



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
“MANUEL FÉLIX LÓPEZ”**

**MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA**

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIA**

**MODALIDAD:**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TEMA:**

**CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS Y  
ANTIMICROBIANAS IN VITRO DE UN RECUBRIMIENTO  
COMESTIBLE A BASE DE MUYUYO (*Cordia lutea* Lam.) Y  
QUITOSANO**

**AUTOR:**

**MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA**

**TUTOR:**

**ING. ELY FERNANDO SACÓN VERA, PhD**

**CALCETA, AGOSTO 2019**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

---

**MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA**

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

**ING. ELY FERNANDO SACÓN VERA, PhD.**, certifica haber tutelado el proyecto **CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIMICROBIANAS IN VITRO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE MUYUYO (*Cordia lutea* Lam.) Y QUITOSANO**, que ha sido desarrollado por **MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA**, previo a la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. Ely Fernando Sacón Vera, PhD.**

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIMICROBIANAS IN VITRO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE MUYUYO (*Cordia lutea* Lam.) Y QUITOSANO**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado pro **CASTRO GARCÍA MARLON REINALDO**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. Rosanna Loor Cusme, Mg.

**MIEMBRO**

ING. Carlos Banchon Bajaña, Mg.

**MIEMBRO**

ING. Lenin Zambrano Velásquez, Mg.

**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López por brindarme la oportunidad de crecer como ser humano y en el ámbito profesional;

A Dios que día a día me permite tener vida y salud para seguir adelante por el camino del bien y poder ser una mejor ser humano y un mejor profesional;

A mi esposa y a mi hijo por apoyarme en todo momento por brindarme su paciencia su tiempo, su comprensión y sobre todo por brindarme su amor incondicional;

A mis padres, hermanos y hermanas;

A mis suegros, cuñados y cuñada;

A mis compañeros de clases por el apoyo brindado a lo largo de estos años de estudios;

A mi tutor de tesis y a los docentes por compartir sus conocimientos conmigo, y

A todas aquellas personas que me apoyaron incondicionalmente.

---

**MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme vida, salud en todo momento, por poner en mi camino a seres tan maravillosos como lo son mi esposa y mi hijo que al igual que Dios siempre me cuidan y me acompañan en todo momento en todo lugar.

De la misma manera a mi Esposa Vanessa, a mi hijo Santiago los pilares fundamentales en mi vida, mis motores y mis ganas de seguir adelante, este gran paso que hoy estoy dando se los dedico con una sonrisa y con todo mi corazón.

A mis padres, hermano y hermanas, suegros cuñados y cuñada, a mi tutor y a todas aquellas personas que colaboraron de una u otra forma con la realización de mi tesis.

---

**MARLON REINALDO CASTRO GARCÍA**

## CONTENIDO

DERECHOS DE AUTORÍA .....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
CONTENIDO .....	vii
RESUMEN .....	x
PALABRAS CLAVE .....	x
ABSTRACT .....	xi
KEY WORDS .....	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema .....	1
1.2. Justificación .....	2
1.3. Objetivos .....	6
1.3.1. Objetivo general .....	6
1.3.2. Objetivos específicos .....	6
1.4. Hipótesis .....	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	7
2.1. Perspectiva sobre la aplicación de recubrimientos comestibles .....	7
2.1.1. Recubrimientos comestibles .....	8
2.1.2. Empaques utilizados en la industria alimentaria .....	10
2.2. Caracterización de recubrimientos comestibles y su uso en la industria alimentaria .....	11
2.2.1. Caracterización física de rc .....	11
2.2.2. Usos de recubrimientos comestibles .....	15
2.3. Recubrimientos a base de polisacáridos .....	15
2.3.1. Quitosano .....	17
2.3.2. Uso de quitosano como recubrimiento comestible .....	18
2.3.3. Mecanismo de acción de la actividad antimicrobiana del quitosano .....	20
2.3.4. Muyuyo ( <i>cordia lutea</i> lam.) .....	24
2.3.5. Tendencias en la aplicación de recubrimientos comestibles .....	25
CAPITULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO .....	27
3.1. Ubicación de la investigación .....	27
3.2. Duración de la investigación .....	27
3.3. Factores en estudio .....	27
3.4. Tratamientos .....	28

3.5. Delineamiento experimental .....	28
3.5.1 Diseño experimental.....	28
3.5.2. Unidad experimental .....	28
3.5.3 Esquema de anova .....	29
3.6. Manejo del experimento .....	29
3.7. Descripción del proceso .....	31
3.8. Variables en estudio .....	33
3.8.1. Espesor .....	33
3.8.2. Opacidad .....	33
3.8.3. Resistencia a la tensión (rt) .....	33
3.8.4. Permeabilidad al vapor de agua (pva) .....	34
3.8.5. Solubilidad .....	35
3.8.6. Análisis de cohesividad .....	35
3.8.7. Actividad antimicrobiana.....	35
3.9. Análisis estadísticos .....	36
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. Espesor .....	38
4.2. Opacidad.....	43
4.3. Resistencia a la tensión.....	46
4.4. Permeabilidad al vapor de agua.....	48
4.5. Solubilidad.....	53
4.6. Cohesividad.....	56
4.7. Actividad antimicrobiana.....	59
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	67
5.1. Conclusiones.....	67
5.2. Recomendaciones.....	67
BIBLIOGRAFÍA .....	68
ANEXOS .....	87



## CONTENIDO DE CUADROS Y GRAFICOS

### Cuadros:

3.1. Detalle de los tratamientos.....	28
3.2. Esquema de ANOVA bifactorial A*B.....	29
4.1. Supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk a un 95% de confianza.....	37
4.2. Supuesto de homogeneidad mediante prueba de Levene a un 95% de confía.....	37
4.3. ANOVA variable dependiente: espesor.....	38
4.4. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el factor a (concentración de quitosano).....	41
4.5. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el factor b (concentración de muyuyo).....	42
4.6. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para tratamientos.....	43
4.7. Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable opacidad.....	45
4.8. Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Resistencia a la Tensión .....	47
4.9. Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Permeabilidad al Vapor de Agua .....	50
4.10. Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Solubilidad.....	55
4.11. Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Cohesividad.....	58
4.12. Análisis microbiológico contra <i>Rhizopus</i> sp, <i>Aspergillus</i> sp, y <i>Penicillium</i> sp. ....	60

### Gráficos:

3.1. Diagrama de proceso para la elaboración de recubrimiento comestible de <i>C. lutea</i> y quitosano.....	30
4.1. Comparación de Medias de los factores para la variable (Espesor).....	39
4.2. Media de opacidad Factor a (concentración de quitosano).....	44
4.3. Media de Resistencia a la Tensión Factor a (concentración de quitosano).....	46
4.4. Media de Permeabilidad al Vapor de Agua Factor a y Factor b .....	49
4.5. Media de Solubilidad Factor a (concentración de quitosano).....	54
4.6. Media de Cohesividad Factor a (concentración de quitosano).....	57
4.7. Análisis físicos realizados en el recubrimiento.....	65
4.8. Análisis microbiológicos realizados en el recubrimiento.....	66

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la caracterización de las propiedades físicas y antimicrobianas de recubrimientos comestibles de quitosano y goma de muyuyo. Se manejó un Diseño Completamente al Azar con arreglo bifactorial AxB con tres réplicas por cada tratamiento, la unidad experimental consistió en 20 mL de solución formadora de recubrimiento. Para esto, se manipularon los factores. A: Concentración de quitosano (0,5; 1,0 y 1,5%) y B: Concentración de muyuyo (40 y 60%). Las variables determinadas en las películas fueron espesor, opacidad, resistencia a la tensión, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad de la película, actividad antimicrobiana y cohesividad. El ANOVA reveló alta significancia para los tratamientos y utilizando el test de Tukey (HSD) con un  $p < 0.05$ , indicó que estadísticamente el tratamiento T6 (quitosano 1,5% + muyuyo 60% de concentración v/v), presentó buena resistencia a la tensión con un valor de 17,31 MPa; la permeabilidad al vapor de agua evidenció valores de  $1,15 \times 10^{-10} \text{ g.m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ; el valor mostrado para solubilidad fue de 44,08%. El espesor de la película 0,29 mm. En la opacidad mostró un valor de  $6,11 \text{ mm}^{-1}$ , la cohesividad indicó un valor de 0,10 (adimensional). El análisis microbiológico expuso un diámetro de inhibición de 29,8 mm contra *Rhizopus* sp, 22,9 mm contra *Aspergillus* sp., y 17,9 mm para *Penicillium* sp. Los resultados de este estudio indicaron que, las concentraciones de quitosano y muyuyo ayudaron a mejorar las propiedades mecánicas y el efecto antimicrobiano del recubrimiento.

## PALABRAS CLAVE

Película biodegradable, mucilago, goma, polímero, conservación.

## ABSTRACT

The objective of the present study was the characterization of the physical and antimicrobial properties of edible coatings of chitosan and rubber band. The experimental unit consisted of 20 ml of coating forming solution. For this, the factors will be manipulated. A: Chitosan concentration (0.5, 1.0 and 1.5%) and B: Crude concentration (40 and 60%). The variables were defined in the film, the resistance, the tensile strength, the water vapor permeability, the film solubility, the antimicrobial activity and the cohesiveness. The ANOVA revealed high significance for the treatments and the use of the Tukey test (HSD) with  $p < 0.05$ , which statistically indicates the T6 treatment (chitosan 1.5% + very low 60% concentration v / v), although good tensile strength with a value of 17.31 MPa; The water vapor permeability showed values of  $1.15 \times 10^{-10} \text{ g.m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ; The value shown for solubility was 44.08%. Thickness of a film 0,29 mm. In the opacity showed a value of  $6.11 \text{ mm}^{-1}$ , the cohesivity indicated a value of 0.10 (dimensionless). The microbiological analysis shows an inhibition diameter of 29.8 mm against *Rhizopus* sp, 22.9 mm against *Aspergillus* sp., And 17.9 mm for *Penicillium* sp. The results of this study indicated that the results of chitosan and muyuyo helped to improve the mechanical properties and the antimicrobial effect of the coating.

## KEY WORDS

Biodegradable film, mucilage, rubber, polymer, preservation



# **CAPÍTULO I. ANTECEDENTES**

## **1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

Hay un creciente interés en la producción de alimentos que presenten alta calidad y mayor vida útil, que estos sean envasados o preservados con materiales compatibles inocuos y que no causen efectos adversos en los consumidores y en el ambiente. El estudio y desarrollo de recubrimientos comestibles biodegradables, se ha situado en una alternativa de exploración con grandes alcances, debido a que, con una sola formulación aplicada, se puede lograr diferentes propiedades funcionales para conservar alimentos (recubrimientos activos), además para conceder un valor agregado nutricional con los biopolímeros agregados.

