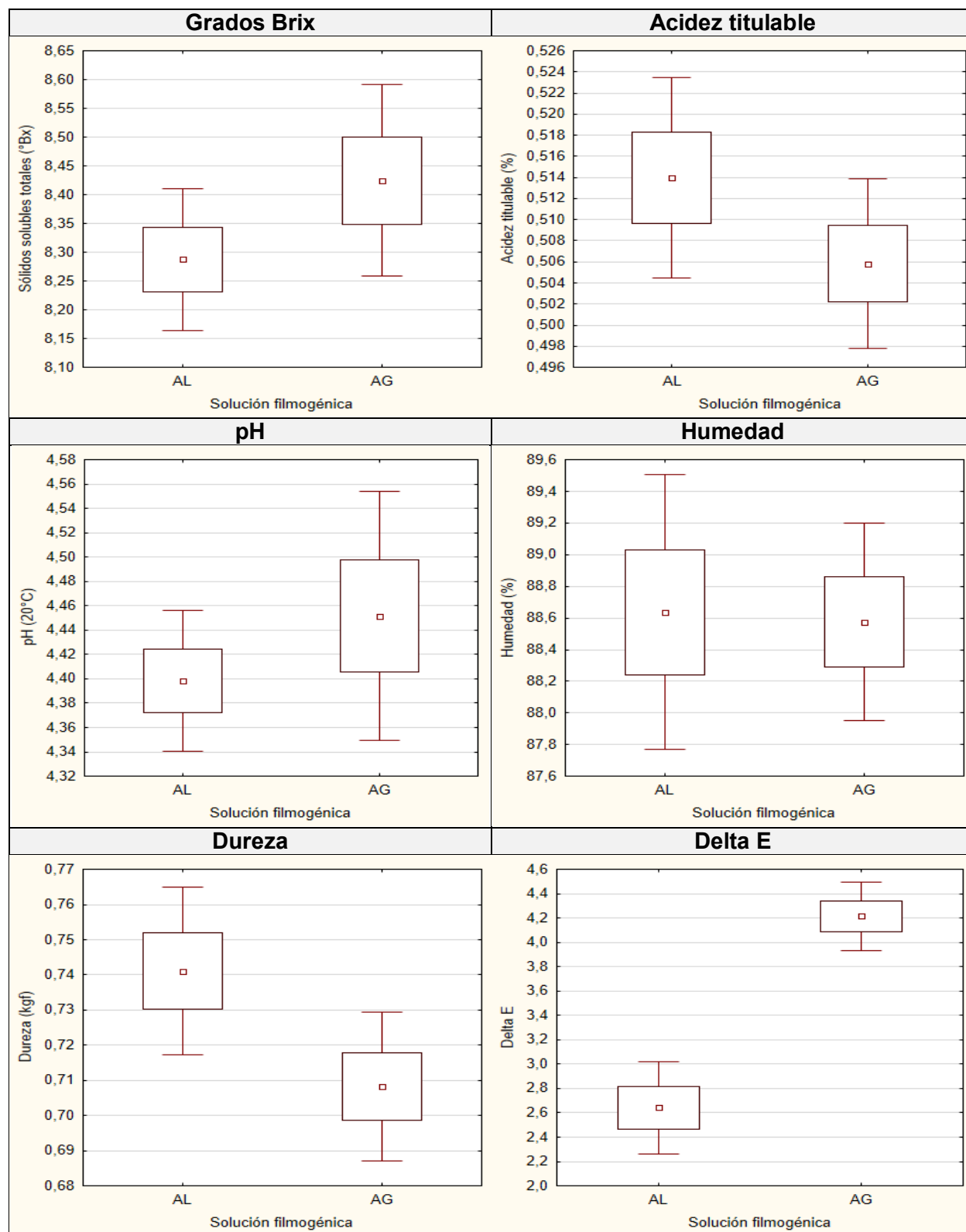
Variables	Factor B: Solución filmogénica	
	AL	AG
Grados Brix	8,29 ^A	8,43 ^B
Acidez titulable (%)	0,514 ^A	0,506 ^B
pH	4,40 ^A	4,45 ^B
Humedad (%)	88,64 ^A	88,57 ^B
Dureza (kgf)	0,741 ^A	0,708 ^B
Delta E	2,64 ^A	4,21 ^B

Nota. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar.

Respecto a la Tabla 22, los tomates cherry recubiertos con la solución filmogénica de almidón (AL), obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (8,29), pH (4,40) y diferencia de color (2,64), mientras que presentaron una mayor acidez titulable (0,514), contenido de humedad (88,64) y dureza (0,741).

Figura 13

Diagramas de cajas y bigotes para el factor B evaluado en tomate cherry.



La Figura 13 demuestra que los tomates cherry recubiertos con la solución filmogénica de almidón (AL) con una concentración del 5% (p/v) tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C.

Esto concuerda con el estudio de Hernández et al. (2011), en el que se aplicaron películas comestibles en tomate con diferentes concentraciones de almidón de yuca (2%, 3% y 4%) y se almacenaron durante 22 días a 18° C. En este caso, el recubrimiento con la mayor concentración de almidón de yuca (4%), fue el que redujo de mejor manera la pérdida de peso y firmeza, además de mantener una menor tasa de respiración y retener el incremento de los grados Brix (Hernández et al., 2011). Incluso, permitió prolongar la vida útil de los tomates hasta por 4 días adicionales, lo que respalda la efectividad de esta biopelícula (Hernández et al., 2011).

Por su parte, Adjouman et al. (2018) formuló recubrimientos para tomate a partir de una combinación de almidón de yuca al 4% (p/v) y aceite de cacahuete al 5% (v/v), con el propósito de comparar su efectividad con la del recubrimiento comercial Semperfresh™, el cual se encuentra formulado a base de éster de sacarosa. Los tomates fueron almacenados a 20 °C durante 4 semanas y mostraron un retraso significativo ($p < 0,05$) en los cambios de firmeza, peso, acidez titulable, pH, sólidos solubles totales, relación SST/acidez y diferencia del color en comparación con Semperfresh™ y el control sin recubrimiento (Adjouman et al., 2018). En general, los recubrimientos a base de almidón de yuca permitieron la conservación de tomates frescos hasta por un mes manteniendo los diferentes parámetros clave de calidad (Adjouman et al., 2018).

Prueba de Significancia de Tukey Para la Interacción AxB

Tabla 23

Resultados de la prueba de Tukey para las interacciones AxB en tomate cherry.

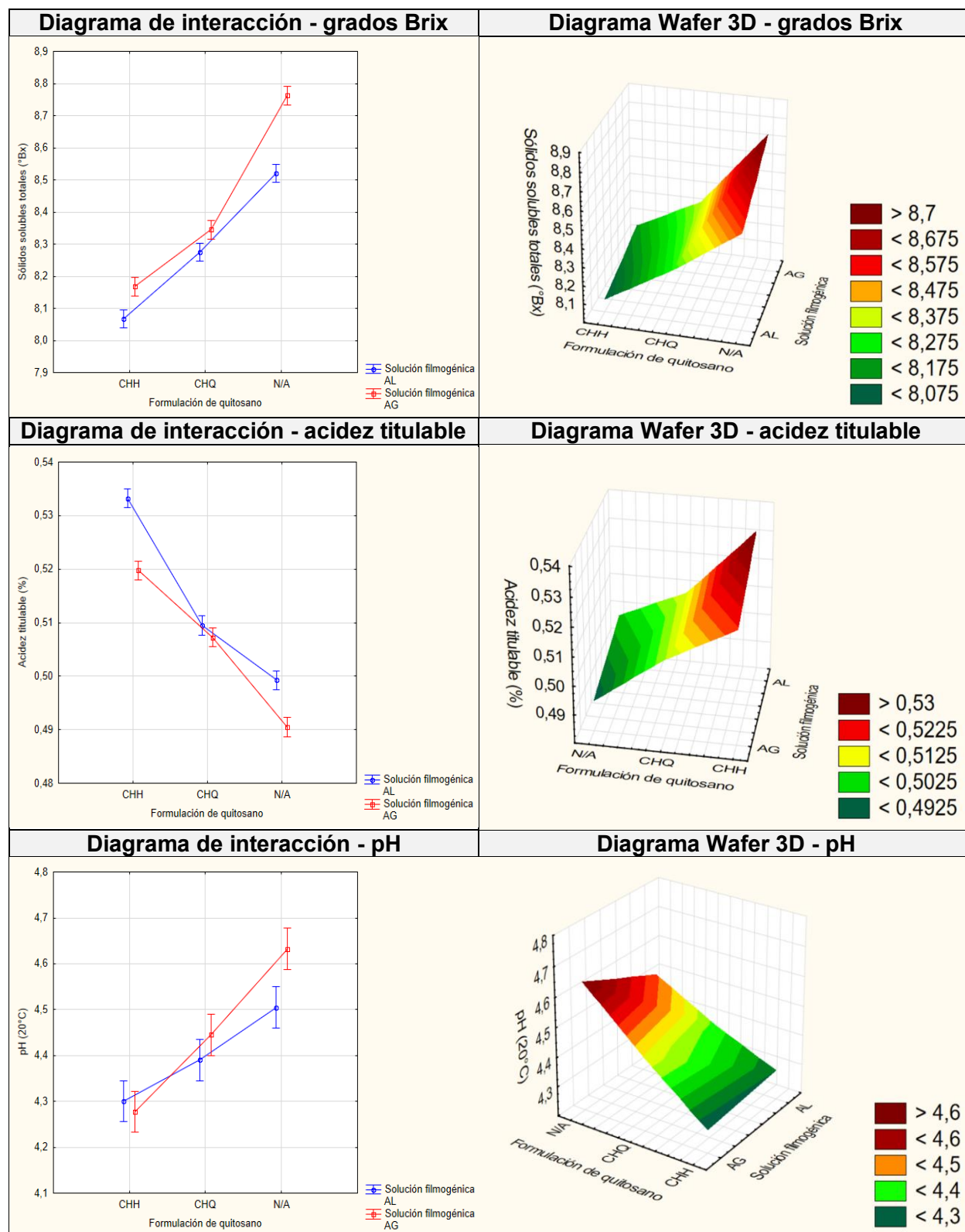
Variables	Interacción AxB					
	CHH		CHQ		N/A	
	AL	AG	AL	AG	AL	AG
Grados Brix	8,07 ^A	8,17 ^B	8,28 ^C	8,35 ^D	8,52 ^E	8,76 ^F
Acidez titulable (%)	0,533 ^A	0,520 ^B	0,510 ^C	0,507 ^C	0,499 ^D	0,491 ^E
pH	4,30 ^{AB}	4,28 ^A	4,39 ^{BC}	4,45 ^{CD}	4,51 ^D	4,63 ^E
Humedad (%)	89,99 ^A	89,32 ^B	89,06 ^C	89,16 ^C	86,87 ^E	87,25 ^D
Dureza (kgf)	0,777 ^A	0,728 ^C	0,754 ^B	0,733 ^C	0,693 ^D	0,664 ^E
Delta E	1,97 ^A	3,72 ^D	2,61 ^B	4,22 ^E	3,35 ^C	4,70 ^F