En la actualidad, la mayoría de los materiales de embalaje que son utilizados en la industria de alimentos son producidos a base de polímeros petroquímicos. Sin embargo, estos materiales utilizados no son biodegradables, esto origina un efecto negativo en el ambiente. Al mismo tiempo, los compuestos, como el bisfenol A (BPA), continuamente está presente en la producción de estos empaques, estos compuestos pueden migrar hacia el alimento como lo menciona Homez et al. (2018).

Estos en comparación a otros empaques presentan grandes ventajas, como bajo costo, propiedades funcionales y disponibilidad, pero las desventajas radican en que estos materiales no son de características biodegradables y producen un serio problema ambiental, debido a la gran acumulación de desechos sólidos (Alves, Mali, Beléia y Grossmann, 2007). En consecuencia, se presta mayor atención al desarrollo de productos de envasado alternativos basados en polímeros, coproductos y residuos agrícolas (Elsabee y Abdou, 2013). Uno de los principales retos que se debe de considerar en los trabajos de investigación es lograr desarrollar formulaciones en base a la naturaleza propia del alimento que se quiere conservar, que puedan tener estabilidad antimicrobiana, fisicoquímica y bioquímica, que no presenten efectos desfavorables en la calidad sensorial del alimento, que

sean inocuos para el consumo de las personas y que puedan proteger al alimento confiriéndole resistencia mecánica suficiente para contrarrestar el daño mecánico al cual sea sometido y que los costos puedan ser bajos para poder sustituir a los materiales sintéticos actuales, ayudando de esta manera a eliminar la adición de conservantes alimentarios de origen químicos y/o sintéticos. En relación con lo anterior Ramos et al. (2010) se refieren a esta tecnología como los envases del futuro.

El desarrollo de nuevos procesos industriales y la innovación en la industria de los alimentos requiere el desarrollo de envases con características mejoradas. Esta demanda se podría satisfacer mediante el estudio de nuevas fuentes botánicas que no han sido explotadas en el Ecuador y que su uso no es conocido aun en la industria alimentaria.

Los biopolímeros son los materiales que habitualmente se usan como base para la elaboración de recubrimientos comestibles, debido a su bajo costo y a sus características de biodegradabilidad. Una de las desventajas de los biomateriales existentes, es que tienen limitaciones en cuanto a su disponibilidad y a sus propiedades funcionales, por lo tanto, se están explorando permanentemente nuevos recursos biológicos que mejoren todas estas limitaciones mencionadas.

Por lo antes expuesto la pregunta de investigación es la siguiente: ¿Será posible que la concentración de *Cordia lutea* Lam y quitosano tendrá efecto en las características físicas y antimicrobiana del recubrimiento comestible?

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

En la industria de los alimentos se utiliza una extensa variedad de empaques y embalajes. Tanto los empaques, así como las películas plásticas se presentan como una estructura autónoma que encierra a un alimento con la finalidad de contrarrestar y prevenir la degradación, proteger el producto contra ataques microbiológicos, protección contra daño mecánico, alargar la vida útil en percha y además de facilitar la distribución y comercialización de los productos (Sothornvit y Pitak, 2007;

Zamudio, Romero, Hernández, Bello y Vargas, 2007; Espitia, Du, Avena, Soares y McHugh, 2014).

La conservación de los alimentos es un aspecto de gran relevancia en la industria de alimentos, razón por la cual ha direccionado a la industria en el desarrollo de diversos métodos de conservación como por ejemplo el empleo de películas protectoras, las cuales han presentado un proceso de evolución hasta llegar a ser elaboradas a partir de materiales biopoliméricos de los cuales los más utilizados para este fin son los polisacáridos, proteínas y lípidos, concibiendo un concepto denominado recubrimientos comestibles (Baldwin, 2003).

Debido a esto, en las últimas décadas se ha venido trabajando en el campo de películas y recubrimientos comestibles biodegradables. Los principales biopolímeros utilizados para producir películas biodegradables son lípidos, proteínas y carbohidratos (Han y Gennadios, 2005; Sothornvit et al. 2007; Chen y Lai, 2008). Sin embargo, existe una actividad química y física permanente en la interfase entre el empaque y el alimento, por esta razón se requiere que los recubrimientos presenten ciertas propiedades que garanticen la conservación, la inocuidad y la seguridad de ser consumido del alimento empacado.

Entre las propiedades más significativas se encuentran las propiedades físicas, térmicas, mecánicas, de permeabilidad y microbiológicas. Todas estas propiedades dependen esencialmente de los materiales que se utilicen en la elaboración, de su método de elaboración y de su aplicación (Guilbert et al., 1996).

El uso de recubrimientos comestibles es catalogado como una tecnología amigable y respetuosa con el medio ambiente por varios aspectos fundamentales, reduce el uso de envasado con recubrimientos plásticos, biopolímeros biodegradables y naturales, es decir, que pueden ser conseguidos de fuentes naturales o extraídos a partir de los subproductos de las industrias agroalimentarias. Además, los recubrimientos comestibles pueden ser envases activos cuando se agrega en su matriz polimérica aditivos naturales con propiedades antioxidantes y

antimicrobianas, citado por De Ancos, González, Colina y Sánchez (2015), sin embargo, el quitosano es un elemento que se ha venido estudiando para ser aplicado como matriz en recubrimientos comestibles.

El quitosano es un polisacárido lineal que consiste en (2, 4) -enlace-2-amino desoxi- $\beta$ -d-glucano; se obtiene a través de la desacetilación de la quitina, que, después de la celulosa, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza como lo menciona Aider (2010). Este compuesto podría usarse para el desarrollo de recubrimientos y películas comestibles a nivel industrial debido a sus características biodegradables, biofuncionales, biocompatibles, no tóxicas, formadoras de película y antimicrobianas (Sun, Wu, Hao, Dai y Li, 2016), presenta características biofuncionales, por lo que podría ser una alternativa viable para sustituir los métodos de control de microorganismos tradicionales (González, Monroy, Goycoolea, Díaz, y Ayala, 2005).

En la actualidad la explotación de fuentes biológicas utilizadas en la producción alimentaria o conservación de alimentos está en constante desarrollo, esto conlleva a buscar nuevas fuentes botánicas no estudiadas para su posible utilización en la industria de los alimentos.

*Cordia lutea* Lam es un arbusto caducifolio de la familia *Boraginaceae* que produce una baya translúcida, elíptica, con una pulpa blanquecina y pegajosa (González, García, y Correa, 2005; Granda, y Guamán, 2006). Se ha reconocido que la goma de *Cordia*, un polisacárido aniónico, produce películas transparentes y flexibles con una excelente barrera al oxígeno (Haq, Hasnain y Azam, 2014b) y propiedades emulsionantes (Benhura y Chidewe, 2004).

El extracto de *C. lutea* tiene buenas propiedades de adhesión, por lo tanto, es un candidato ideal para películas y recubrimientos. Existen estudios previos sobre la elaboración de películas comestibles utilizando goma de *Cordia myxa* (Haq et al., 2014b), aplicaciones de goma de otras especies de *Cordia* como material de recubrimiento (Haq, Alam y Hasnain, 2013a; Haq y Hasnain, 2013b, Haq y Hasnain,



2014a; Haq, Hasnain, Jafri, Akbar, y Khan, 2016). Sin embargo, no hay estudios de la elaboración de películas con *C. lutea*.

Existen muy pocas investigaciones en materiales biológicos de la familia *Cordia*. No hay estudios microbiológicos, in vitro o in vivo, realizados con respecto a *C. lutea* (Adeosun, Olaseinde, Opeifa y Atolani, 2013) mostraron que el aceite esencial de la corteza del tallo de *Cordia sebestena* tenía un potencial antioxidante prometedor que sugería que *C. sebestena* podría explotarse en las industrias de medicamentos y alimentos.

El uso de antimicrobianos es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis o como en el caso de los sulfitos), redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados como lo menciona Nychas (1995). Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, especias y productos de origen biológico.

Este trabajo se encamina hacia el llamado de consolidar el cambio hacia una estructura productiva sofisticada y diversa, con actividades de mayor valor agregado e intensidad tecnológica que, simultáneamente, respondan a los acuerdos sobre la sostenibilidad ambiental como la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (COP21), para, de esta forma, encaminarnos a una producción más limpia y eficiente (Dietsche, 2017).

Por lo antes mencionado, se presentan grandes desafíos en el desarrollo de investigaciones enfocadas en tratar de optimizar la composición de los recubrimientos comestibles y de los materiales de recubrimiento que se utilizan en las formulaciones, esto conlleva a la búsqueda de nuevas fuentes vegetales y

biológicas que podrían ser utilizadas en la elaboración de nuevos empaques con características físico-químicas mejoradas, por esta razón el uso de la goma de *C. lutea* es una buena alternativa para ser utilizada en la fabricación de recubrimientos comestibles en conjunto con el quitosano.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Elaborar un recubrimiento comestible inocuo, duradero y antimicrobiano mediante la concentración óptima de goma de *Cordia lutea* Lam y quitosano.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Establecer la mejor concentración de goma de *C. lutea* y quitosano resultante de los análisis físicos de los tratamientos en estudio.
- Determinar el mejor tratamiento como control antimicrobiano in vitro en base a los resultados microbiológicos.

### **1.4. HIPÓTESIS**

La concentración de *Cordia lutea* Lam y quitosano influye en las características físicas y antimicrobianas in vitro del recubrimiento comestible.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. PERSPECTIVA SOBRE LA APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Con el aumento de los sistemas de transporte, de distribución, necesidades de almacenamiento y llegada a los supermercados cada vez más grandes y tiendas de almacén, los alimentos ya no se consumen solo en el huerto, en el campo, en la granja, o cerca de las instalaciones de procesamiento. Durante los pasos que consumen el tiempo involucrado en el manejo, transporte y almacenamiento, los productos comienzan a deshidratarse, deterioran, pierden la apariencia, el sabor y el valor nutritivo (Hernández et al., 2017). Si no se proporciona protección especial, el daño puede ocurrir en cuestión de horas o días, incluso si este daño no es inmediatamente visible (Pavlath y Orts, 2009).

Por otra parte, el sector de alimentos y bebidas genera desechos de plástico no ecológicos y esto ha dado lugar a un enorme impacto en el medioambiente. Con una priorización insuficiente de la reducción de la fuente de envasado, la reciclabilidad, la compostabilidad, el contenido reciclado y las políticas de reciclado, es probable que los residuos aumenten en los próximos años. Se estima que menos del 14 % de los materiales de envasado de plástico son reciclables (en Estados Unidos), y como el plástico domina la mayor proporción de la industria de envasado de alimentos, la necesidad de diseñar material de base biológica es una prioridad (MacKerron y Hoover, 2015; Tumwesigye, Oliveira y Sousa, 2016).