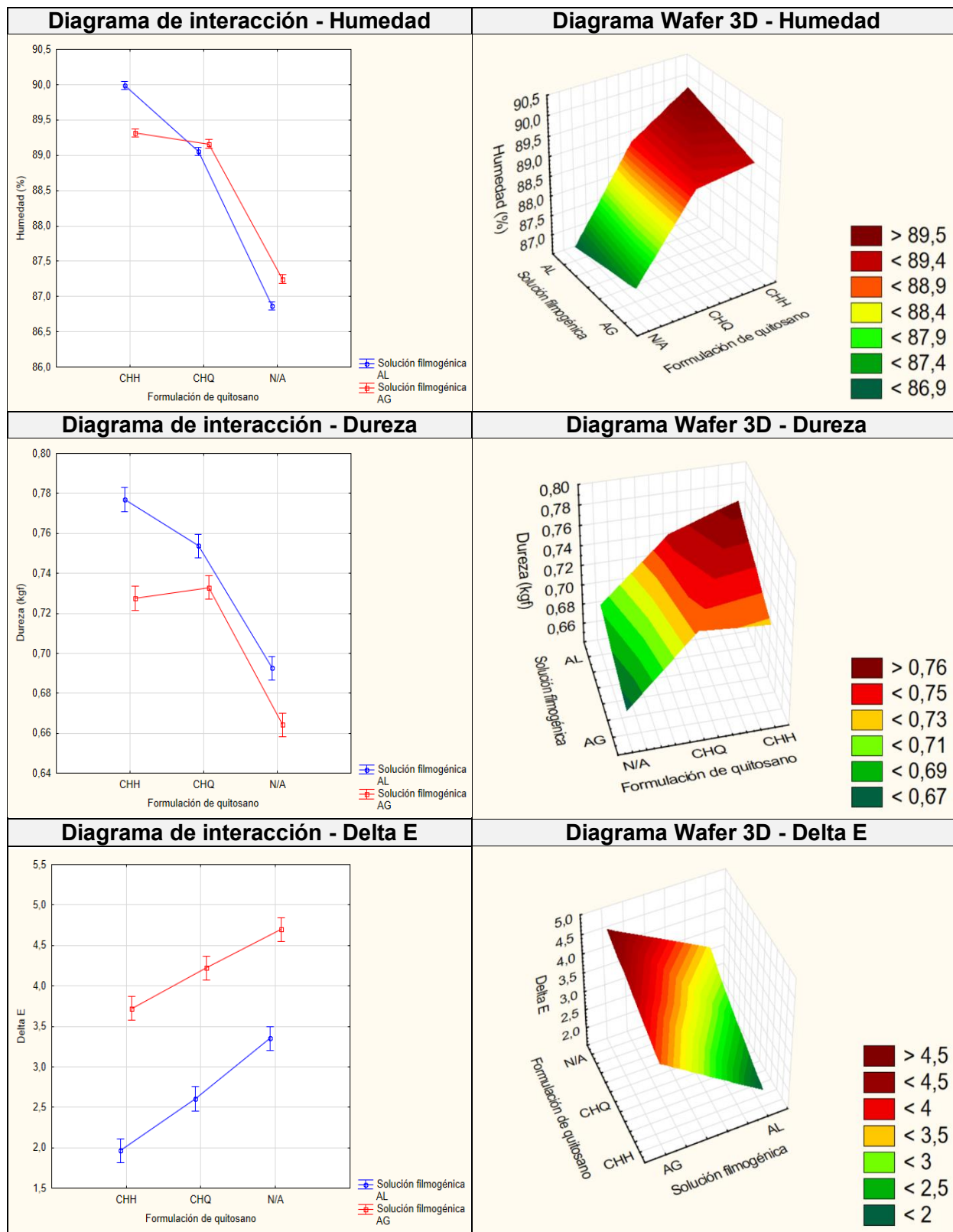
Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar.

Respecto a la Tabla 23, los tomates cherry recubiertos con el tratamiento CHH + AL, obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (8,07) y diferencia de color (1,97), mientras que presentaron una mayor acidez titulable (0,533) y dureza (0,777). Por otra parte, los tomates cherry recubiertos con el tratamiento CHH + AG fueron los que presentaron el menor valor de pH (4,28), siendo estadísticamente similar al valor obtenido por el tratamiento CHH + AL (4,30).

Figura 14

Gráficos descriptivos para las interacciones AxB evaluadas en tomate cherry.





La Figura 14 demuestra que los tomates cherry recubiertos con el tratamiento CHH + AL con una concentración del 1% (p/v) de quitosano y 5% (p/v) de almidón de yuca tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C.

Araújo et al. (2018) también analizó el efecto en tomates de un recubrimiento comestible formulado a partir de quitosano y almidón de yuca, en combinación con el aceite esencial de *Lippia sidoides* Cham. y el extracto de cáscara de granada (*Punica granatum*). Los tomates se almacenaron durante 12 días a temperatura ambiente y se descubrió que la mayoría de los recubrimientos retrasaron la maduración, disminuyeron los sólidos solubles totales y la pérdida de peso, manteniendo una firmeza constante en comparación con los tomates sin recubrimiento (Araújo et al., 2018).

Yusof et al. (2019) explica la efectividad del tratamiento CHH + AL, en su estudio caracterizó las propiedades estructurales y funcionales de este recubrimiento mediante la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y descubrió que al mezclar estos dos polímeros (quitosano y almidón de yuca), el recubrimiento resultante adquiere propiedades físicas mejoradas en comparación a los recubrimientos formados con los polímeros por separado. Yusof et al. (2019) descubrió que el desplazamiento de los picos y los cambios en los espectros se debían al enlace de hidrógeno entre el OH y el NH³⁺ del quitosano y el grupo OH del almidón, estos cambios también demostraron que la adición de glicerol promueve las interacciones de enlaces de hidrógeno y el efecto de plastificación debido a su naturaleza hidrófila.

Anaya et al. (2020) asocia la eficacia del recubrimiento CHH + AL para conservar la dureza en el tomate cherry, con la incidencia del quitosano en la disminución de la actividad enzimática de la poligalacturonasa y la pectinesterasa, las cuales son enzimas relacionadas con el ablandamiento o pérdida de firmeza en el tomate. Anaya et al. (2020) también afirma que

la reducción en la diferencia de color (delta E) debido a la aplicación del tratamiento CHH + AL, se encuentra estrechamente relacionada con la capacidad que tiene el quitosano para disminuir la generación de etileno, retrasando la maduración y conservando la frescura y color distintivo de diversas frutas y hortalizas.

Finalmente, la influencia de estos recubrimientos en las variables fisicoquímicas del tomate cherry, contrasta con el estudio realizado por Kumar et al. (2020), en el cual se evaluaron distintos materiales para el envasado pasivo en atmósfera modificada (PMAP) del tomate cherry, brindándole especial atención a un novedoso bionanocompuesto reforzado con hidróxido de magnesio. Los tomates cherry fueron almacenados durante 24 días a 10 °C y se reportó una disminución significativa ($p < 0,05$) en la concentración de O_2 , firmeza y acidez titulable; y un incremento significativo ($p < 0,05$) en la concentración de CO_2 , pérdida de peso, grados Brix y la diferencia total de color (delta E) (Kumar et al., 2020). Sin embargo, el tipo de material de embalaje utilizado no tuvo un efecto significativo sobre las propiedades fisiológicas, fisicoquímicas y bioquímicas del tomate cherry (Kumar et al., 2020); a diferencia de lo que sucedió con los recubrimientos evaluados en el presente estudio.

Análisis de Varianza del Diseño Factorial Para la Uvilla

Grados Brix

Tabla 24

ANOVA para los sólidos solubles totales (°Bx) de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	2,000	2	1.000	192,856	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,487	1	0,487	93,982	<0,0001***
Interacción A*B	0,040	2	0,020	3,847	0,0448*
Réplicas	0,008	3	0,003	0,489	0,6968
Error	0,078	15	0,005		
Total	2,613	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 24 se demuestra que existió diferencia significativa en los grados Brix para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Acidez Titulable

Tabla 25

ANOVA para la acidez titulable de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,028	2	0,014	556,805	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,001	1	0,001	43,731	<0,0001***
Interacción A*B	$2,2 \times 10^{-4}$	2	$1,1 \times 10^{-4}$	4,486	0,0297*
Réplicas	$1,9 \times 10^{-5}$	3	$6,3 \times 10^{-6}$	0,254	0,8575
Error	$3,7 \times 10^{-4}$	15	$2,5 \times 10^{-5}$		
Total	0,029	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 25 se demuestra que existió diferencia significativa en la acidez titulable para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

pH

Tabla 26

ANOVA para el pH de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,191	2	0,096	347,422	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,128	1	0,128	463,547	<0,0001***
Interacción A*B	0,036	2	0,018	64,677	<0,0001***
Réplicas	0,002	3	0,001	2,962	0,0659
Error	0,004	15	2,8×10 ⁻⁴		
Total	0,361	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 26 se demuestra que existió diferencia significativa en el pH para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Humedad

Tabla 27

ANOVA para la humedad de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	53,593	2	26,796	21266,875	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	17,579	1	17,579	13951,442	<0,0001***
Interacción A*B	2,926	2	1,463	1161,214	<0,0001***
Réplicas	0,007	3	0,002	1,892	0,1744
Error	0,019	15	0,001		
Total	74,124	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 27 se demuestra que existió diferencia significativa en la humedad para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Dureza

Tabla 28

ANOVA para la dureza de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	0,109	2	0,055	856,406	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	0,002	1	0,002	24,601	0,0002***
Interacción A*B	0,003	2	0,002	25,171	<0,0001***
Réplicas	0,001	3	1,8×10 ⁻⁴	2,828	0,0740
Error	0,001	15	6,4×10 ⁻⁵		
Total	0,115	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 28 se demuestra que existió diferencia significativa en la dureza para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Delta E

Tabla 29

ANOVA para la variación de color de la uvilla.

FV	SC	gl	CM	F	p
Factor A: Formulación de quitosano	5,202	2	2,601	301,602	<0,0001***
Factor B: Solución filmogénica	1,421	1	1,421	164,772	<0,0001***
Interacción A*B	1,129	2	0,565	65,455	<0,0001***
Réplicas	0,005	3	0,002	0,212	0,8866
Error	0,129	15	0,009		
Total	7,887	23			

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III. *** $p < 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$.

En la Tabla 29 se demuestra que existió diferencia significativa en la variación de color para la formulación de quitosano (Factor A), solución filmogénica (Factor B) y la interacción entre ambos factores (AxB). Las réplicas no registraron diferencia significativa.

Análisis Funcional del Diseño Factorial Para la Uvilla

Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor A

Tabla 30

Resultados de la prueba de Tukey para el factor A en uvilla.

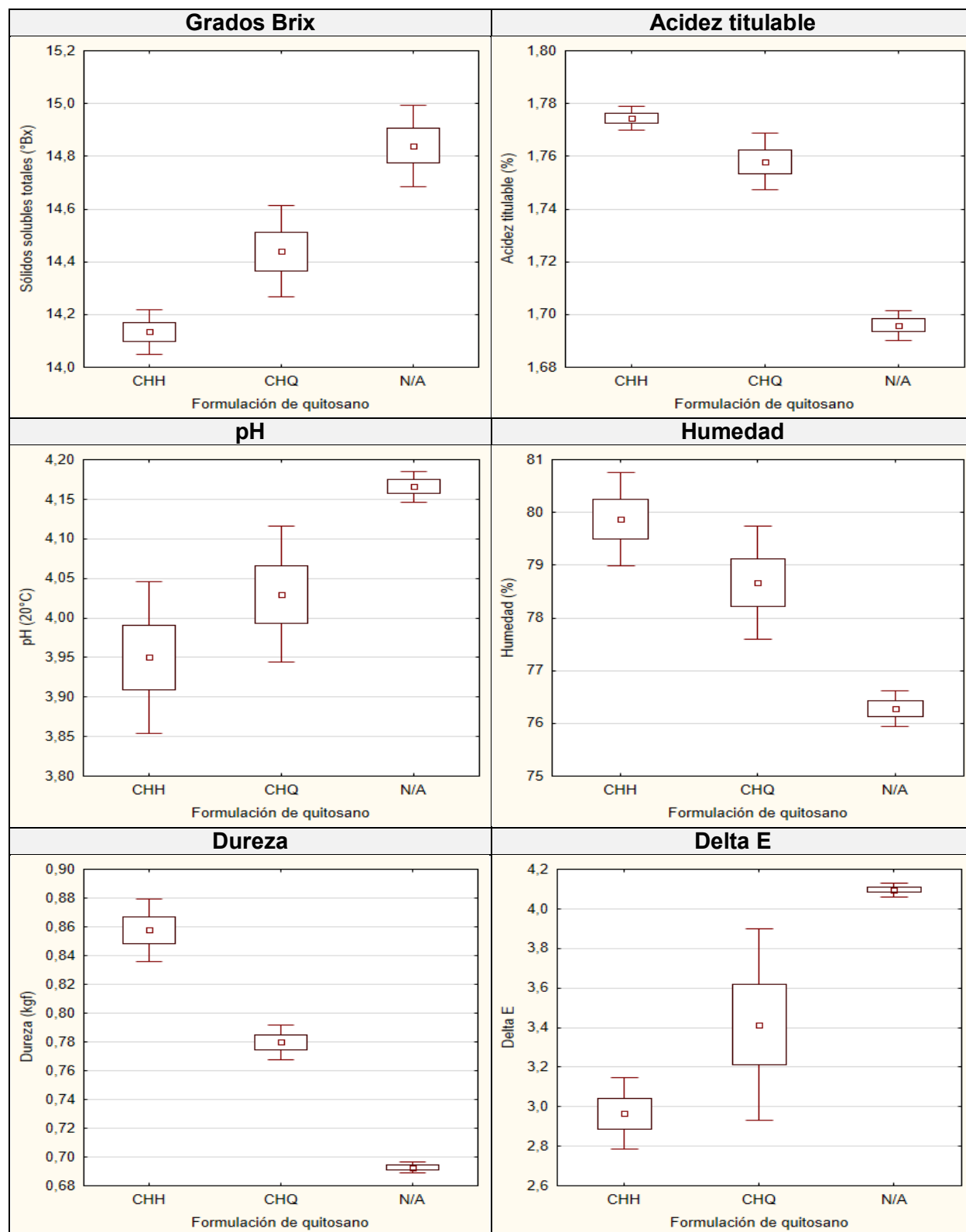
Variables	Factor A: Formulación de quitosano		
	CHH	CHQ	N/A
Grados Brix	14,14 ^A	14,44 ^B	14,84 ^C
Acidez titulable (%)	1,775 ^A	1,758 ^B	1,696 ^C
pH	3,95 ^A	4,03 ^B	4,17 ^C
Humedad (%)	79,88 ^A	78,67 ^B	76,28 ^C
Dureza (kgf)	0,858 ^A	0,780 ^B	0,693 ^C
Delta E	2,97 ^A	3,42 ^B	4,10 ^C

Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano.

Respecto a la Tabla 30, las uvillas recubiertas con la formulación de quitosano obtenido por método hindú (CHH), obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (14,14), pH (3,95) y diferencia de color (2,97), mientras que presentaron una mayor acidez titulable (1,775), contenido de humedad (79,88) y dureza (0,858).

Figura 15

Diagramas de cajas y bigotes para el factor A evaluado en uvilla.



La Figura 15 demuestra que las uvillas recubiertas con la formulación de quitosano obtenido por método hindú (CHH) con un DDA del $77,08 \pm 1,70\%$ y una concentración del 1% (p/v) tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C. Las uvillas postratamiento recubiertas con CHH cumplieron con los requisitos de la normativa INEN 2485 para este tipo de frutas frescas, ya que presentaron valores de acidez titulable y sólidos solubles totales por debajo de los límites establecidos para consumo: AT = $1,775 < 2,50$ máx y SST = $14,14 < 15,10$ máx (INEN, 2009).

Esto concuerda con el trabajo de González et al. (2020), en el que se aplicaron recubrimientos de quitosano (DDA del 85%) que incorporaron diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ruda graveolens* L. Las uvillas recubiertas se almacenaron durante 12 días a 18 °C y se registró que la aplicación de los tratamientos en las frutas mejoró la estabilidad fisicoquímica, evitando el consumo de ácidos orgánicos como lo reflejan los resultados en la acidez titulable, el pH, el índice de madurez y la estimación de la pérdida de peso (González et al., 2020).

Por otra parte, Muñoz et al. (2017) aplicó, mediante el método de aspersión, quitosano al 1% (p/v) en combinación con aloe vera estabilizado en una proporción 80:20, utilizando como agente plastificante al glicerol al 1% (v/v). Las uvillas recubiertas se almacenaron durante 21 días a 4 °C y 6 días a temperatura ambiente, se reportó que estos recubrimientos lograron mejorar la conservación de los carotenoides totales y reducir la pérdida de peso, sin embargo, no existió diferencia significativa para los valores de pH, grados Brix y acidez titulable en comparación con el grupo control sin recubrimiento (Muñoz et al., 2017).

Prueba de Significancia de Tukey Para el Factor B

Tabla 31

Resultados de la prueba de Tukey para el factor B en uvilla.

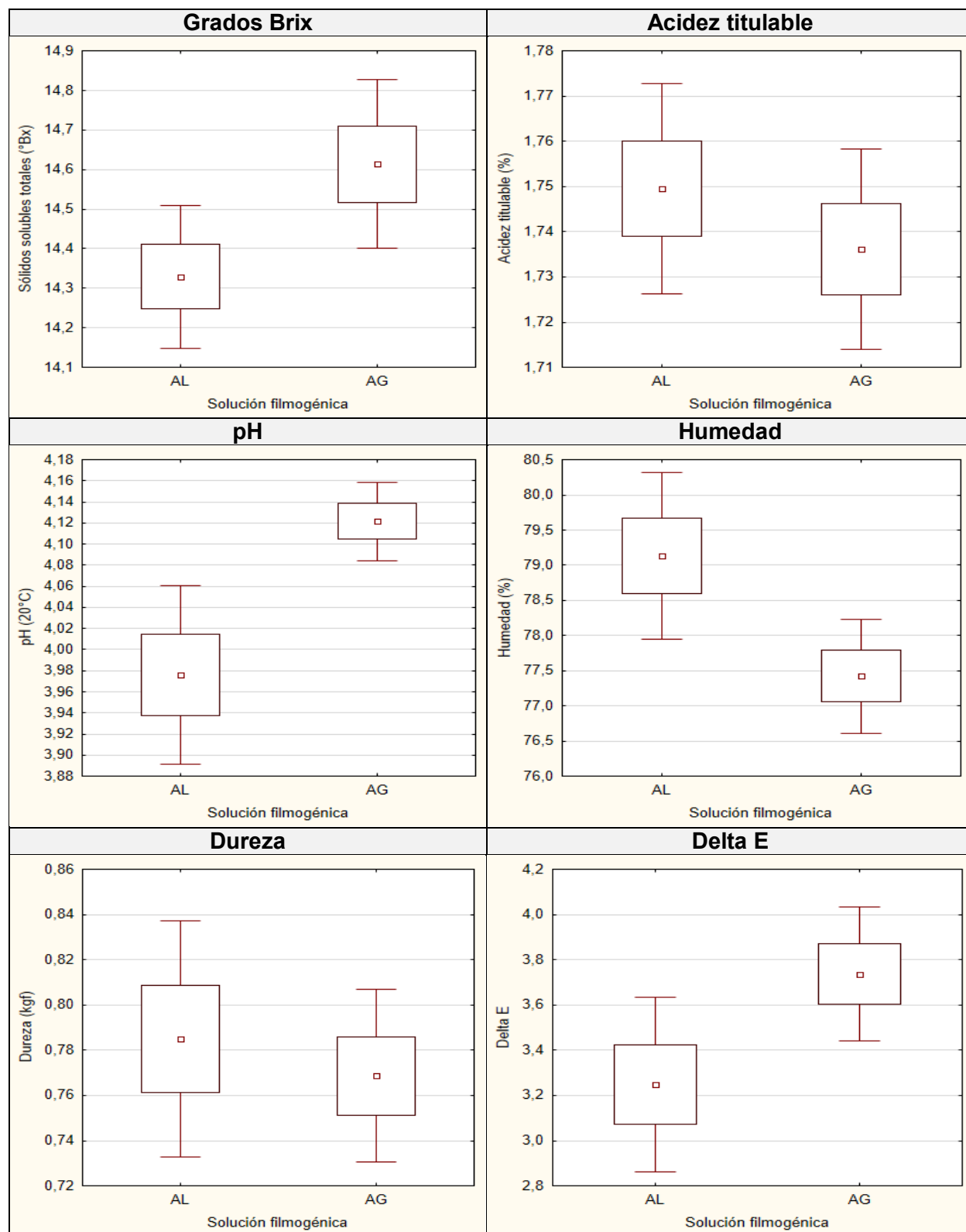
Variables	Factor B: Solución filmogénica	
	AL	AG
Grados Brix	14,33 ^A	14,61 ^B
Acidez titulable (%)	1,750 ^A	1,736 ^B
pH	3,98 ^A	4,12 ^B
Humedad (%)	79,13 ^A	77,42 ^B
Dureza (kgf)	0,785 ^A	0,769 ^B
Delta E	3,25 ^A	3,74 ^B

Nota. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar.

Respecto a la Tabla 31, las uvillas recubiertas con la solución filmogénica de almidón (AL), obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (14,33), pH (3,98) y diferencia de color (3,25), mientras que presentaron una mayor acidez titulable (1,750), contenido de humedad (79,13) y dureza (0,785).

Figura 16

Diagramas de cajas y bigotes para el factor B evaluado en uvilla.



La Figura 16 demuestra que las uvillas recubiertas con la solución filmogénica de almidón (AL) con una concentración del 5% (p/v) tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C. Las uvillas postratamiento recubiertas con almidón de yuca cumplieron con los requisitos de la normativa INEN 2485 para este tipo de frutas frescas, ya que presentaron valores de acidez titulable y sólidos solubles totales por debajo de los límites establecidos para consumo: AT = 1,750 < 2,50 máx y SST = 14,33 < 15,10 máx (INEN, 2009).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por diversos autores, los cuales han reportado la eficacia del almidón de yuca como recubrimiento comestible cuando se aplica en vegetales frescos como el tomate (Adjouman et al., 2018; Araújo et al., 2018; Hernández et al., 2011), la guayaba (De Aquino et al., 2015) y la mora negra (Ojeda et al., 2020). Además, se ha informado que estos tipos de recubrimientos comestibles aplicados en uvillas mediante el método de inmersión, logran reducir la pérdida de firmeza y de humedad, mientras se conservan los sólidos solubles totales hasta los 12 días de almacenamiento (Agudelo et al., 2023).

Prueba de Significancia de Tukey Para la Interacción AxB

Tabla 32

Resultados de la prueba de Tukey para las interacciones AxB en uvilla.