La fabricación y aplicación potencial de polímeros biodegradables para aplicaciones de envasado de alimentos ha aumentado el interés como alternativas a los polímeros de envasado de alimentos convencionales debido a su sostenibilidad. Los polímeros de fuentes renovables actualmente atraen la atención para la fabricación de materiales amigables con el medioambiente y la utilización de películas biodegradables se supone una práctica amigable con el ambiente como lo indican Arancibia, alemán, López, Gómez y Montero (2014). En tal sentido, diversas fuentes

se pueden utilizar en la producción de biopolímeros como películas biodegradables que incluyen proteínas, lípidos y polisacáridos. Entre los diversos polisacáridos, el almidón es un material económicamente viable y su abundancia en la naturaleza es de importancia significativa (Molavi et al., 2015; Shah, Naqash, Gani y Masoodi, 2016); por lo que es ampliamente utilizado en el desarrollo de películas y recubrimientos (Garrison, Murawski y Quirino, 2016).

Tradicionalmente, los envases para alimentos han sido concebidos como sistemas cuyo principal objetivo ha sido contener y proteger al alimento de los daños físicos inherentes al proceso de transporte y comercialización de los mismos (envase pasivo). Desde hace un tiempo esto ha cambiado y actualmente el envase se concibe como un sistema alternativo de conservación de alimentos, ya no solo como contenedor, sino que ejerza un efecto positivo y beneficioso sobre el alimento (envase activo). Este nuevo enfoque ha permitido la incorporación de nuevos materiales y sistemas capaces de ejercer una interacción positiva entre el envase y el alimento (Galotto y Guarda, 2014).

Los envases activos pueden clasificarse dependiendo de la característica que el aditivo posea, entre los cuales, los que presentan actividad antimicrobiana o antioxidante son los que presentan mayores expectativas. Los primeros inhiben la acción de los microorganismos causantes de la contaminación de los productos, mientras que los segundos retardan y previenen la aparición de radicales libres en el alimento, actuando en las reacciones de oxidación de las moléculas presentes (Bruna et al., 2014).

### **2.1.1. RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Un recubrimiento comestible (RC) es un material de envoltura (empaquete) delgado empleado en la industria de alimentos y que puede ser consumido como parte del mismo, debido a que proviene de polímeros biodegradables, no tóxicos y que ayudan a incrementar la calidad de los alimentos durante su conservación con el propósito de extender su vida útil y proporcionarle una efectiva barrera contra los

riesgos que generan las condiciones ambientales existentes (McHugh y Senesi, 2000; Del Nobile Conte, Scrocco, y Brescia, 2009; Sánchez, Vargas, González, Chiralt, y Cháfer, 2011, Raghav, Agarwal, y Saini, 2016).

Los (RC) pueden estar constituidos por materiales poliméricos, como proteínas o polisacáridos en solución hidrocoloide (Uquiche, Villaroel y Cisneros, 2002), que actúan como sistema mejorador de las propiedades mecánicas y de barrera. La inclusión de lípidos, ácidos grasos de cadena larga, resinas, aceites, ceras como carnaúba (CC), candelilla y cera de abejas (Krochta, Baldwin, y Nisperos, 2010) en emulsión, por su carácter lipofílico les permite actuar como barrera al vapor de agua, disminuyendo su permeabilidad a niveles intermedios y actuando como sistema regulador de la transpiración en vegetales (Morillon, Debeaufort, Blond, Capelle y Voilley, 2002; Rojas, Del Río, y Pérez, 2009).

La aplicación de los RC actúa como sistema protector creando una atmosfera modificada que retrasa la senescencia en frutas climatéricas y no climatéricas, ayuda a conservar la apariencia, disminuye la transpiración, la pérdida de aromas y mejora la textura como lo mencionan Olivas y Barbosa (2005).

Los RC son una alternativa para preservar la calidad y la frescura de los productos mínimamente procesados y prolongar su vida útil (Chiumarelli y Hubinger, 2012). La aplicación de recubrimientos crea una barrera semipermeable a gases y al vapor de agua, (Chiumarelli, Ferrari, Sarantópoulos y Hubinger, 2011), lo que reduce la velocidad de respiración y la deshidratación de los productos recubiertos. Además, estos recubrimientos permiten la incorporación de aditivos alimentarios (agentes antimicrobianos, antioxidantes, sales minerales, etc.) que permiten retardar el pardeamiento enzimático, la aparición de desórdenes fisiológicos como el escaldado superficial, el crecimiento microbiano y la pérdida de textura (Gómez, 2011).

Los Recubrimientos comestibles y películas a base polímeros, generan una buena formación de película, tienen baja permeabilidad al oxígeno, alta permeabilidad al

vapor de agua, son insípidos, inodoros y transparentes, no cambian el sabor, aroma o apariencia del producto, lo que implica la disminución de la tasa de respiración de los productos recién cortados.

### **2.1.2 EMPAQUES UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

En la industria alimentaria se utiliza una amplia variedad de empaques. Los empaques como las películas plásticas son una estructura independiente que envuelve a un alimento con la finalidad de prevenir el deterioro, alargar la vida de anaquel y proteger al producto contra daños mecánicos, además de facilitar la distribución y la comercialización de los productos alimenticios (Espitia et al., 2014; Sothornvit et al., 2007; Zamudio et al., 2007).

Los materiales más utilizados para elaborar películas de empaque son polímeros a base de petroquímicos por sus grandes ventajas, como disponibilidad, bajo costo y propiedades funcionales adecuadas para la preservación del alimento. Sin embargo, Alves et al. (2007) indican que estos materiales no son biodegradables y ocasionan un serio problema ambiental por la acumulación de desechos sólidos. Debido a esto en las últimas décadas, se han realizado estudios en el campo de películas y recubrimientos biodegradables y comestibles. Los biopolímeros usados para producir películas biodegradables son proteínas, lípidos y carbohidratos (gomas, almidón, derivados de la celulosa y pectinas) o la combinación entre estos, (Chen et al., 2008; Sothornvit et al., 2007; Han et al., 2005).

Sin embargo, debido a que existe una continua actividad química y física en la interfase entre el empaque y el alimento, es necesario que las películas presenten ciertas propiedades que garanticen la preservación del alimento empacado. Guilbert et al. (1996) mencionan que entre las propiedades más importantes se encuentran las propiedades físicas, térmicas, de permeación y las mecánicas. Estas propiedades dependen ampliamente de los materiales utilizados, de su método formación y de su aplicación y pueden variar con las condiciones de almacenamiento debido a la inestabilidad intrínseca de sus materias primas,

afectando su funcionalidad. La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es la propiedad más estudiada, principalmente por el papel que juega el agua en las reacciones deteriorativas (Ayranci y Tunc, 2003).

Sin embargo, una película biodegradable con buenas propiedades de permeación puede ser ineficiente si sus propiedades mecánicas no permiten mantener la integridad de la película durante el manejo, empaquetamiento o transporte, por lo que también deben determinarse sus propiedades mecánicas (Briassoulis, 2006).

En base a lo descrito anteriormente el uso o la aplicación de recubrimientos comestibles, es directamente proporcional a la caracterización del recubrimiento antes de ser aplicado en algún tipo de alimento, debido a sus propiedades físicas y mecánicas, esto implica que la aplicación dependerá de dichas propiedades con el fin de obtener buenos resultados en su aplicación.

## **2.2. CARACTERIZACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES Y SU USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

La caracterización de recubrimientos comestibles es un punto clave al momento de elegir los materiales óptimos para formular las diversas soluciones formadoras de recubrimiento, gracias a la caracterización física de las películas se pueden obtener datos muy importantes que son determinante al momento de ser aplicados en algún tipo de alimento.

### **2.2.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE RC**

Las propiedades mecánicas dependen de la composición y estructura de los componentes de la fórmula; por lo tanto, la elección de las sustancias empleadas está relacionado con la función para la cual se desea utilizar el recubrimiento, la naturaleza del alimento y el método de aplicación (Romero, Zamudio y Bello, 2011). Cuando el recubrimiento comestible se aplica en la superficie del alimento se desarrollan dos fuerzas diferentes; cohesión de las moléculas dentro del recubrimiento y la adhesión entre el recubrimiento y el alimento. Moreno y Patiño

(2010) mencionan que el grado de cohesión determina las propiedades mecánicas o de barrera y la adhesión asegura una larga durabilidad del RC en la superficie del alimento.

- **PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (PVA)**

La PVA es una de las propiedades más importantes de los recubrimientos comestibles y su medición puede predecir la pérdida o ganancia de agua en los alimentos cubiertos. Los métodos de conservación en los frutos deben prevenir o reducir la humedad del ambiente, para evitar una disminución en el peso al término del almacenamiento y se pueda conservar su firmeza por un tiempo mayor. La PVA se puede ver afectada por los componentes de la fórmula, la adherencia en el fruto, el espesor y la flexibilidad entre otros (Gutiérrez et al., 2014).

El efecto espesor de las películas influye sobre los valores de PVA, ya que a medida que aumenta el espesor de la película, disminuye la permeabilidad de vapor de agua Pérez et al. (2012). Además, la concentración de almidón modificado y la fuente botánica de donde se extrae puede afectar esta característica. Por ejemplo, Romero et al. (2011) evaluaron la PVA de películas de almidón modificado de plátano y reportaron que la PVA de la película fue de  $18,34 \times 10^{-10} \text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ . Sin embargo, al adicionar aceite de canela al 1 y 1,5% a la formulación los valores de PVA mejoraron, al compararlo con los RC a los que no se le aplicó.  $13,58$  y  $5,07 \times 10^{-10} \text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ , respectivamente).

Las películas elaboradas con almidón modificado de maíz al 5% al combinarse con carboxi metil celulosa al 15% disminuyeron significativamente la PVA ( $2,45 \times 10^{-7} \text{g/m}$ ) Babak et al. (2010). Del mismo modo, Basiak et al. (2017) elaboraron varias películas con almidón modificado; en las películas elaboradas con almidón de papa al 5%, la PVA fue de  $1,24 \times 10 \text{gm}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ , mostrando menor PVA comparado con películas elaboradas con almidón modificado de maíz y trigo ( $8,72$  y  $6,05 \times 10 \text{gm}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ , respectivamente), todas las películas se adicionaron con glicerol al 1,5%.



- **SOLUBILIDAD**

La solubilidad es la medida o magnitud que indica la cantidad máxima de soluto que puede disolverse en una cantidad determinada de solvente, a una temperatura dada. Esta propiedad es de gran importancia para determinar la funcionalidad de la película comestible (Limonos, Eduardo y Peralta, 2018).