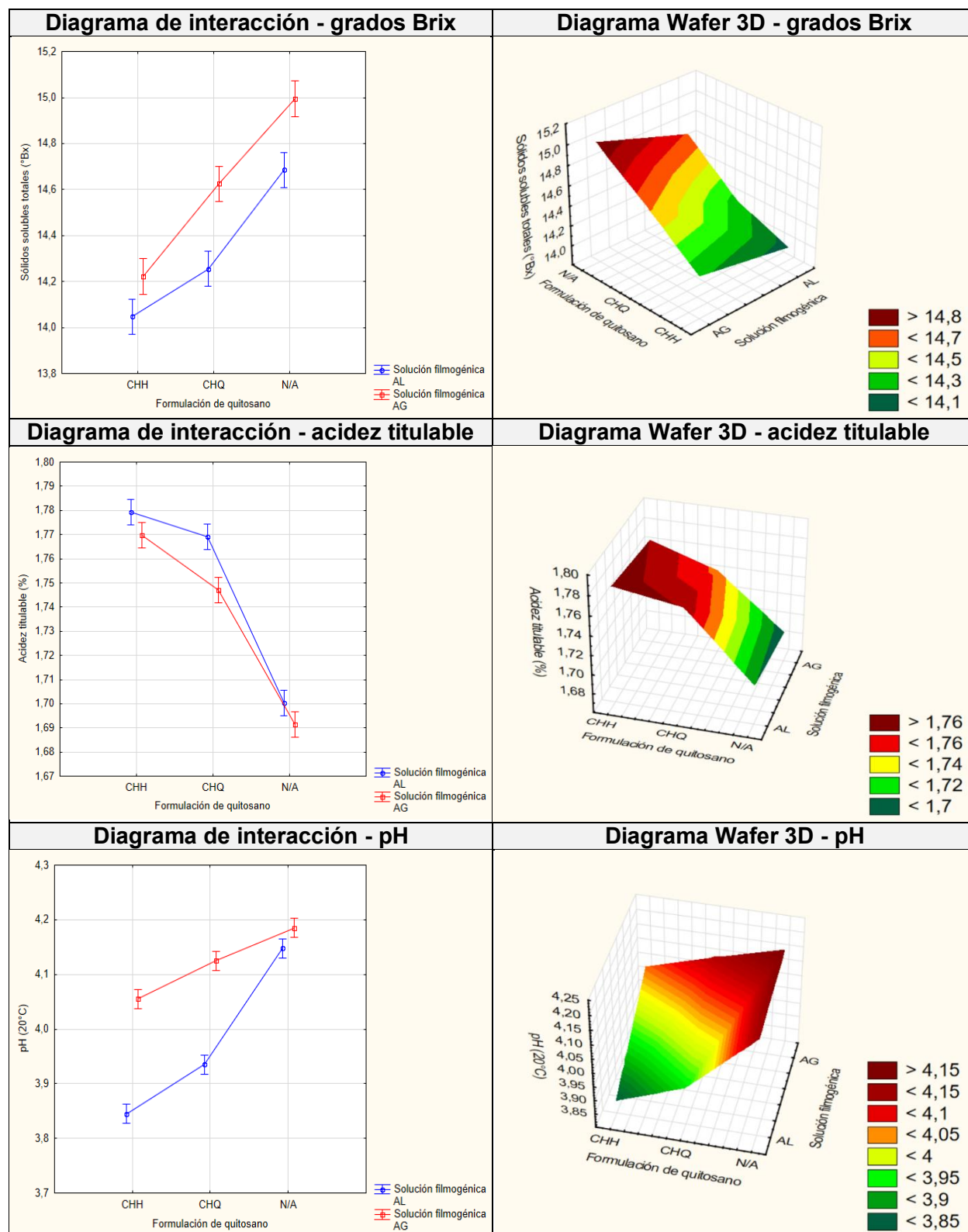
Variables	Interacción AxB					
	CHH		CHQ		N/A	
	AL	AG	AL	AG	AL	AG
Grados Brix	14,05 ^A	14,22 ^B	14,26 ^B	14,63 ^C	14,69 ^C	15,00 ^D
Acidez titulable (%)	1,779 ^A	1,770 ^A	1,769 ^A	1,747 ^B	1,700 ^D	1,692 ^D
pH	3,85 ^A	4,06 ^C	3,94 ^B	4,13 ^D	4,15 ^{DE}	4,19 ^E
Humedad (%)	80,87 ^A	78,89 ^C	79,87 ^B	77,47 ^D	76,66 ^E	75,91 ^F
Dureza (kgf)	0,882 ^A	0,834 ^B	0,783 ^C	0,777 ^C	0,690 ^D	0,696 ^D
Delta E	2,80 ^A	3,13 ^B	2,88 ^A	3,96 ^C	4,07 ^C	4,13 ^C

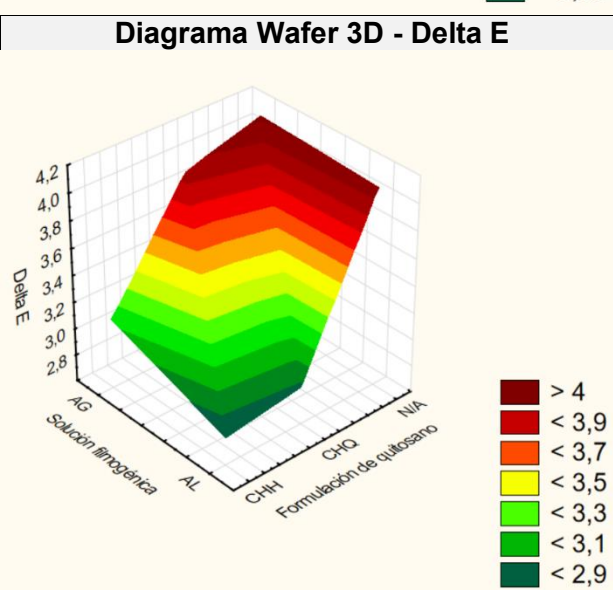
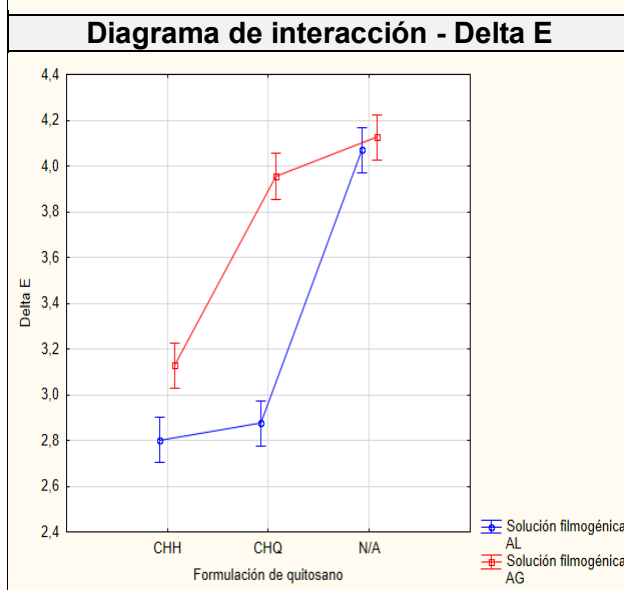
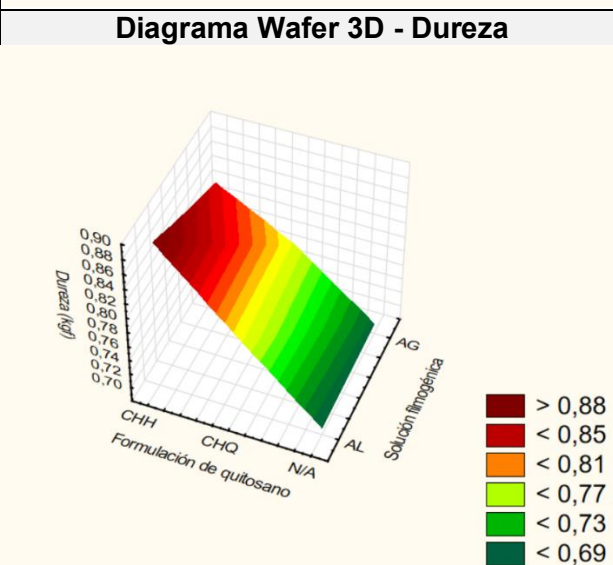
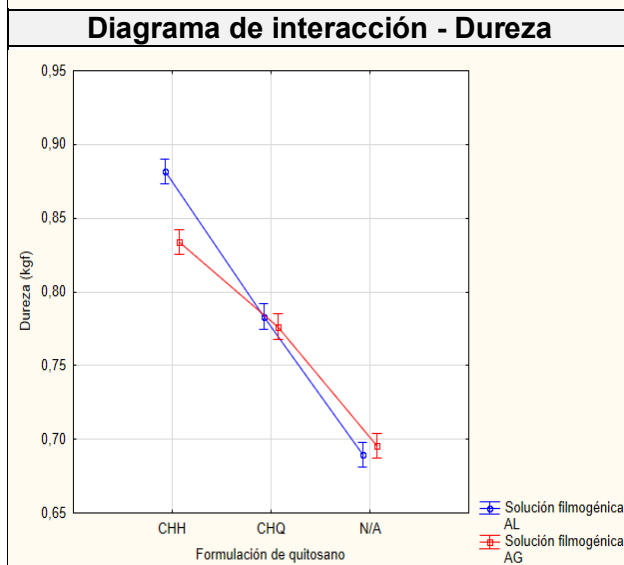
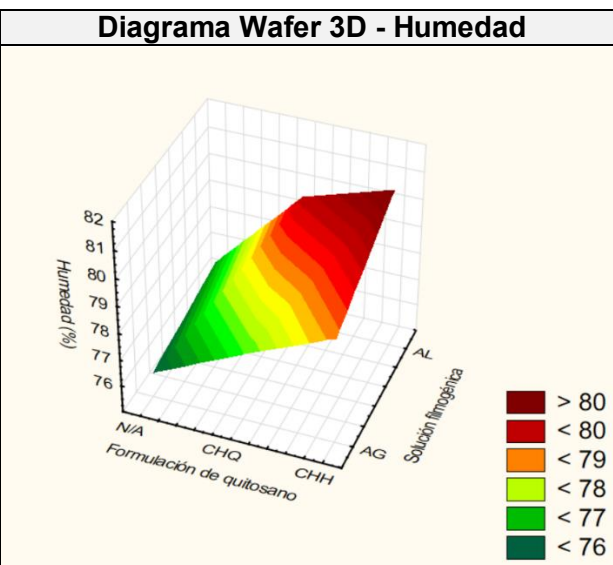
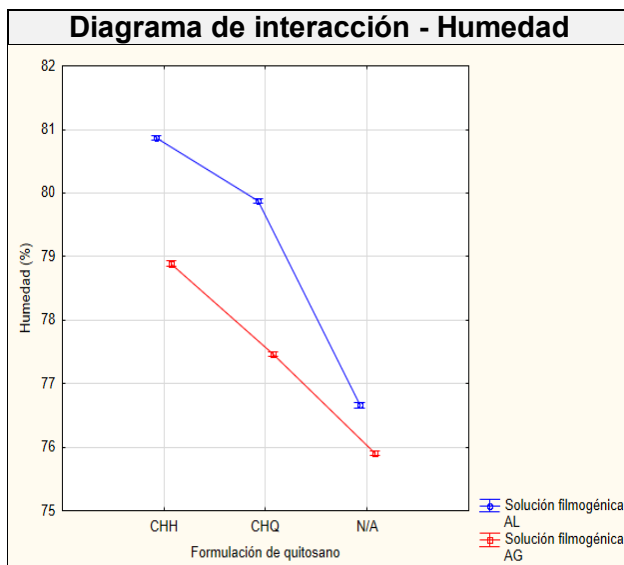
Nota. CHH: Quitosano obtenido por método hindú. CHQ: Quitosano obtenido por método químico. N/A: Sin aplicar quitosano. AL: Almidón de yuca. AG: Agar-agar.

Respecto a la Tabla 32, las uvillas recubiertas con el tratamiento CHH + AL, obtuvieron en promedio un menor valor de grados Brix (14,05) y pH (3,85), mientras que presentaron un mayor contenido de humedad (80,87) y dureza (0,882). El valor de acidez titulable fue estadísticamente similar para los tratamientos CHH + AL, CHH + AG y CHQ + AL; mientras que la diferencia de color fue estadísticamente similar en los tratamientos CHH + AL y CHQ + AL.

Figura 17

Gráficos descriptivos para las interacciones AxB evaluadas en uvilla.





La Figura 17 demuestra que las uvillas recubiertas con el tratamiento CHH + AL con una concentración del 1% (p/v) de quitosano y 5% (p/v) de almidón de yuca tuvieron un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que retuvieron de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza después del periodo de almacenamiento de 14 días a 8 °C. Las uvillas postratamiento recubiertas con CHH + AL cumplieron con los requisitos de la normativa INEN 2485 para este tipo de frutas frescas, ya que presentaron valores de acidez titulable y sólidos solubles totales por debajo de los límites establecidos para consumo: AT = 1,779 < 2,50 máx y SST = 14,05 < 15,10 máx (INEN, 2009).

Los resultados obtenidos se relacionan con el trabajo de González et al. (2020), en el que se aplicaron recubrimientos de quitosano (DDA del 85%) que incorporaron diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ruda graveolens* L. Las uvillas recubiertas se almacenaron durante 12 días a 18 °C y se reportó que la aplicación de los tratamientos retrasó la disminución progresiva de la acidez titulable y el peso, además de reducir el incremento del pH, sólidos solubles totales y la diferencia de color (delta E) en comparación con el grupo control (González et al., 2020).

Por otra parte, Ojeda et al. (2020) aplicó un recubrimiento de quitosano (DDA > 75%) con almidón de yuca en proporción 1:1 en moras negras (*Morus nigra*). Las frutas frescas se almacenaron durante 16 días a 5 °C y se registró una reducción significativa en la contaminación microbiológica y pérdida de peso por deshidratación (Ojeda et al., 2020). Sin embargo, no se reportó incidencia significativa del recubrimiento en las variables de firmeza y variación de color (Ojeda et al., 2020). En este caso se concluyó que la adición de glicerol no era necesaria ya que se lograron resultados satisfactorios únicamente con la combinación de quitosano y almidón (Ojeda et al., 2020).

Análisis de Componentes Principales

Tabla 33

Matriz de correlaciones para el análisis de componentes principales.

		Grados Brix	Acidez titulable	pH	Humedad	Dureza	Delta E
Correlación	Grados Brix	1,000	-,952 *	,948 *	-,891 *	-,913 *	,716 *
	Acidez titulable	-,952 *	1,000	-,895 *	,869 *	,874 *	-,732 *
	pH	,948 *	-,895 *	1,000	-,803 *	-,804 *	,623 *
	Humedad	-,891 *	,869 *	-,803 *	1,000	,896 *	-,524 *
	Dureza	-,913 *	,874 *	-,804 *	,896 *	1,000	-,801 *
	Delta E	,716 *	-,732 *	,623 *	-,524 *	-,801 *	1,000

Nota. * $p < 0.05$.

En la Tabla 33 se observa que existieron correlaciones estadísticamente significativas entre todas las variables analizadas. Los resultados más representativos indican una fuerte correlación negativa de la acidez titulable con los grados Brix (-0,952), el pH (-0,895) y delta E (-0,732). Además, existió una considerable correlación negativa entre la dureza y los grados Brix (-0,913), mientras que con la acidez titulable la correlación fue positiva (0,874).

Adjouman et al. (2018) también encontró esta relación inversamente proporcional de la acidez titulable con los grados Brix (-0,99) y el pH (-0,97), al evaluar el efecto de distintos recubrimientos de almidón de yuca modificado en tomate. De Moura et al. (2020) obtuvo la misma relación inversa de la acidez con la variación de color (delta E) al estudiar diversas variables fisicoquímicas de la chirimoya (*Annona squamosa*) mediante el análisis de componentes principales. De igual manera, Simkova et al. (2024) obtuvo una correlación

negativa de la firmeza con los sólidos solubles totales (-0,66) y una correlación positiva con la acidez titulable (0,55) durante el estudio del proceso de maduración de la frutilla.

Tabla 34

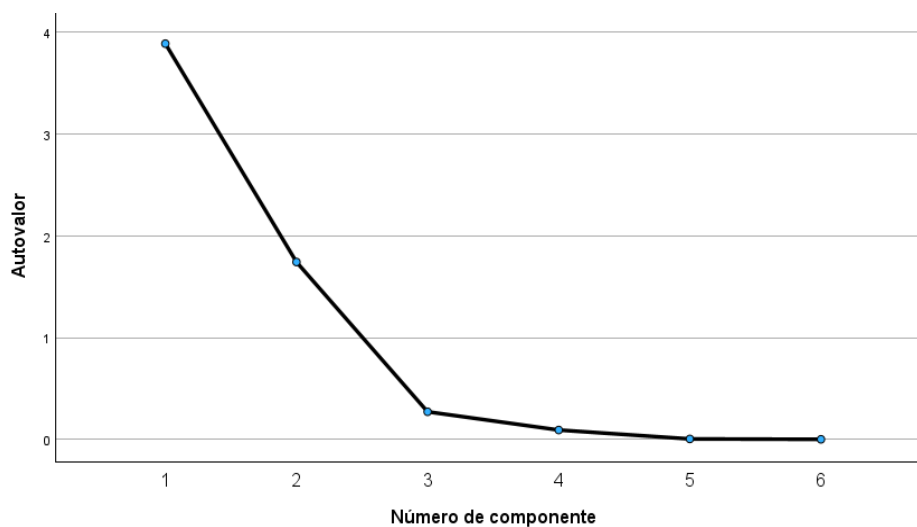
Varianza total explicada.

Componente	Autovalores iniciales		
	Total	% de varianza	% acumulado
1	3,889	64,809	64,809
2	1,743	29,049	93,858
3	,271	4,521	98,379
4	,092	1,534	99,914
5	,005	,076	99,989
6	,001	,011	100,000

Nota. Método de extracción: análisis de componentes principales.

Figura 18

Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales.



Los valores de la Tabla 34 y la Figura 18 proporcionan información sobre la contribución de cada componente extraído a la variación de los datos. En este caso, el componente 1 explica el 64,81% de la varianza total mientras que los componentes 2 y 3, explican el 29,05% y 4,52%, respectivamente.

Tabla 35

Matriz de componente rotado.

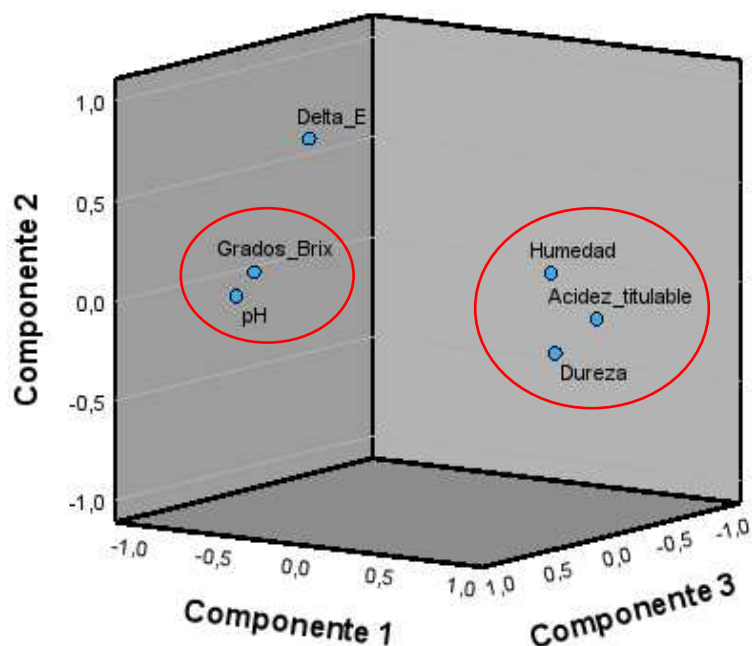
Variables	Componentes		
	1	2	3
Sólidos solubles totales (°Bx)	-,988	,009	,088
Acidez titulable (%)	,965	-,053	-,079
pH (20°C)	-,936	-,073	,316
Humedad (%)	,932	,224	,272
Dureza (kgf)	,942	-,181	,246
Delta E	-,721	,691	-,006

Nota. Método de rotación: Quartimax. La rotación ha convergido en 5 iteraciones.

En la Tabla 35 podemos visualizar que los grados Brix, acidez titulable, pH, humedad y dureza tuvieron cargas muy altas en el componente 1, demostrando una fuerte asociación con este componente. En el caso del componente 2, la humedad, dureza y delta E fueron las variables con las mayores cargas, mientras que el componente 3 tuvo una mayor asociación con el pH, la humedad y dureza.

Figura 19

Gráfico de componente de espacio rotado.



La Figura 19 muestra una estrecha relación entre el pH y los grados Brix, cuyos valores presentaron la tendencia de incrementar con el tiempo. Asimismo, existió una relación cercana en cuanto a la acidez titulable, humedad y dureza, cuyos valores disminuyeron de forma simultánea. Por esta razón, estos dos grupos de variables se encuentran en extremos opuestos del gráfico de componentes.

Una relación similar fue reportada en el estudio de González et al. (2020), en el cual se analizaron distintos recubrimientos de quitosano en uvilla y se registró un incremento simultáneo del pH, los sólidos solubles totales y el índice de madurez; mientras que la acidez titulable fue disminuyendo en el transcurso de 12 días bajo refrigeración.

Por otra parte, Adjouman et al. (2018) evaluó el efecto de recubrimientos modificados de almidón de yuca en tomates frescos y registró un incremento en las variables de pérdida peso, grados Brix, pH y delta E; mientras que los valores de la acidez titulable y firmeza fueron reduciéndose en el transcurso de 4 semanas.

La acidez titulable en frutas se encuentra relacionada con la presencia de ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico y tartárico (Mendoza & Rodríguez, 2012). A medida que la fruta incrementa su índice de madurez, es común que exista una disminución en la concentración de estos ácidos debido a fenómenos degradativos y procesos de dilución (Mendoza & Rodríguez, 2012). Por otra parte, existe una acumulación de azúcares sobre estos ácidos orgánicos, incrementando sus concentraciones relativas dentro de las células vegetales (Zhang et al., 2023).

En el caso del pH, se ha registrado que, durante la maduración, las frutas tienden a liberar bases libres que neutralizan a los ácidos orgánicos, lo que incrementa el valor de esta variable (Tsouvaltzis et al., 2023). La maduración del fruto implica modificaciones en los componentes de la pared celular, particularmente la pectina, esto debido a la actividad enzimática de hidrolasas que actúan sobre este polisacárido, afectando la firmeza y textura de estos vegetales frescos (Tsouvaltzis et al., 2023). De igual manera, la pérdida de agua es un proceso fisiológico asociado con la progresión de la maduración (Zhao et al., 2023).

Análisis Microbiológico de los Vegetales Frescos

Tabla 36

Resultados del análisis microbiológico para el mejor tratamiento (CHH + AL).

Prueba microbiológica	UFC/mL	
	Tomate cherry	Uvilla
Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias (EB)	Ausencia	Ausencia
Petrifilm™ para Recuento Rápido de Aerobios (RAC)	< 30	Ausencia
Petrifilm™ para Recuento de <i>E. coli</i> (EC)	Ausencia	Ausencia
Petrifilm™ para Recuento de Coliformes (CC)	Ausencia	Ausencia

Nota. UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

La Tabla 36 establece que las uvillas recubiertas con el mejor tratamiento (CHH + AL) definido después del análisis fisicoquímico, no registraron crecimiento de enterobacterias, aerobios y coliformes. En el tomate cherry solo existió ausencia de enterobacterias y coliformes, mientras que sí se visualizó un mínimo crecimiento de aerobios (< 30 UFC/mL). Esto es congruente con los resultados de Araújo et al. (2018), el cual aplicó una mezcla de quitosano con almidón de yuca en tomate, reduciendo de forma considerable el crecimiento de coliformes (< 3 UFC/g). Tokatlı y Demirdöven (2020) también han reportado la reducción del recuento total de bacterias aeróbicas en cerezas recubiertas con quitosano, hasta un nivel por debajo de la cantidad detectable (< 2 logUFC/g). La actividad antibacteriana y el mecanismo de acción del quitosano se han explicado basándose en la alteración de la membrana, la lisis celular y la generación de una presión osmótica anormal (Shiekh et al., 2013).

Evaluación Sensorial de los Vegetales Frescos

Tabla 37

Resultados de la evaluación sensorial del tomate cherry con distintos recubrimientos.

Parámetros	AG	CHQ + AG	CHH + AG	AL	CHQ + AL	CHH + AL
Color	2.75	3.50	3.50	3.50	4.25	4.50
Aroma	2.25	2.75	3.25	3.00	3.50	4.00
Sabor	2.25	2.75	2.75	3.75	2.50	3.75
Textura	1.75	2.50	2.25	3.50	3.75	4.25
Aceptabilidad	2.00	3.25	3.50	4.00	4.25	4.75

Nota. Valores promedio en base a una escala hedónica de 5 puntos con 4 evaluaciones.

Figura 20

Gráfico de radar del análisis sensorial para el tomate cherry.