La resistencia al agua de películas comestibles portadoras de antimicrobianos es deseable para mantener la integridad de la película si la misma debe utilizarse para la conservación de alimentos de humedad intermedia a alta. Del mismo modo Famáa (2003), estudió la influencia del agregado de polvo de ajo en recubrimientos biodegradables a base de almidón de mandioca, observando que el agregado de ajo modifica las propiedades fisicoquímicas de las películas, conduciendo a aumento en la permeabilidad al vapor de agua y solubilidad en agua, sin que se obtenga diferencias significativas en el contenido de humedad.

- **RESISTENCIA A LA FUERZA DE TRACCIÓN**

El ensayo de resistencia a la tracción se efectúa empleando muestras rectangulares de variadas dimensiones: 254 x 130, 150 x 10, 100 x 15, 100 x 15, 100 x 10, 80 x 10 mm, etc. La separación inicial entre mordazas varía mayormente entre 50 y 100 mm y la velocidad de desplazamiento entre 0,2 y 8,3 mm/s. Sin embargo, las características propias de las películas comestibles pueden requerir algunos procedimientos específicos en la preparación de las probetas. Distintos autores han trabajado con muestras con forma de pesa, otros con muestras de geometría central rectangular y extremos cuadrados, para lograr mayor área de contacto entre la muestra y la mordaza y así una mejor sujeción en las mismas. Sin embargo, este procedimiento de obtención de muestras puede generar imperfecciones que determinen, entre otras fallas, un corte prematuro (Espezua y Ponce, 2014).

También se ha visto la protección de los extremos de las muestras rectangulares con cuadrados de cartulina sujetos con cinta doble adhesiva, para que la cartulina evite la rotura prematura y prevenga el deslizamiento de las muestras cuando se

sujeten en las mordazas del equipo. A partir de las curvas de fuerza-deformación registradas en el ensayo de tracción se obtienen los parámetros de fuerza máxima expresada en Newton (Fmax) y deformación máxima expresada en mm (Dmax). Los valores de fuerza (N) se dividen por el área de la sección transversal de la muestra (mm<sup>2</sup>) para obtener los valores de esfuerzo (MPa).

Los datos de deformación (mm) se transforman en valores de deformación expresada como porcentaje respecto de la separación inicial entre mordazas. Luego se construyen las gráficas de esfuerzo-deformación y se obtienen los parámetros esfuerzo a la ruptura, expresado en MPa (E<sub>rup</sub>) y deformación a la ruptura expresada en porcentaje (D<sub>rup</sub>) como lo indica Chen et al. (2008). Por último, a partir de la pendiente inicial de dicha curva se obtiene el módulo elástico, expresado en MPa.

De este ensayo, se pueden determinar:

Tensión máxima ( $\sigma_{\text{máx}}$ ) es la máxima tensión que puede soportar el film durante el ensayo de tracción antes de romperse. Se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma_{\text{máx}} = \frac{F_{\text{máx}}}{S} \quad [2.1]$$

Se expresa en MPa y se obtiene del cociente entre la máxima fuerza (F<sub>máx</sub>) que es capaz de soportar el film y su sección transversal (S) a tiempo cero.

- **OPACIDAD**

La transparencia u opacidad se encuentra entre las propiedades ópticas más importantes a la hora de evaluar la apreciación del color y aspecto de un producto, sobre todo de aquellos que se utilizan como recubrimiento o envase. Dicha propiedad se presenta en varios grados. Se dice que un material es transparente cuando deja pasar fácilmente la luz visible a través de él; translúcido, cuando el paso de luz hace que las formas no se observen nítidamente; y opaco, cuando no deja pasar apreciablemente la luz. De acuerdo con la mecánica cuántica, un

material será opaco a cierta longitud de onda cuando en su esquema de niveles de energía haya alguna diferencia que corresponda con esa longitud de onda como lo menciona (Sánchez, Fabra y Talens, 2010).

Para aplicaciones técnicas, se estudia la transparencia u opacidad de la radiación infrarroja, a la luz ultravioleta, a los rayos X, a los rayos gamma y otros tipos de radiación. La opacidad se cuantifica como absorbancia o el porcentaje de intensidad lumínica que es absorbida por la muestra y se utiliza un colorímetro o espectrofotómetro para su determinación.

La función de opacidad generalmente se ve afectada tanto por la frecuencia de la luz que interacciona con el objeto como con la temperatura de dicho objeto, de este modo, es importante recalcar que existen diferentes funciones de opacidad para diferentes objetos en diferentes condiciones físicas.

### **2.2.2 USOS DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

La industria alimentaria constantemente está desarrollando nuevas metodologías de conservación, con el fin de lograr alargar la vida útil de los alimentos y conservar sus características organolépticas, para ofertar productos de calidad, inocuos y que no causen daño al consumidor. Con el fin de mitigar estos problemas en los alimentos, se desarrolló la aplicación de recubrimientos comestibles como una alternativa para contrarrestar estos factores influyentes en la industria alimentaria, en la actualidad se producen recubrimientos comestibles a base de lípidos, proteínas y polisacáridos, siendo estos los más utilizados por su biodisponibilidad y bajo costo de aplicación.

### **2.3. RECUBRIMIENTOS A BASE DE POLISACÁRIDOS**

Los recubrimientos hechos a base de polisacáridos han sido los más utilizados para recubrir frutos, y esto es debido a sus propiedades mecánicas de adherencia y flexibilidad en la superficie de los productos hortofrutícolas. Meza (2006), formuló un recubrimiento utilizando tres diferentes polisacáridos; almidón de maíz, goma

guar y pectina de bajo metoxilo. Al incrementar la concentración de almidón de maíz, se mejoró la adherencia y la flexibilidad del recubrimiento en la superficie de frutos como pera (*Pyrus communis* L), limón (*Citrus limon* L) y aguacate (*Persea americana* M). Sin embargo, las concentraciones de almidón de maíz del 2% o mayores ocasionaron frutos aparentemente deshidratados y opacos, además de ser recubrimientos quebradizos y fibrosos.

La goma guar y la pectina de bajo metoxilo, mostraron buena viscosidad y adherencia aun en concentraciones altas. Varios autores atribuyen otros efectos a los recubrimientos a base de polisacáridos, por ejemplo, Viña et al. (2007), recubrieron coles de Bruselas (*Brassica oleracea* L) con una mezcla de almidón de maíz, hidróxido de sodio y glicerol, conservando algunos atributos de calidad del producto, tales como, firmeza y color. Además, la pérdida de peso fue menor en comparación con el control. En otra investigación realizada por Ribeiro, Vicente, Teixeira, y Miranda. (2007), realizaron una mezcla de almidón, ácido cítrico y sorbitol para cubrir frutos de fresa y retardar su senescencia.

Los recubrimientos a base de polisacáridos mostraron mejores propiedades de barrera a los gases que el control como lo indican Oms, Soliva., y Martín. (2008), los cuales formularon un recubrimiento a base de alginato, pectina y goma de gelana, obteniendo un incremento en la resistencia de pérdida de agua y reducción en la producción de etileno en peras cortadas.

En frutos de mango, Sothornvit y Rodsamran (2008), probaron una película elaborada con pulpa de mango del cual analizaron sus propiedades de barrera y mecánicas. Los mangos cubiertos con el recubrimiento redujeron la pérdida de peso en 5 y 10% a temperaturas de almacenamiento de 30 y 5 °C respectivamente. Dicha película mostró altos valores de permeabilidad al vapor de agua y un valor intermedio de permeabilidad al oxígeno, adicionalmente, los frutos cubiertos con esta película mostraron una mejor textura que los no cubiertos; respecto a sus propiedades mecánicas ellos reportaron que la película de este material tuvo una

mayor elongación e índice de elasticidad en comparación con otras hechas de almidón de frutas y plastificadas con glicerol (Ramos et al., 2010).

### **2.3.1. QUITOSANO**

El quitosano es un polisacárido lineal que consiste en (2, 4) -enlace-2-amino desoxi- $\beta$ -d-glucano; se obtiene a través de la desacetilación de la quitina, que, después de la celulosa, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza como lo menciona Aider (2010). Este compuesto podría usarse para el desarrollo de recubrimientos y películas comestibles a nivel industrial debido a sus características biodegradables, biofuncionales, biocompatibles, no tóxicas, formadoras de película y antimicrobianas (Sun et al., 2016), presenta características biofuncionales, por lo que podría ser una alternativa viable para sustituir los métodos de control de microorganismos tradicionales (González et al., 2005).

- **OBTENCIÓN**

Younes y Rinaudo (2015) definen al quitosano como una familia de polímeros obtenidos de diferentes grados de desacetilación de quitina. Al igual que Lizardi, Argüelles y Goycoolea (2016) mencionan que una característica distintiva de la estructura química del quitosano es la presencia predominante de grupos amino que pueden ser ionizados, convirtiéndose en medios ácidos, promoviendo la disolución del quitosano y el comportamiento polielectrolítico en la solución.

El grado de acetilación, que refleja el equilibrio entre los dos tipos de residuos, diferencia la quitina del quitosano. Durante la desacetilación se eliminan los grupos acetilo, pero se produce una reacción de despolimerización indicada mediante cambios en el peso molecular del quitosano (Younes et al., 2015).

El quitosano se puede encontrar en conchas de crustáceos marinos y es un componente importante de la pared celular de ciertos hongos, particularmente aquellos pertenecientes a la clase *Zygomycetes*. La quitina puede convertirse en quitosano mediante reacciones enzimáticas o procesos químicos. Los métodos

químicos se utilizan ampliamente con fines comerciales debido a su bajo costo e idoneidad para la producción en masa (Bautista, Ventura, Correa y Corona, 2017).

### **2.3.2. USO DE QUITOSANO COMO RECUBRIMIENTO COMESTIBLE**

El quitosano (CH) es uno de los polisacáridos más utilizados, el mismo se obtiene del exoesqueleto de crustáceos, alas de algunos insectos, paredes celulares de hongos, algas y otros, mediante la desacetilación parcial de la quitina, ofrece un amplio potencial que puede ser aplicado a la industria alimentaria debido a sus propiedades fisicoquímicas particulares, tales como biodegradabilidad y biocompatibilidad con los tejidos humanos. Este compuesto de origen biológico se ha convertido en los últimos años en el preferido debido a su capacidad para formar RC, por no ser tóxico, su abundancia en la naturaleza y a sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas que lo hacen ser de vital interés para la preservación de muchos alimentos (Aider, 2010).

Su aplicación como recubrimiento disminuye la pérdida de peso y mejora la calidad de frutos y hortalizas como lo mencionan Castro, Rivadeneira, Mantuano, Santacruz y Ziani (2014). El quitosano es un compuesto con características biofuncionales, por lo que podría ser una opción factible para mejorar o sustituir los métodos tradicionales de control microbiano. Se utiliza para formar películas que se emplean en la industria biomédica, farmacológica, oftalmológica, cosmética y alimenticia (Kumar, 2000; Tharanathan y Kittur, 2003).