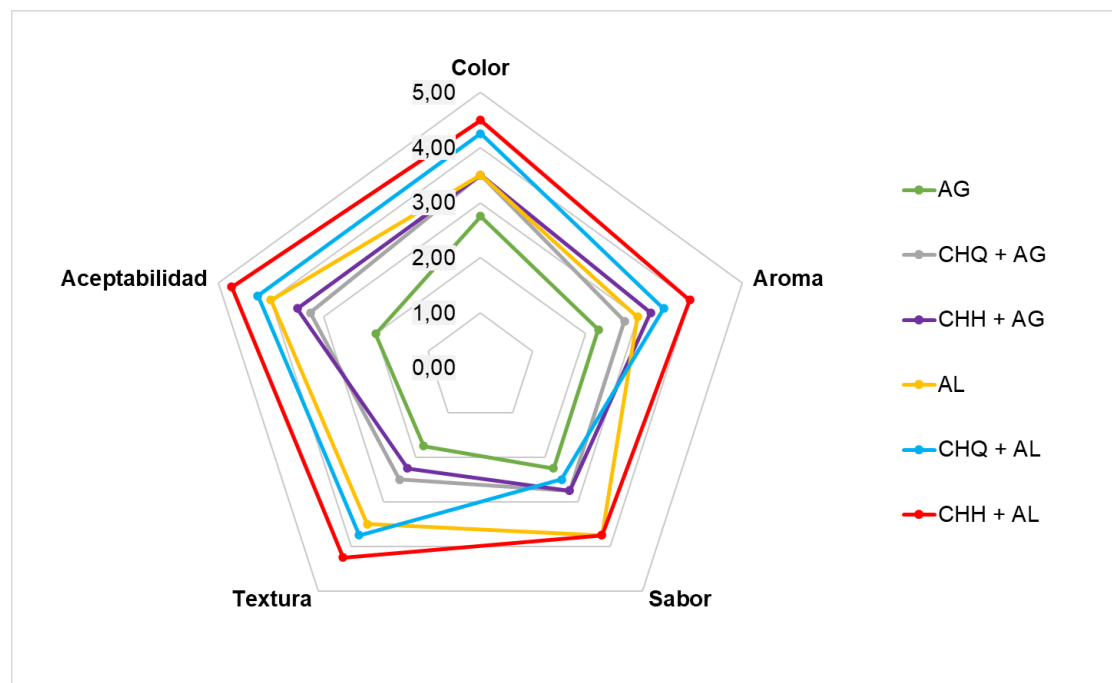


Tabla 38

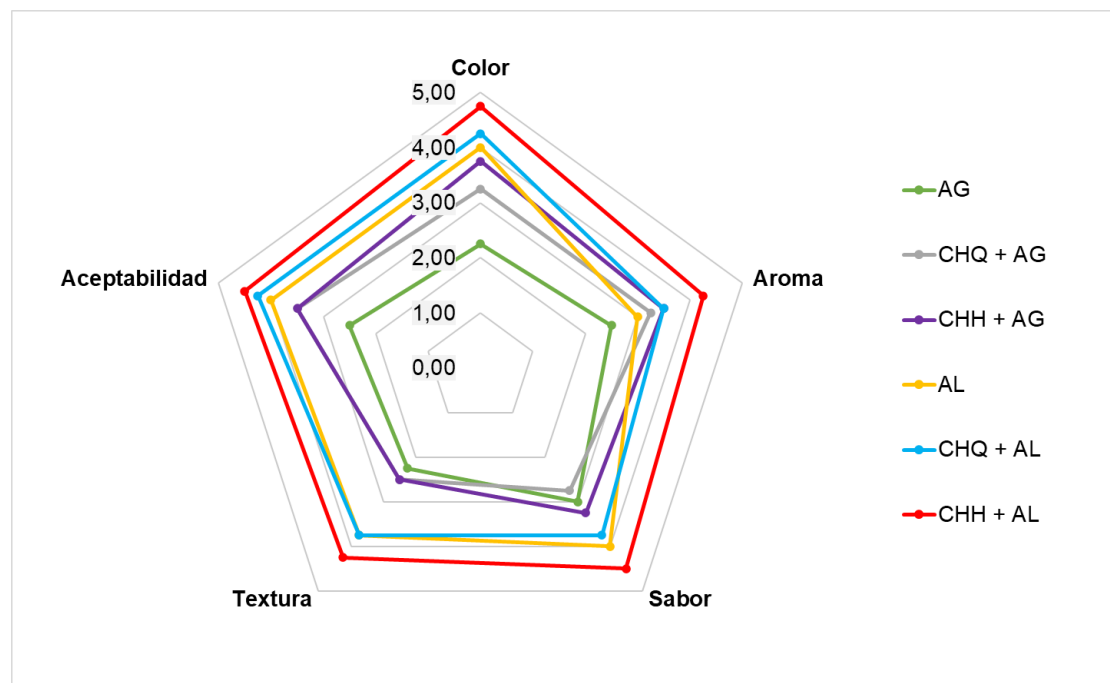
Resultados de la evaluación sensorial de la uvilla con distintos recubrimientos.

Parámetros	AG	CHQ + AG	CHH + AG	AL	CHQ + AL	CHH + AL
Color	2.25	3.25	3.75	4.00	4.25	4.75
Aroma	2.50	3.25	3.50	3.00	3.50	4.25
Sabor	3.00	2.75	3.25	4.00	3.75	4.50
Textura	2.25	2.50	2.50	3.75	3.75	4.25
Aceptabilidad	2.50	3.50	3.50	4.00	4.25	4.50

Nota. Valores promedio en base a una escala hedónica de 5 puntos con 4 evaluaciones.

Figura 21

Gráfico de radar del análisis sensorial para la uvilla.



La Tabla 37 y la Figura 20 permiten definir que la mejor calificación en cuanto a color, aroma, textura y aceptabilidad del tomate cherry, la obtuvo el recubrimiento de quitosano extraído por método hindú en combinación con almidón de yuca (CHH + AL), sin embargo, tuvo un puntaje de sabor similar al del recubrimiento compuesto únicamente por almidón de yuca. En cuanto a la uvilla, la Tabla 38 y la Figura 21 indican que el recubrimiento CHH + AL fue el que mejor aceptación tuvo al recibir el mayor puntaje en los 5 parámetros evaluados.

La mayor aceptabilidad sensorial del tratamiento CHH + AL también fue registrada en el estudio de Maharsih et al. (2021), en donde se recubrieron porciones de piña con una solución compuesta de almidón de yuca al 5% (p/v), glicerol al 1% y quitosano al 1% (p/v) con un DDA de 87.5%, en este caso, después de 14 días de almacenamiento a una temperatura de 12°C, aún conservaron una apariencia fresca, una excelente textura y su aroma característico. Un resultado similar se visualizó en el trabajo de Hossain et al. (2019), en el cual se realizó el recubrimiento de bananas con una solución de quitosano al 1% con un DDA de 79.54%, lo cual permitió la reducción del pardeamiento y la extensión de la vida útil hasta los 16 días. En el caso de Florencia et al. (2022), se aplicó un recubrimiento de quitosano con alto contenido de cenizas (89.54%) a uvas frescas, extendiendo su vida útil y preservando sus características organolépticas de igual manera como sucede con la cera de parafina comercial.

Finalmente, el recubrimiento con menor aceptación fue el compuesto únicamente por agar-agar (AG) tanto para la uvilla como para el tomate cherry. La menor efectividad de esta solución filmogénica en comparación con los demás tratamientos se asocia a la fragilidad, baja elasticidad, menor estabilidad térmica y a un pobre desempeño como barrera de gases cuando se utiliza este polisacárido como recubrimiento comestible (Liyanapathiranage et al., 2023). Curiosamente, las biopelículas comestibles preparadas a partir de mezclas de agar-agar con almidón o quitosano muestran propiedades de barrera y adhesión mejoradas debido a la formación de enlaces de hidrógeno y agregaciones hidrófobas entre estos biopolímeros (Liyanapathiranage et al., 2023).

Capítulo V

Conclusiones

Respecto a la Extracción de Quitosano

El quitosano obtenido mediante el método hindú (CHH) presentó una mejor apariencia, rendimiento y grado de desacetilación que el quitosano obtenido mediante el método químico (CHQ). Por esta razón, se concluye que el método de extracción influyó en el rendimiento y en las propiedades fisicoquímicas del quitosano obtenido a partir de las escamas de paiche.

Respecto al Balance de Materiales

Se consiguió un rendimiento del 60,42% en la etapa de pretratamiento, es decir, por cada 300 g de escamas crudas se obtuvieron 181,26 g de materia prima acondicionada. En cuanto al proceso de extracción, el método hindú obtuvo un rendimiento del 13,32% y el método químico 9,23%. De esta forma, se concluye que, por cada 300 g de escamas crudas, se pueden obtener 39,96 g de quitosano en polvo cuando la extracción es realizada por el método hindú y 27,69 g cuando la extracción se realiza mediante el método químico.

Respecto a la Evaluación de las Soluciones Filmogénicas

Las soluciones filmogénicas con un menor tiempo de gelificación fueron las compuestas por quitosano obtenido por método hindú (CHH) en combinación con agar-agar (10 minutos) y almidón de yuca (12 minutos). En este caso, se concluye que el tiempo de gelificación de estos dos polisacáridos disminuye cuando se combinan con un tipo de quitosano que presente un alto grado de desacetilación (DDA > 70%), lo cual permite mejorar la eficiencia de estos recubrimientos cuando se aplican en vegetales frescos.

Respecto al Efecto de las Biopelículas

Factor A (Formulaciones de Quitosano). El quitosano obtenido por método hindú (CHH) fue el que tuvo un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que logró retener de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza luego del periodo de almacenamiento. Esto sucedió tanto para el tomate cherry como para la uvilla. De esta forma,

se establece que la formulación de quitosano influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Factor B (Soluciones Filmogénicas). El almidón de yuca (AL) tuvo un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que logró retener de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza luego del periodo de almacenamiento. Esto sucedió tanto para el tomate cherry como para la uvilla. De esta forma, se establece que el tipo de solución filmogénica influye en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Interacción A x B. En general, la biopelícula compuesta de quitosano obtenido por método hindú y almidón de yuca (CHH + AL) fue la que tuvo un menor incremento de los grados Brix, pH y delta E. Mientras que logró retener de mejor manera la acidez titulable, la humedad y la dureza luego del periodo de almacenamiento. Esto sucedió tanto para el tomate cherry como para la uvilla. De esta forma, se establece que las interacciones entre la formulación de quitosano y el tipo de solución filmogénica influyen en la efectividad de las biopelículas para la conservación de vegetales frescos (I Gama).

Respecto al Análisis de Componentes Principales

Se logró realizar la reducción de dimensionalidad del conjunto de variables fisicoquímicas y se establecieron dos agrupaciones de variables correlacionadas positivamente, el primer grupo se encontraba conformado por la acidez titulable, dureza y humedad, mientras que el segundo grupo incluyó a los grados Brix y el pH. Además, se encontró que estos dos grupos mantenían una correlación negativa al encontrarse en extremos opuestos del gráfico de componentes.

Respecto al Análisis Microbiológico

El mejor tratamiento compuesto de quitosano obtenido por método hindú y almidón de yuca (CHH + AL) resultó actuar como un eficaz recubrimiento antimicrobiano, al registrarse un crecimiento mínimo o la ausencia total de enterobacterias, aerobios y coliformes. Esto se

relaciona con el grado de desacetilación del quitosano que es directamente proporcional a su actividad antimicrobiana.

Respecto a la Evaluación Sensorial

En general, los tratamientos compuestos de almidón de yuca obtuvieron una mejor aceptación sensorial que los tratamientos compuestos de agar-agar, siendo la combinación con quitosano obtenido por método hindú (CHH + AL), el tratamiento que logró el puntaje más alto en los 5 parámetros evaluados tanto para el tomate cherry como para la uvilla. Esto se relaciona con una menor variación de las propiedades fisicoquímicas de los vegetales recubiertos con esta biopelícula al finalizar el periodo de almacenamiento.

Recomendaciones

Realizar la extracción de quitosano mediante el método hindú a partir de las escamas de paiche, con el propósito de alcanzar un mayor rendimiento y grado de desacetilación.

Se recomienda adicionar el quitosano obtenido por el método hindú en las soluciones filmogénicas de almidón de yuca o agar-agar, con la finalidad de disminuir el tiempo de gelificación y mejorar las propiedades de las biopelículas.

Considerando los resultados de los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de los dos vegetales frescos recubiertos, se sugiere aplicar la biopelícula compuesta de quitosano obtenido por método hindú y almidón de yuca (CHH + AL) tanto para el tomate cherry como para la uvilla.