Estudios recientes realizados con quitosano han estimulado a que exista un importante interés en la industria de los alimentos debido a que este material posee características muy importantes como son biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad (Dash, Chiellini, Ottenbrite y Chiellini, 2011).

Las soluciones de quitosano muestran buena capacidad para la formación de recubrimientos, así como actividad antimicrobiana, que lo hacen potencialmente útil para el desarrollo de biopolímeros antimicrobianos como lo indican Dutta, Tripathi, Mehrotra y Dutta, (2009). El efecto antimicrobiano parece ser el resultado de

cambios en la permeabilidad celular producida por la carga del quitosano (Devlieghere, Vermeulen y Debevere, 2004) así como características propias del quitosano como su peso molecular y grado de desacetilación (Zheng et al., 2003). El pH y el tipo de ácido donde es disuelto el quitosano, así como las condiciones de almacenamiento pueden también influenciar las propiedades antimicrobianas, (Bégin y Van, 1999; Leceta, Guerrero, Ibarburu, Dueñas y De la Caba, 2013).

En la industria de frutas y hortalizas se ha encontrado que el CH tiene la capacidad de retardar el crecimiento de algunos microorganismos que son mortales en la etapa de postcosecha. Aunque la actividad antimicrobiana del quitosano ha sido comprobada contra diferentes tipos de microorganismos, varios estudios han demostrado que ésta es mayor contra bacterias que contra hongos como lo mencionan Ziani, Fernández, Royo y Maté (2009).

En la literatura se ha confirmado que la capacidad fungicida del quitosano está correlacionada en gran medida con su concentración, encontrando a su vez que medios suplementados con altas concentraciones de quitosano son capaces de inhibir el crecimiento de micelios, en patógenos tales como *Alternaria alternata*, *Bipolaris oryzae*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*, *Fusarium oxysporum*, entre otros (Bautista Baños et al., 2006; Badawy y Rabea, 2011).

El quitosano es un compuesto que presenta características biofuncionales, por lo que podría ser una alternativa viable para sustituir los métodos de control de microorganismos tradicionales, además, puede utilizarse sin problemas para elaborar recubrimientos comestibles (González et al., 2005). Los recubrimientos con quitosano forman una cubierta en la superficie de los frutos, que actúa como una barrera mecánica para proteger al fruto de infecciones causadas por hongos, ayudando así a disminuir las enfermedades causadas durante el almacenamiento por *Rizophus stolonifer* (Ehrenb: Fr), *Botrytis cinerea* Pers: Fr, y *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl entre otras (El Ghaouth, Arul, Asselin y Benhamou, 1992; Hernández, 2002; Meng, Li, Liu y Tian, 2008; Sánchez, 2008).

A la fecha, se han desarrollado diferentes recubrimientos comestibles con quitosano. El Ghaouth et al. (1992), elaboraron cubiertas con quitosano en una concentración de 15 mg mL<sup>-1</sup> e inhibieron el crecimiento de *B. cinerea* y *R. stolonifer* en fresa. Los signos de infección de estos hongos aparecieron 5 días después de ser almacenados a 13 °C, mientras que en el control estos síntomas fueron visibles al primer día. Al final del almacenamiento se redujo hasta en 60 % más la infección en fresas tratadas con quitosano.

Por su parte Romanazzi, Nigro, Ippolito, Divenere y Salerno. (2002), reportaron una actividad fungicida significativa del quitosano cuando se aplicó como recubrimiento en frutos de uva (*Vitis vinifera* L.) y fresa contra *B. cinerea*. Jiang y Jiang (2005), reportaron que las cubiertas de quitosano a una concentración del 2%, lograron inhibir la aparición de microorganismos en frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) al final de la evaluación (12 h de incubación); sin embargo, al incrementar la concentración de quitosano no aumentaron significativamente los efectos benéficos del quitosano en el control de microorganismos (Zhang y Quantick, 1997).

Chien, Sheu, y Yang. (2007), mostraron que al aplicar quitosano al 2% como recubrimiento para frutos de mango, se observó que al término del almacenamiento no hubo presencia de microorganismo patógeno alguno. Aunque en la investigación realizada por (Robson, Ferreira, Alvarenga, y Almeida, 2008), no se señala el género y la especie de los patógenos controlados, se observó que la aplicación de cubiertas de agar con quitosano y ácido acético en ajos (*Allium sativum* L.), hubo 20% menos infección que en los no tratados.

### **2.3.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO**

Su actividad fungicida ha sido reportada en varios estudios, inhibiendo el crecimiento de los hongos causantes de enfermedades poscosecha, manifestándose esta inhibición en el crecimiento micelial y esporulación o en ambos estados de desarrollo. Se ha mencionado que el efecto fungicida del quitosano está



en función de la concentración utilizada, el peso molecular y grado de desacetilación del mismo. El quitosano se adhiere a la membrana plasmática de los hongos gracias a las interacciones electrostáticas entre las cargas positivas del quitosano y a las cargas negativas de los fosfolípidos formadores de membrana. El Ghaout et al. (1992) mencionan que una vez adherido a la membrana, causa una filtración a través de ella hasta llegar al citosol; el quitosano utiliza energía para atravesar la membrana, sin embargo, este proceso no involucra al proceso de endocitosis.

Los hongos normalmente mantienen en su citosol niveles muy bajos de  $\text{Ca}^{2+}$ , esto es gracias a la barrera que forma la membrana plasmática, la cual posee reguladores herméticos que impiden el paso libre de gradientes de  $\text{Ca}^{2+}$ , este proceso en el que también se involucra al mecanismo homeostático, donde dentro del citosol se regula la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ , enviando fuera de la célula al exceso de  $\text{Ca}^{2+}$ , o los almacena en organelos de la propia célula (Ramos et al., 2010).

Por lo tanto, al introducirse el quitosano al interior del citosol se transforma drásticamente el mecanismo homeostático, ya que al formar canales en la membrana permite el paso libre de gradientes de calcio, ocasionando una inestabilidad en la célula hasta su muerte. Sin embargo, no todos los hongos presentan la misma sensibilidad al quitosano y esto puede ser debido a la composición de fosfolípidos de membrana y particularmente a la naturaleza de sus cargas neutras (Palma et al., 2008; 2009; 2010).

Hay estudios que reportan que la actividad antimicrobiana de este compuesto depende de diferentes factores, incluyendo la cepa, el peso molecular, la concentración, el grado de desacetilación, el tipo de quitosano, entre otros (Bautista et al., 2006; Li et al., 2008). De acuerdo con Hernández, Plascencia y Cortez. (2016) el grado de desacetilación es el de mayor influencia en la actividad antimicrobiana del quitosano, ya que el número de grupos amino libres en esta molécula se ha relacionado con esta actividad.

Hoy en día, existe evidencia acerca de los mecanismos por los cuales el quitosano actúa en contra de bacterias y hongos fitopatógenos. Como se indica en numerosos estudios, los cambios en la permeabilidad celular de los microorganismos se deben a la interacción entre la naturaleza policationica del grupo amino del quitosano y las cargas electronegativas en la superficie externa de la membrana fúngica o bacteriana. Con esta interacción electrostática, que depende de la composición de la membrana plasmática, puede haber afinidad elevada en membranas sensibles que contienen ácidos grasos poliinsaturados (Dutta et al., 2009; Palma et al., 2010).

Por otra parte, Peña, Sánchez y Calahorra (2013) concluyeron que la fuerte unión del quitosano con la membrana de los microorganismos conduce a graves desequilibrios celulares de omeostasia iónica de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  causando la salida de pequeñas moléculas, incluyendo fosfatos, nucleótidos y sustrato de reacciones enzimáticas que eventualmente afectan la respiración fúngica y la fermentación.

El quitosano también interfiere en la síntesis de mRNA y proteínas penetrando en los núcleos de los hongos (Henics y Wheatley, 1999); además, actúa como agente quelante de metales y nutrientes esenciales, induciendo la inanición de hongos y, por lo tanto, la inhibición del crecimiento (Ren, Liu, Li, Dong y Guo, 2012). Dicha interferencia es un mecanismo que involucra la capacidad del quitosano para pasar a través de la membrana celular de un microorganismo, posteriormente unirse al ADN e interferir con la síntesis de proteínas. Adicionalmente, Gutiérrez et al. (2016) reportaron cambios significativos en la expresión génica del patógeno y del huésped en datos preliminares del análisis transcriptómico de la interacción quitosano-*Colletotrichum*-aguacate 'Hass'.

Bautista, Barrera, Hernández y Rodríguez (2016b) mencionan que la interacción electrostática entre el quitosano y el microorganismo se observa mediante alteraciones dramáticas en la estructura de la pared celular y la membrana plasmática de los hongos tratados.

Referente a las propiedades de elicitación del quitosano, varios estudios han reportado que este compuesto puede inducir una serie de actividades enzimáticas y la producción de diversos compuestos en frutas y hortalizas que se correlacionan con las reacciones de defensa de las plantas frente al ataque de patógenos. Sobre esto, Berúmen, Coronado, Ochoa, Chacón y Gutiérrez (2015), Romanazzi y Feliziani (2016) y Sivakumar, Malick, Korsten y Thompson (2016) mostraron que las aplicaciones pre y poscosecha del quitosano aumentaron la actividad de la fenilalanina amonio liasa, quitinasa (endo y exocitinasas) y de la  $\beta$ -1,3-glucanasa en varias frutas tropicales y caducifolias, incluyendo varios cultivares de tomate, lichi, uva de mesa, pera, durazno y mango.

- **PREPARACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE QUITOSANO**

El Quitosano ha sido aplicado en zanahorias, Leceta, Molinaro, Guerrero, Kerry y De la Caba (2015). Mango, Cissé, Polidori, Montet, Loiseau y Ducamp (2015). Chirimoya, Liu et al. (2016). Níspero, Petriccione et al. (2015). En kiwi rojo, Kaya, Česonienė, Daubaras, Leskauskaitė y Zabulionė (2016).

Se obtiene disolviendo 10,0 g kg<sup>-1</sup> de quitosano en solución de ácido acético (pH 2,0 a 2,3) en virtud de una agitación continua en una placa magnética 2 días a 40°C. Después de la mezcla, la solución formadora de recubrimiento se desgasifica al vacío y se filtra para eliminar las partículas no disueltas. Otra metodología indica que la solución se prepara disolviendo quitosano (1,5:1,5 g) en agua destilada (80 mL), con un contenido de ácido láctico (0,7 mL), con agitación usando un agitador magnético, se incuba toda la noche a 22°C, se ajusta pH a 5,5, se adiciona glicerol (25% p/p de quitosano) y la solución es agitada a temperatura ambiente por 30 minutos (Cissé et al. 2015).