En cuanto al análisis de componentes principales, se sugiere implementar un control meticuloso de las variables de estudio para garantizar la fiabilidad y la interpretación precisa de los resultados.

Capítulo VI

Bibliografía

- Adjouman, Y. D., Nindjin, C., Kouassi, K. N., Tetchi, F. A., N'guessan, G. A., & Sindic, M. (2018). Effect of Edible Coating based on improved Cassava Starch on Post-Harvest quality of fresh Tomatoes (*solanum lycopersicum* L.). *International Journal Of Nutritional Science And Food Technology*, 4(1), 1-10. <https://orbi.uliege.be/handle/2268/226474>
- Agudelo, S., Mosquera, Y., David, D., Cartagena, S., & Duarte, Y. (2023). Effect of processing methods on the postharvest quality of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Horticulturae*, 9(10), 1158. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101158>
- Alcántara, F., Wust, W., Tello, S., Rebaza, M., & Del Castillo, D. (2006). *Paiche: El gigante del Amazonas* (1.^a ed., Vol. 1). Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. <https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/117>
- Álvarez, R., & Peña, G. (2016). Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente procesados. *Instituto de Investigaciones Para la Industria Alimentaria*. <https://fcai.uncuyo.edu.ar/upload/29atc-rodriiguez-unse.pdf>
- Anaya, L. M., Pérez, A., Ruvalcaba, J. M., Sánchez, J. A., Romero, R., & Montalvo, E. (2020). Funcionalización de los recubrimientos a base de quitosano para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. *Tip Revista Especializada En Ciencias Químico-biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.241>
- Arantes, M. K., Kugelmeier, C. L., Cardozo, L., Monteiro, M. R., De Oliveira, C. R., & Alves, H. J. (2014). Influence of the drying route on the depolymerization and properties of chitosan. *Polymer Engineering And Science*, 55(9), 1969-1976. <https://doi.org/10.1002/pen.24038>
- Araújo, J. M. S., De Siqueira, A. C. P., Blank, A. F., Narain, N., & De Aquino Santana, L. C. L. (2018). A Cassava Starch–Chitosan Edible Coating Enriched with *Lippia sidoides* Cham. Essential Oil and Pomegranate Peel Extract for Preservation of Italian Tomatoes

- (Lycopersicon esculentum Mill.) Stored at Room Temperature. *Food And Bioprocess Technology*, 11(9), 1750-1760. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2139-9>
- Bezerra, R., Soares, M., Carvalho, E., & Coelho, L. (2013). *Piracucu, Arapaima Gigas, The Amazonian Giant Fish is Briefly Reviewed* (1.^a ed., Vol. 1) [Ebook]. Nova Science Publishers. <https://novapublishers.com/shop/pirarucu-arapaima-gigas-the-amazonian-giant-fish-is-briefly-reviewed/>
- Broek, L. A. M., & Boeriu, C. G. (2020). *Chitin and Chitosan: Properties and Applications*. John Wiley & Sons.
- Cárdenas, L. C., Paredes, A. C., Serna, L., Guancha, M. A., & Torres, C. (2021). Quality of Physalis Peruviana fruits coated with pectin and pectin reinforced with nanocellulose from P. Peruviana calyces. *Heliyon*, 7(9), e07988. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07988>
- Carneiro, D. P. (2022). *EXTRAÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA DE ESCAMAS DE PIRARUCU* [Tesis de posgrado, Universidade Federal do Amazonas UFAM]. <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/9019>
- Carpio, C. A., Juárez-López, P., Campos-Aguilar, I. H., Alía-Tejacal, I., Sandoval-Villa, M., & López-Martínez, V. (2018). Análisis de crecimiento y rendimiento de uchuva (Physalis peruviana L.) cultivada en hidroponía e invernadero. *Revista Chapingo. Serie: Horticultura*, 24(3). <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.07.024>
- Carvalho, R. L., Cabral, M. F., Germano, T. A., De Carvalho, W. M., Brasil, I. M., Gallão, M. I., Moura, C. F. H., Lopes, M. M., & De Miranda, M. R. A. (2016). Chitosan coating with trans-cinnamaldehyde improves structural integrity and antioxidant metabolism of fresh-cut melon. *Postharvest Biology And Technology*, 113, 29-39. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.004>
- Crini, G. (2022). *Chitin and Chitosan: Discoveries and Applications for Sustainability*. Academic Press.

- Crini, G., & Lichtfouse, E. (2019). *Sustainable Agriculture Reviews: Chitin and Chitosan: Applications in Food, Agriculture, Pharmacy, Medicine and Wastewater Treatment* (Vol. 36) [Ebook]. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16581-9>
- Czechowska, R., Jarosińska, D., Rokita, B., Ulański, P., & Rosiak, J. M. (2012). Determination of degree of deacetylation of chitosan: Comparison of methods. *Progress On Chemistry And Application Of Chitin And Its Derivatives*, 17(17), 5-20.
http://psjd.icm.edu.pl/psjd/element/bwmeta1.element.psjd-9668be5e-5eca-4b30-8f83-12381cdf834e/c/17_01_005.pdf
- Davis, S. P. (2011). *Chitosan: Manufacture, Properties, and Usage* (1.^a ed., Vol. 1) [Ebook]. Nova Science Publishers.
- De Aquino, A. B., Blank, A. F., & De Aquino Santana, L. C. L. (2015). Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 171, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.077>
- De Moura, E. A., Chagas, P. C., De Oliveira, R. R., Taveira, D. L. L., & Grégio, M. L. (2020). Determination of the harvest time of sugar apples (*Annona squamosa* L.) in function of carpel interspace. *Acta Scientiarum-agronomy*, 43, e48732.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.48732>
- Dhall, R. K. (2013). Advances in Edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 53(5), 435-450.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>
- Divya, K., Vijayan, S., & Jisha, M. S. (2018). Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 114, 572-577.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.130>

- Dotto, G., Campana, S. P., & De Almeida, L. A. (2017). *Frontiers in Biomaterials: Chitosan Based Materials and its Applications* (1.^a ed., Vol. 3) [Ebook]. Bentham Science Publishers.
- Du, K., Wuertz, S., Adolphi, M. C., Kneitz, S., Stöck, M., De Oliveira, M. A., Nóbrega, R. H., Ormanns, J., Kloas, W., Féron, R., Klopp, C., Parrinello, H., Journot, L., He, S., Postlethwait, J. H., Meyer, A., Guiguen, Y., & Scharl, M. (2019). The genome of the Arapaima (*Arapaima gigas*) provides insights into gigantism, fast growth and chromosomal sex determination system. *Scientific Reports*, 9(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-41457-x>
- Elsabagh, R., Ibrahim, S., Abd-Elaaty, E. M., Abdeen, A., Rayan, A. M., Ibrahim, S. F., Abdo, M., Imbrea, F., Şmuleac, L., El-Sayed, A. M., Elghaffar, R. y. A., & Morsy, M. K. (2023). Chitosan Edible coating: A potential control of toxic biogenic amines and enhancing the quality and shelf life of chilled tuna filets. *Frontiers In Sustainable Food Systems*, 7.
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1177010>
- Espinales, J., & Hojas, H. (2020). *Estudio de quitosano extraído a partir de dos crustáceos; camarón blanco (*Litopenaeus setiferus*) y camarón cebra (*Rimapenaeus faoe*) y su aplicación como clarificante en la industria licorera* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo].
<https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/b87c3f78-e1a0-4b49-a187-bb61378bb383/content>
- FAO. (2023). *Programa de información de especies acuáticas: Arapaima gigas (Schinz 1822)*. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. Recuperado 15 de noviembre de 2023, de https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/arapaima_gigas/en
- Florencia, A., Putra, S. E. D., & Mukti, Y. P. (2022). Chitosan from snapper fish scale waste (*Lutjanus spp.*) for edible coating. *IOP Conference Series: Earth And Environmental Science*, 1036(1), 012032. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1036/1/012032>

- Frazão, G. G. S., Blank, A. F., & De Aquino Santana, L. C. L. (2017). Optimisation of edible Chitosan coatings formulations incorporating Myrcia ovata cambessedes essential oil with antimicrobial potential against foodborne bacteria and natural microflora of mangaba fruits. *LWT*, 79, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.011>
- Fuentes, A. (2021). *Propuesta para el aprovechamiento de escamas de pescado aplicado a la producción de papel de quitosano por el método de desacetilación de quitina en medio alcalino* [Tesis de pregrado, Universidad de América].
<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8675/1/6162973-2021-2-IQ.pdf>
- Ganji, F., Abdekhodaie, M. J., & Ramazani, A. (2007). Gelation time and degradation rate of chitosan-based injectable hydrogel. *Journal Of Sol-Gel Science And Technology*, 42(1), 47-53. <https://doi.org/10.1007/s10971-006-9007-1>
- González, M., Pautt, Y. M., Albis, A., Flórez, E., & Grande, C. D. (2020). Assessment of Chitosan-Rue (*Ruta graveolens* L.) Essential Oil-Based Coatings on Refrigerated Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.) Quality. *Applied Sciences*, 10(8), 2684. <https://doi.org/10.3390/app10082684>
- Harris, L. J., Farber, J., Beuchat, L. R., Parish, M. E., Suslow, T., Garrett, E., & Busta, F. F. (2003). Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in Fresh and Fresh-Cut produce. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 2(s1), 78-141. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00031.x>
- Hasan, S., Boddu, V. M., Viswanath, D. S., & Ghosh, T. K. (2022). *Chitin and Chitosan: Science and Engineering*. Springer Nature.
- Hermiyati, I., Iswahyuni, & Juhana, S. (2019). Synthesis of Chitosan from the Scales of Starry Trigger Fish (*Abalistes Stelaris*). *Oriental Journal Of Chemistry*, 35(1), 377-383. <https://doi.org/10.13005/ojc/350147>

- Hernández, P. L. B., Delgado, A. C. B., Sánchez, S. A. M., Castillo, H. S. V., & Porras, D. P. N. (2011). Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(2), 96-103.
<http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/166/1/96-103.pdf>
- Hossain, M. S., Muksitu, A., Samiur, S., & Shakir, S. (2019). Effect of Shrimp Chitosan Coating on Physicochemical Properties and Shelf Life Extension of Banana. *International Journal Of Engineering Technology And Sciences*, 6, 41-54.
<http://dx.doi.org/10.15282/ijets.6.1.2019.1004>
- INEN. (1986a). *Norma Técnica Ecuatoriana INEN 381: Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico de referencia*. (1.^a ed.).
<https://archive.org/details/ec.nte.0381.1986/page/n7/mode/1up>
- INEN. (1986b). *Norma Técnica Ecuatoriana INEN 389: Determinación de la concentración del ión hidrógeno (pH)*. (1.^a ed.). <https://archive.org/details/ec.nte.0389.1986>
- INEN. (1986c). *Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1520: Postre de gelatina. Determinación del tiempo de gelificación*. (1.^a ed.). <https://studylib.es/doc/5874487/nte-inen-1520--postre-de-gelatina.-determinaci%C3%B3n-del-tiem>
- INEN. (2009). *Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2485: FRUTAS FRESCAS. UVILLA. REQUISITOS*. (1.^a ed.). <https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC087739/>
- Jennings, J. A., & Bumgardner, J. D. (2016). *Chitosan Based Biomaterials: Fundamentals* (1.^a ed., Vol. 1). Woodhead Publishing.
- Kibar, H. F., & Sabir, F. K. (2018). Chitosan coating for extending postharvest quality of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) maintained at different storage. *AIMS Agriculture And Food*, 3(2), 97-108. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2018.2.97>
- Kim, S. (2010). *Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: Biological Activities and Applications* (1.^a ed., Vol. 1). CRC Press.