En trabajos realizados por Santacruz, Rivadeneira y Castro (2015); Castro, Rivadeneira, Mantuano, Santacruz y Ziani (2014); Castro et al. (2017); Castro, Mantuano, Coloma y Santacruz. (2017); Castro, Rivadeneira y Santacruz (2018)

utilizaron quitosano al 1% de concentración (p/v) diluido en una solución de ácido acético al 1% (v/v).

### **2.3.4 MUYUYO (*Cordia lutea* Lam.)**

*C. lutea*, es un arbusto caducifolio de la familia *Boraginaceae* que produce una baya translúcida, elíptica, con una pulpa blanquecina y pegajosa (González, García y Correa, 2005; Motto, 2005; Granda et al., 2006). Se ha reconocido que la goma de *Cordia*, un polisacárido aniónico, produce películas transparentes y flexibles con una excelente barrera al oxígeno (Haq et al., 2014b) y propiedades emulsionantes (Benhura et al., 2004). La goma de chía también contiene compuestos antioxidantes que pueden ayudar a proteger los productos sensibles al oxígeno (Haq et al., 2013a).

- **PROPIEDADES, APLICACIÓN Y ESTUDIOS REALIZADOS EN EXTRACTOS DE *Cordia***

El extracto de *C. lutea* tiene buenas propiedades de adhesión, por lo tanto, es un candidato ideal para películas y recubrimientos. Existen estudios previos sobre la elaboración de películas comestibles utilizando goma de *Cordia myxa* (Haq et al., 2014b), aplicaciones de goma de otras especies de *Cordia* como material de recubrimiento (Haq et al., 2013a; Haq y Hasnain, 2013b, Haq y Hasnain, 2014a; Haq et al., 2016). Sin embargo, no hay estudios de la elaboración de películas de *C. lutea*.

Existen muy pocas investigaciones en materiales biológicos de la familia *Cordia*. No hay estudios microbiológicos, in vitro o in vivo, realizados con respecto a *C. lutea*, Adeosun et al. (2013) mostraron que el aceite esencial de la corteza del tallo de *Cordia sebestena* tenía un potencial antioxidante prometedor que sugería que *C. sebestena* podría explotarse en las industrias de medicamentos y alimentos.

La aplicación de recubrimientos comestibles se podría considerar como una tecnología futurista, el desarrollo de esta técnica de conservación de alimentos está

ganando terreno en el campo de conservación alimentaria, debido a su bajo costo, biodisponibilidad, biodegradabilidad, característica inocua y sus múltiples aplicaciones no solo en conservación de frutas y vegetales en poscosecha, sino también en productos semiprocesados y de origen cárnico, tendencias que obligan al desarrollo constante de recubrimientos comestibles.

### **2.3.5. TENDENCIAS EN LA APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

En la actualidad, las líneas principales de investigación van dirigidas a la formación de las matrices poliméricas e incorporación de nutrientes o ingredientes bioactivos mediante el empleo de nanotecnologías como la microencapsulación y la formación de nanopelículas mediante el sistema de multicapas. La microencapsulación de compuestos bioactivos (enzimas, probióticos, prebióticos, ácidos grasos omega 3) favorece su protección frente a situaciones extremas (calor, humedad) que comprometen su estabilidad y facilita su liberación controlada (Begoña, Peña y Sánchez, 2015).

Por otra parte, el transporte de compuestos bioactivos es importante debido a que los consumidores día a día exigen que los alimentos frescos y mínimamente procesados estén exentos de sustancias de síntesis química y buscan aquellos enriquecidos con sustancias de origen natural que traigan beneficios para su salud y que mantengan las características nutritivas y sensoriales de los productos adquiridos (Mantilla, Castell, Gomes y Moreira, 2013), razón por la que se ha prestado una mayor atención a la búsqueda de nuevas sustancias de origen natural que permitan actuar como posibles fuentes alternativas de antioxidantes y antimicrobianos como lo mencionan Quintero, Falguera y Muñoz (2010).

De igual forma cabe resaltar el sistema de multicapas el cual consiste en la inmersión del producto en dos o más soluciones formadoras de películas que contienen especies cargadas de signos opuestos (Kalia y Parshad, 2015). Por ejemplo, una combinación de capas sucesivas de quitosano, poli-L-lisina, alginato,

pectina, con la incorporación de ingredientes naturales antimicrobianos y antioxidantes, sería un ejemplo de recubrimientos multicapa “capa a capa” (Begoña et al., 2015).

En conclusión, como lo indican Robles et al. (2013), los recubrimientos comestibles son estructuras capaces de transportar sustancias que traen beneficios no sólo para el alimento, sino que también pueden generar bienestar mediante la encapsulación de compuestos bioactivos, lo cual ofrece la posibilidad de desarrollar productos nuevos e innovadores con efecto nutracéutico o funcional (Silva, Ihl, Sobral, Gómez y Bifani, 2013).

Es indispensable reconocer que los recubrimientos comestibles deben ser evaluados con respecto a su estabilidad microbiológica, adhesión, cohesión, humectabilidad, solubilidad, transparencia, propiedades mecánicas, sensoriales y de permeabilidad tanto al vapor de agua como a los gases (Silva et al., 2013), ya que de éstas se pueden predecir y optimizar su composición y comportamiento (Quintero et al., 2010). En la actualidad los estudios siguen encaminados hacia la caracterización de nuevos recubrimientos basados en hidrocoloides de fuentes no convencionales y hacia la determinación de la capacidad que estas poseen para liberar compuestos con funciones preestablecidas (Fernández, 2015).

## **CAPITULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO**

### **3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El desarrollo de esta investigación se la efectuó el Laboratorio de Investigación de Ciencias de Alimentos de Facultad de Ciencias Agropecuarias ubicado en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), el mismo que geográficamente se encuentra ubicado entre las siguientes coordenadas 0°57'10' Latitud Sur 80°44'43' Longitud Oeste y una Altitud de 6 msnm, Manta-Manabí-Ecuador.

### **3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El tiempo fue de 6 meses.

### **3.3. FACTORES EN ESTUDIO**

Los factores que se manejaron para el desarrollo y estudio de recubrimientos comestibles fueron:

- Factor a: Concentración de quitosano.
- Factor b: Concentración de muyuyo.

#### **➤ NIVELES**

Para el factor concentración (% m/v) de quitosano en relación a 100 mL de solución se utilizaron los siguientes niveles:

- $a_1 = 0,5\%$
- $a_2 = 1\%$
- $a_3 = 1,5\%$

Para el factor concentración (% v/v) de muyuyo en relación a 100 mL de solución se utilizaron los siguientes niveles:

- $b_1 = 40\%$
- $b_2 = 60\%$

### 3.4. TRATAMIENTOS

Dada la combinación de los diferentes niveles contenidos en cada factor se obtuvieron como resultado los siguientes tratamientos:

Cuadro 3.1. Detalle de los tratamientos

Tratamientos	Códigos	Descripción	
		Concentración (Quitosano) (%)	Concentración (Muyuyo) (%)
T <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	0,5	40
T <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	0,5	60
T <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	1,0	40
T <sub>4</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	1,0	60
T <sub>5</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	1,5	40
T <sub>6</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	1,5	60

### 3.5. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL

#### 3.5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Esta investigación fue de tipo experimental, se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo bifactorial AxB; Se realizaron tres replicas para cada tratamiento.

#### 3.5.2. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para este trabajo se utilizaron cajas petri plásticas de 9 cm de diámetro estériles, se colocaron 20 mL de solución formadora de recubrimiento. De cada caja petri se obtuvo una biopelícula; las soluciones de recubrimiento fueron secadas a 60°C durante 48 horas, después fueron acondicionadas a 25°C para su posterior desprendimiento y respectivos análisis.



### 3.5.3 ESQUEMA DE ANOVA

El esquema de ANOVA se detalla en el cuadro 3.2.

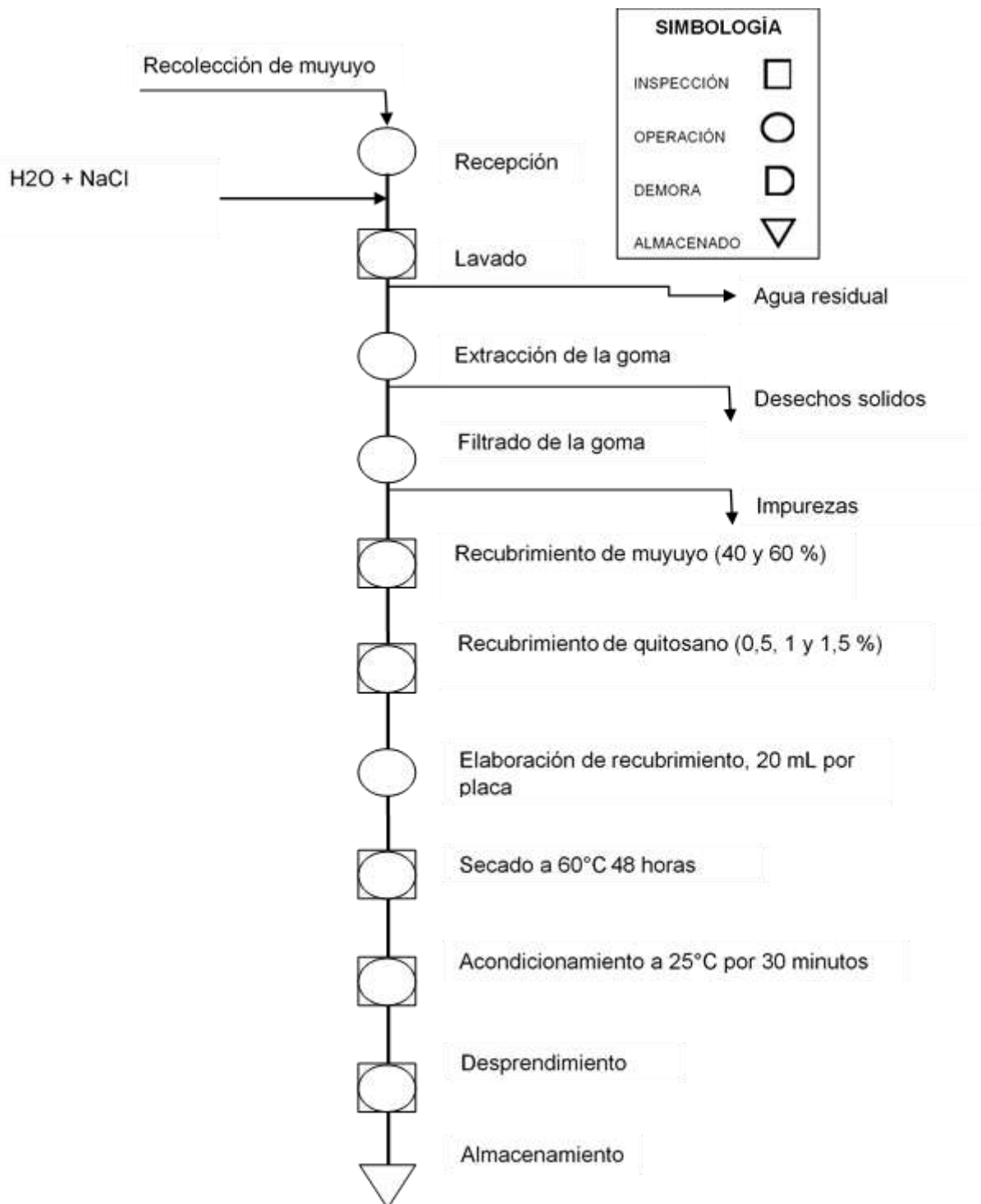
**Cuadro 3.2.** Esquema de ANOVA bifactorial A\*B