- Kumar, N., Kaur, P., Devgan, K., & Attkan, A. K. (2020). Shelf life prolongation of cherry tomato using magnesium hydroxide reinforced bio-nanocomposite and conventional plastic films. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 44(4).
<https://doi.org/10.1111/jfpp.14379>
- Kurniawan, A., Hidayat, N., & Gadizza, C. (2019). Effect of particle size and HCl concentration on the demineralization process chitosan shell crab (*Portunus pelagicus*). *Journal Of Food And Life Sciences*, 3(2), 56-64. <https://doi.org/10.21776/ub.jfls.2019.003.02.01>
- Liyanapathirana, A., Dassanayake, R. S., Gamage, A., Karri, R. R., Manamperi, A., Evon, P., Jayakodi, Y., Madhujith, T., & Merah, O. (2023). Recent Developments in Edible Films and Coatings for Fruits and Vegetables. *Coatings*, 13(7), 1177.
<https://doi.org/10.3390/coatings13071177>
- Madhavan, P. (1974). *Utilization of prawn waste: isolation of chitin and its conversion to chitosan*. <http://hdl.handle.net/1834/33639>
- Maharsih, I. K., Pusfitasari, M. D., Putri, C. A. S., & Hidayat, M. (2021). Performance evaluation of Cassava peels starch-based edible coating incorporated with chitosan on the shelf-life of fresh-cut pineapples (*Ananas comosus*). *IOP Conference Series*, 733(1), 012017.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012017>
- Mendoza, J. H., & Rodríguez, A. (2012). CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA DE LA UCHUVA (*Physalis peruviana*) EN LA REGIÓN DE SILVIA CAUCA. *Bioteología En el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 188-196.
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6117646.pdf>
- Muñoz, A., Da S Barbosa, A., Bustos, D., Ramírez, Y., Vásquez, Y., García, J., & Guancha, M. (2017). Conservación de uchuva (*Physalis peruviana*) mediante la aplicación de un recubrimiento a base de quitosano y áloe vera, utilizando el método de aspersión. *Informador Técnico*, 81(1), 86. <https://doi.org/10.23850/22565035.722>

- Muñoz, P. A., Parra, F., Simirgiotis, M. J., Chavera, G. F. S., & Parra, C. (2021). Chemical characterization, nutritional and bioactive properties of *Physalis Peruviana* fruit from high areas of the Atacama Desert. *Foods*, *10*(11), 2699.
<https://doi.org/10.3390/foods10112699>
- Ojeda, G. A., Gorman, A. M. A., Sgroppo, S. C., & Zaritzky, N. E. (2020). Application of composite Cassava Starch/Chitosan edible coating to extend the shelf life of black mulberries. *Journal Of Food Processing And Preservation*, *45*(1).
<https://doi.org/10.1111/jfpp.15073>
- Ooi, H. M., Munawer, M. H., & Kiew, P. L. (2021). Extraction of chitosan from fish scale for food preservation and Shelf-Life Enhancer. *Research Square (Research Square)*.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1078067/v1>
- Palma, J., López-Jiménez, J. Á., Pérez-Berná, A. J., Huang, I., Jansson, H., Salinas, J., Villalain, J., Read, N. D., & López-Llorca, L. V. (2010). Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular Microbiology*, *75*(4), 1021-1032.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.07039.x>
- Pérez, L., & Vilas, J. L. (2018). Determining the deacetylation degree of chitosan: Opportunities to learn instrumental techniques. *Journal Of Chemical Education*, *95*(6), 1022-1028.
<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00902>
- Putri, D. K. T., WH, W. D., Oktiani, B. W., K, R., Sukmana, B. I., Rachmadi, P., & Achmad, H. (2021). Synthesis and characteristics of chitosan from Haruan (*Channa striata*) fish scales. *Dentistry 3000*, *11*(2), 1-4. <https://www.longdom.org/open-access/synthesis-and-characteristics-of-chitosan-from-haruan-channa-striata-fish-scales.pdf>
- Qamarul, A., Zamri, A., Chilek, T., Razak, S., & Farhaten, W. (2019). Optimization of chitosan extracted from *Matuta lunaris* shells by using response surface methodology (RSM). *Asian Journal Of Agriculture And Biology*, *7*, 100-110. <https://www.asianjab.com/wp-content/uploads/2019/12/13-OPTIMIZATION-OF-CHITOSAN-1.pdf>

- Ramírez, J. S. (2012). Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReCiTeIA*, 12, 84-102. <https://www.researchgate.net/publication/257890512>
- Razali, A., Somasundram, C., Nurulain, S. Z., Kunasekaran, W., & Alias, M. R. (2021). Postharvest quality of cherry tomatoes coated with mucilage from dragon fruit and irradiated with UV-C. *Polymers*, 13(17), 2919. <https://doi.org/10.3390/polym13172919>
- Reinoso, E. (2021). *Potencialidad zootécnica productiva de la cría del paiche (Arapaima gigas) en la Amazonía ecuatoriana* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo]. <http://dspace.espe.edu.ec/bitstream/123456789/16269/1/17T01684.pdf>
- Reis, R. C. D., Devilla, I. A., Corrêa, P. C., De Oliveira, G. H. H., & De Castro, V. C. (2015). Postharvest conservation of cherry tomato with edible coating. *African Journal Of Agricultural Research*, 10(11), 1164-1170. <https://doi.org/10.5897/ajar2014.9238>
- Rhim, J. W., Hong, S., Park, H. M., & Ng, P. K. W. (2006). Preparation and characterization of Chitosan-Based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 54(16), 5814-5822. <https://doi.org/10.1021/jf060658h>
- Romero, E., García, Á., Calero, R., & Arenas, F. (2020). *Determinación de la Calidad de los Frutos Cítricos en Laboratorio* (1.ª ed., Vol. 1) [Ebook]. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/registro-servifapa/5938a086-c82e-465a-94f9-2729428527b4>
- Samar, M., El-Kalyoubi, M. H., Khalaf, M., & El-Razik, M. M. A. (2013). Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. *Annals Of Agricultural Sciences*, 58(1), 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2013.01.006>
- Sarango, J. S. (2023). *Evaluación del 1-MCP (Ethyl fresh) en el proceso de maduración comercial de Uvilla (Physalis peruviana) a diferentes tiempos de exposición* [Tesis de pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].

<https://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/37531/IASA-TIC-0077.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Shiekh, R. A., Malik, M. A., Al-Thabaiti, S. A., & Shiekh, M. A. (2013). Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits. *Food Science And Technology Research*, 19(2), 139-155. <https://doi.org/10.3136/fstr.19.139>
- Simkova, K., Veberič, R., Hudina, M., Grohar, M. C., Pelacci, M., Smrke, T., Ivancic, T., Weber, N., & Jakopič, J. (2024). Non-destructive and destructive physical measurements as indicators of sugar and organic acid contents in strawberry fruit during ripening. *Scientia Horticulturae*, 327, 112843. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112843>
- Sree, K. P., Sree, M. S., Supriya, P., & Samreen. (2020). Application of chitosan edible coating for preservation of tomato. *International Journal Of Chemical Studies*, 8(4), 3281-3285. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i4ao.10157>
- Tayel, A. A., Moussa, S. H., El-Tras, W. F., Knittel, D., Opwis, K., & Schollmeyer, E. (2010). Anticandidal action of Fungal Chitosan against *Candida albicans*. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 47(4), 454-457. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.06.011>
- Tello, E. (2017). *Evaluación del quitosano obtenido a partir de escamas de la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) por métodos químicos y biológico* [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de San Agustín]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4425>
- Thomas, S., Pius, A., & Gopi, S. (2020a). *Handbook of Chitin and Chitosan: Composites and Nanocomposites from Chitin and Chitosan, Manufacturing and Characterisations* (Vol. 2). Elsevier.
- Thomas, S., Pius, A., & Gopi, S. (2020b). *Handbook of Chitin and Chitosan: Preparation and Properties* (Vol. 1). Elsevier.
- Thomas, S., Pius, A., & Gopi, S. (2020c). *Handbook of Chitin and Chitosan: Volume 3: Chitin and Chitosan-based Polymer Materials for Various Applications*. Elsevier.

- Tokatlı, K., & Demirdöven, A. (2020). Effects of chitosan edible film coatings on the physicochemical and microbiological qualities of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 259, 108656. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108656>
- Tsouvaltzi, P., Gkountina, S., & Siomos, A. S. (2023). Quality traits and nutritional components of cherry tomato in relation to the harvesting period, storage duration and fruit position in the truss. *Plants*, 12(2), 315. <https://doi.org/10.3390/plants12020315>
- Uday, V. (2013, 15 agosto). *Mapa de ubicación área administrativa, académica y de producción del IASA II*. PDF Slide. <https://pdfslide.tips/engineering/mapa-ubicacion-espe-santo-domingo.html?page=1>
- Varma, R., & Vasudevan, S. (2020). Extraction, characterization, and antimicrobial activity of chitosan from horse mussel *Modiolus modiolus*. *ACS Omega*, 5(32), 20224-20230. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01903>
- Varun, T. K., Senani, S., Jayapal, N., Chikkerur, J., Roy, S., Tekulapally, V. B., Gautam, M., & Kumar, N. (2017). Extraction of chitosan and its oligomers from shrimp shell waste, their characterization and antimicrobial effect. *Veterinary World*, 10(2), 170-175. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.170-175>
- Vázquez, A., Barciela, P., Carpena, M., & Prieto, M. A. (2023). Edible coatings as a natural packaging system to improve fruit and vegetable shelf life and quality. *Foods*, 12(19), 3570. <https://doi.org/10.3390/foods12193570>
- Vega, J., Galarza, V. O., Ortega, C., Lara, M. V., & Del Carmen Espín, R. (2020). Conservation Advances on *Physalis Peruviana* L. and *Spondia purpurea*: a review. *Food Science And Technology*. <https://doi.org/10.1590/fst.27520>
- Xing, Y., Xu, Q., Li, X., Chen, C., Ma, L., Li, S., Che, Z., & Lin, H. (2016). Chitosan-Based Coating with Antimicrobial agents: preparation, property, mechanism, and application effectiveness on fruits and vegetables. *International Journal Of Polymer Science*, 2016, 1-24. <https://doi.org/10.1155/2016/4851730>

- Yang, W., Quan, H., Meyers, M. A., & Ritchie, R. O. (2019). Arapaima fish scale: one of the toughest flexible biological materials. *Matter*, 1(6), 1557-1566.
<https://doi.org/10.1016/j.matt.2019.09.014>
- Yang, W., Sherman, V., Gludovatz, B., Mackey, M., Zimmermann, E. A., Chang, E. C., Schaible, E., Qin, Z., Buehler, M. J., Ritchie, R. O., & Meyers, M. A. (2014). Protective role of Arapaima gigas Fish scales: Structure and mechanical behavior. *Acta Biomaterialia*, 10(8), 3599-3614. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.04.009>
- Yang, Z., Li, W., Li, D., & Chan, A. S. C. (2023). Evaluation of nutritional compositions, bioactive components, and antioxidant activity of three cherry tomato varieties. *Agronomy*, 13(3), 637. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030637>
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and Chitosan Preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133-1174.
<https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Yusharani, M. S., Stenley, Harmami, Ulf, I., & Ni'mah, Y. L. (2019). Synthesis of water-soluble chitosan from squid pens waste as raw material for capsule shell: temperature deacetylation and reaction time. *IOP Conference Series*, 509, 012070.
<https://doi.org/10.1088/1757-899x/509/1/012070>
- Yusof, N. M., Jai, J., & Hamzah, F. (2019). Effect of coating materials on the properties of Chitosan-Starch-Based edible coatings. *IOP Conference Series*, 507, 012011.
<https://doi.org/10.1088/1757-899x/507/1/012011>
- Zárate, J. C., Escobar, D. M., & Ríos, R. (2023). Development and evaluation of Chitosan-Based food coatings for exotic fruit preservation. *Biotech*, 12(1), 20.
<https://doi.org/10.3390/biotech12010020>
- Zhang, J., Liu, S., Lee, S., Chang, Y., Wang, C., Ma, X., Wang, J., Zhang, X., Lyu, J., & Xie, J. (2023). A comprehensive evaluation of tomato fruit quality and identification of volatile compounds. *Plants*, 12(16), 2947. <https://doi.org/10.3390/plants12162947>

Zhao, Y., Li, L., Gao, S., Wang, S., Li, X., & Xiong, X. (2023). Postharvest storage properties and quality kinetic models of cherry tomatoes treated by high-voltage electrostatic fields. *LWT*, 176, 114497. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114497>