<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>GI</b>
Total	17
Factor A	2
Factor B	1
A * B	2
Error	12

Las variables solubilidad y cohesividad no cumplieron el supuesto de Levene, por lo anterior todas a excepción de espesor fueron analizadas por la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Sólo la variable espesor se la analizó por prueba paramétrica (ANOVA)

### 3.6. MANEJO DEL EXPERIMENTO

El desarrollo de este trabajo de investigación se llevó a cabo siguiendo la secuencia descrita en el diagrama de proceso (Figura 3.1).



**Gráfico 3.1.** Diagrama de proceso para la elaboración de recubrimiento comestible de muyuyo y quitosano

### 3.7. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

El quitosano utilizado fue proporcionado por el Laboratorio de Investigación de Ciencias de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, el cual fue donado por la Universidad Pública de Navarra, España. Las especificaciones técnicas se describen a continuación: peso molecular 149 kDa (kilo Dalton) y grado de desacetilación 95%.

Los frutos de muyuyo que se usaron para realizar la investigación fueron recolectados en los bosques secos, del cantón Manta, se utilizaron frutos maduros seleccionados, descartando aquellos que mostraron signos de daño en la piel.

- **Recepción de las frutas de muyuyo:** Se inició el proceso en los terrenos baldíos circundantes a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, se realizó la recolección de los frutos de muyuyo, los cuales estaban maduros, en buen estado y sin abrasiones, estas características fueron necesarias para poder ser procesados (ver anexo 1).
- **Lavado:** Se realizó un lavado de los frutos de muyuyo, para este proceso se utilizó solución de hipoclorito de sodio al 0,5% de concentración, con el fin de disminuir la carga microbiológica de la materia prima a utilizar.
- **Extracción de la goma de muyuyo:** Se procedió a realizar la extracción por compresión manual de los frutos con el fin de obtener la mayor cantidad de goma.
- **Filtrado de la goma:** Se realizó un proceso de filtrado utilizando tela de lienzo con el fin de separar los desperdicios resultantes del proceso de extracción.
- **Preparación de la solución de goma de muyuyo:** Se procedió a realizar las concentraciones requeridas, se realizó un proceso de calentamiento (80°C por 5 minutos).

- **Preparación de la solución de quitosano:** La solución de quitosano fue preparada al 1% en una solución de ácido acético al 1% en relación (v/v) ver anexo 2.

- **Elaboración del recubrimiento**

La preparación de la película se realizó de la siguiente manera. La goma de *C. lutea* se diluyó con agua en dos proporciones, 60 y 40% (goma/agua v/v). La solución obtenida se sometió a un tratamiento térmico desde 25°C hasta 80°C, con agitación a 80°C durante 5 minutos. La solución se homogeneizó a 11,000 rpm durante 4 minutos en un Ultra-Turrax PT-2100 (POLY TRON, Suiza). Para la solución de quitosano, se preparó mediante soluciones de quitosano al (0,5; 1 y 1,5 %) en solución de ácido acético al 1%.

- **Vertido en placa**

Se vertieron 20 mL de la solución sobre placas de Petri plásticas de 9,5 cm de diámetro. Las placas fueron secadas en una cámara climática durante 48 horas a 60°C y 80% de humedad relativa. Posteriormente, las muestras se conservaron a 25°C y 80% de humedad relativa durante 24 h antes de que las películas formadas fueran desprendidas manualmente. Las variables a evaluar fueron las siguientes: (color, espesor, opacidad, resistencia a la tensión, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad y actividad antimicrobiana).

- **Secado:** El proceso de secado se realizó en una cámara climática a 60 y 80% de HR por 48 horas.

- **Acondicionamiento:** el proceso de acondicionamiento se llevó a cabo una vez concluidas las 48 horas de secado, se acondicionaron las cajas petri con los recubrimientos a 25 °C y 80% de HR durante 24 horas.

- **Desprendimiento:** se realizó el desprendimiento de forma manual con ayuda de una espátula, para tratar de no romper el recubrimiento comestible.

- **Almacenamiento:** Los recubrimientos fueron almacenados a 25 °C y 80% de HR. Los análisis físicos y microbiológicos fueron realizados inmediatamente después de realizar el proceso de desprendimiento (ver anexo 3).

### 3.8. VARIABLES DEPENDIENTES

#### 3.8.1. ESPESOR

El análisis se realizó por medida directa en tres secciones diferentes del recubrimiento (parte central y extremos), se utilizó un micrómetro (Mitutoyo, Japón), metodología propuesta por Santacruz et al. (2015).

#### 3.8.2. OPACIDAD

Las mediciones se realizaron según el método propuesto por Gómez et al. (2009). Donde se utilizó un fragmento del recubrimiento (1x3 cm), se cargó en un espectrofotómetro (VIS, Jenway, Reino Unido) y se determinó la absorbancia a 600 nm. La opacidad se estableció de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Opacidad} = \frac{\text{Abs}_{600}}{X} \quad [3.1]$$

Donde:

**Abs600=** Es la absorbancia a 600 nm

**X=** Es el espesor del recubrimiento en mm.

Los valores bajos de opacidad correspondieron a una alta transparencia

#### 3.8.3. RESISTENCIA A LA TENSIÓN (RT)

La resistencia a la tensión se determinó mediante una prueba de tracción utilizando un Texturómetro (Shimadzu EZ-LX, Japón). Se cargaron en el equipo fracciones de películas de 5 × 2 cm. La velocidad de la cruceta se ajustó a 10 mm/s. La resistencia a la tracción se determinó utilizando el software TRAPEZIUMX de acuerdo a la metodología propuesta por Santacruz et al. (2015).

### 3.8.4. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua se analizó de acuerdo con la norma ASTM (1996) y Debeaufort, Martin y Voilley (1993). Se utilizaron fragmentos de recubrimientos para sellar un orificio en la parte superior de una celda plástica. La celda contenía agua destilada, se ubicó en un desecador. El desecador se situó en una cámara climática durante 24 h a 25°C. Se tomaron tres pesos de la celda durante las 24 h de almacenamiento.

La PVA se calculó mediante la siguiente ecuación

$$\text{PVA} = \frac{\Delta m \cdot l}{A \cdot \Delta t \cdot \Delta p} \quad [3.2]$$

**Dónde:**

$\Delta m / \Delta t$  = Pérdida de humedad por unidad de tiempo ( $\text{g s}^{-1}$ ).

$A$  = Área del recubrimiento expuesto a la transferencia de humedad ( $\text{m}^2$ ).

$l$  = Espesor del recubrimiento (m).

$\Delta p$  = Diferencia de presión de vapor de agua entre los dos lados del recubrimiento (Pa).

Ecuación

$$\Delta p = \frac{\Delta RH}{100} \times \text{PVAP SAT} \quad [3.3]$$

**Dónde:**

$\Delta RH$  = Es el gradiente de humedad relativa entre la celda y el entorno.

**PVAP SAT=** Es la presión de vapor saturado de agua pura y es igual a 3160 Pa a 25°C.

### 3.8.5. SOLUBILIDAD

La solubilidad en agua del recubrimiento fue determinada mediante el método propuesto por Colla, Sobral y Menegalli. (2006) con modificaciones realizadas por Santacruz et al. (2015). Se secaron fragmentos de recubrimiento de 3 x 1 cm a 100°C hasta tener un peso constante. Se ubicó cada muestra en un vaso de precipitados con 50 mL de agua destilada, se agitó a 100 rpm. utilizando un agitador orbital (mrc, Alemania) por 24 h a temperatura ambiente. Se recogió el recubrimiento no disuelto, se llevó a una estufa a 100°C durante 24, después se determinó su peso seco.

El porcentaje de solubilidad fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ solubilidad} = \frac{\text{Peso inicial seco} - \text{Peso final seco}}{\text{Peso inicial seco}} \times 100 \quad [3.4]$$

### 3.8.6. ANÁLISIS DE COHESIVIDAD

El análisis de cohesividad se realizó de acuerdo a González, Alvis y Arrázola (2015). Los análisis se efectuaron mediante un Texturómetro marca Shimadzu (Modelo EZ LX, Japón), simulando la mordida humana, donde se realizó una doble compensación a 75% de deformación (estrés normal) y a una velocidad de cabezal de 1mm/s con un tiempo de 5 segundos entre compresiones.

### 3.8.7. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para probar la actividad antimicrobiana de los recubrimientos se utilizó la metodología propuesta por Chen, Wang y Weng (2010), con ligeras modificaciones. Se inocularon cajas petri con *Rhizopus spp*, *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, en Agar DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol), Difco y *Streptococcus mutans* en Blood Agar Base, Difco; Para la inoculación se utilizó 0,5 mL de cultivo de cada microorganismo, se incubaron durante 24 horas a 28°C. se cortaron discos

de recubrimiento de 5 mm de diámetro y se colocaron tres equidistantes en cada placa petri. Posteriormente las placas se incubaron a 28°C durante 48 h y se midió el área de la zona de inhibición en mm.

### **3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Para el análisis estadístico de las variables en estudio se utilizó el software spss versión 21 (libre) y se efectuaron las siguientes pruebas:

- a) A todas las variables en estudio se les efectuó los supuestos del ANOVA: de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad (Levene)
- b) Como las variables no cumplieron con los supuestos del ANOVA se procedió a realizar pruebas no paramétricas de kruskal Wallis.



## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para comprobar la distribución normal de los datos de las variables respuestas se procedió a realizar los supuestos del ANOVA (Normalidad y homogeneidad).

Las variables opacidad, resistencia a la tensión y permeabilidad no cumplen el supuesto de normalidad (Shapiro Wilk) debido a que su significancia es menor del 0,05 (cuadro 4.1) por lo anterior las variables que cumplieron el supuesto de normalidad se les realizó el segundo supuesto de homogeneidad (prueba de Levene).

**Cuadro 4.1.** Supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk a un 95% de confianza

	<b>Estadístico</b>	<b>Gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Espesor</b>	0,939	18	0,282
<b>Opacidad</b>	0,809	18	0,002**
<b>Resistencia_a_la_tensión</b>	0,887	18	0,035**
<b>Permeabilidad_al_vapor_de_agua</b>	0,849	18	0,008**
<b>Solubilidad</b>	0,924	18	0,153
<b>Cohesividad</b>	0,938	18	0,273

Las variables solubilidad y cohesividad no cumplieron el supuesto de Levene (cuadro 4.2) debido a que existió varianzas heterogéneas a causa de que su p-Valor es menor a 0,05 por lo anterior todas las variables por lo anterior todas las variables deben ser analizadas por la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, excepto la variable espesor que se la analizó por prueba paramétrica (ANOVA).

**Cuadro 4.2.** Supuesto de homogeneidad mediante prueba de Levene a un 95% de confianza

<b>FV</b>	<b>F</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
<b>Espesor</b>	2,443	5	12	0,095
<b>Solubilidad</b>	4,500	5	12	0,015**
<b>Cohesividad</b>	7,164	5	12	0,003**

## 4.1. ESPESOR

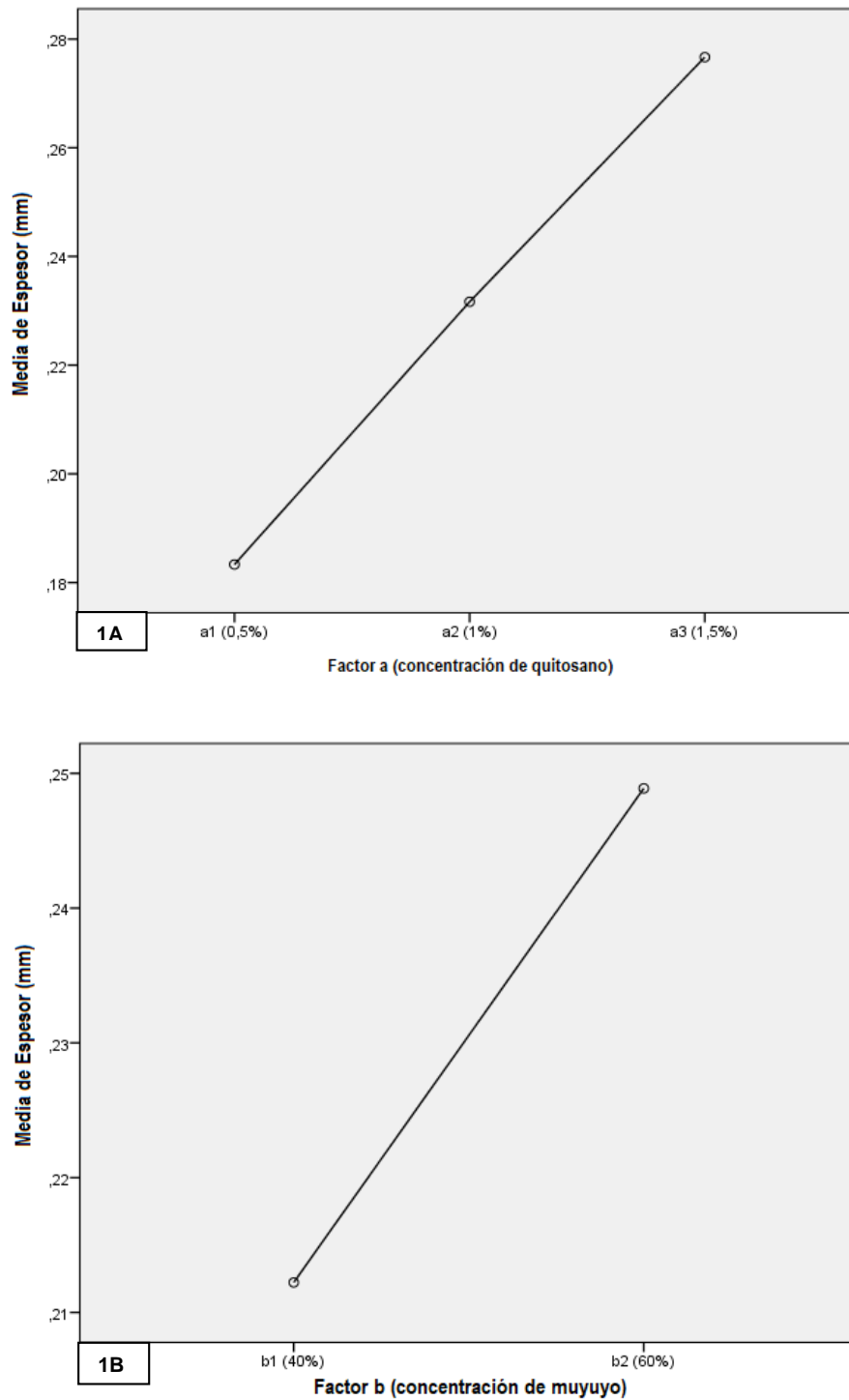
En el cuadro 4.3 se muestran los resultados para la variable espesor, los datos indican que existen diferencia estadística para los factores, no así con sus interacciones (axb), se realizó un gráfico de medias para cada factor con el fin de conocer cuál de sus niveles produce efectos.

**Cuadro 4.3.** ANOVA Variable (Espesor)

FV	gl	SC	MC	F	Sig.
<b>Total corregida</b>	17	0,034			
<b>Factor_a (% quitosano)</b>	2	0,026	0,013	123,842	0,000**
<b>Factor_b (% de muyuyo)</b>	1	0,006	0,006	57,316	0,000**
<b>Factor_a * Factor_b</b>	2	0,000	0,000	2,053	0,171
<b>Error</b>	12	0,001	0,000		

En la variable espesor se realizó la comparación de medias en los factores en estudio.

Los resultados mostrados en el (grafico 4.1) muestran las medias para los dos factores en estudio, (1A) indican que el nivel con menor espesor fue el a1 (0,5%) de quitosano, este incrementa en consecuencia del aumento de la concentración de quitosano teniendo que el nivel a3 (1,5%) de quitosano evidenció el mayor espesor en el recubrimiento, lo cual muestra de una forma clara que con una concentración mayor de quitosano ayuda a obtener recubrimientos con un mayor espesor. En cuanto al gráfico 1B muestra marcadamente que el menor espesor fue evidenciado en el nivel b1 (40%) de muyuyo; el cual se incrementa a medida que aumenta la concentración mostrando que el nivel b2 (60%) de muyuyo presentó el mayor espesor en el recubrimiento.



**Gráfico 4.1.** Comparación de Medias de los factores para la variable (Espesor)

Tomando como referencia los resultados expuestos anteriormente se puede indicar que la concentración de los componentes formadores de la matriz del recubrimiento

(quitosano-muyuyo) influyen claramente en el aumento o disminución del espesor del recubrimiento. El espesor del recubrimiento es un parámetro muy importante de acuerdo al tipo de alimento a recubrir, las propiedades mecánicas que se necesiten o de la naturaleza del producto final que se pretende cubrir.

El espesor de una película o recubrimiento se define por las propiedades de la emulsión, como la viscosidad o densidad y la influencia del proceso de secado. Cuando se seque el fluido, la película formada se definirá por las mismas propiedades, como densidad, viscosidad y tensión superficial, así como la velocidad de extracción de la superficie de la solución de recubrimiento y el porcentaje de sólidos (Cisneros y Krochta, 2002).

Otros autores atribuyen el espesor de la película como resultado del hinchamiento del polímero por absorción de agua como lo indica Park (1993). En el método de fundición en solución, la cantidad de sólidos vertidos en el molde afecta en gran medida el espesor de las películas resultantes. En estudios previos de películas emulsionadas, se han informado dos métodos diferentes en términos de cantidad de emulsión formadora de película (FFE) (Haq et al., 2016). En un método, se invierte el peso o volumen constante de FFE (Baümler, Carelli y Martini, 2014; Tongnuanchan, Benjakul, Prodpran y Nilsuwan, 2015), mientras que en otro método; el volumen de FFE se ajusta de manera que el peso constante de los sólidos se moldea en todos los tratamientos (Fabra, Jiménez, Atarés, Talens y Chiralt, 2009; Janjarasskul, Rauch, McCarthy y Krochta, 2014; Kowalczyk y Baraniak, 2014; Pérez y Krochta, 2001).

Para controlar el espesor de las películas se ha propuesto la modificación de la concentración de partida del polímero empleado, pero esto no siempre puede hacerse, pues implica un aumento de la viscosidad de la disolución, que puede conllevar a que esta no se extienda adecuadamente para formar capas finas (Gennadios, Weller y Testin, 1993; Cuq, Gontard y Guilbert, 1996). Además, Cuq, Gontard, Cuq y Guilbert (1992) mencionan que este incremento de concentración podría afectar desfavorablemente otras propiedades de la película.

El trabajo realizado por Zamudio, Vargas, Pérez, Bosquez y Bello (2006) mostró que el espesor de sus películas degradables de almidón de plátano fue de  $0,118 \pm 0,007$  mm. Santacruz et al. (2015) investigaron películas comestibles de almidón de papa y yuca obteniendo valores de 0,15 y 0,13 mm respectivamente. Todos estos resultados son menores a los obtenidos en el presente trabajo de investigación en donde se presentan espesores entre 0,17mm y 0,29mm. La mayoría de los films comestibles son de naturaleza hidrofílica y se ha encontrado una relación dependiente positiva entre la permeabilidad al vapor de agua y el espesor de las películas (Gennadios, Weller, Hanna y Froning, 1996; McHugh et al.,1993) consideraron que a medida que el espesor del film aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, en consecuencia, la presión parcial de vapor de agua de equilibrio en la superficie interior de la película se incrementa; de ahí la importancia de regular el espesor de película.

**Cuadro 4.4.** Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el factor a (concentración de quitosano)

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Opacidades la misma entre las categorías de Factor_A. (% quitosano).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Resistencia a la tensión es la misma entre las categorías de Factor_A. (% quitosano).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Permeabilidad al vapor de agua es la misma entre las categorías de Factor_A. (% quitosano).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,025	Rechazar la hipótesis nula.
4	La distribución de Solubilidad es la misma entre las categorías de Factor_A. (% quitosano).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
5	La distribución de Cohesividad es la misma entre las categorías de Factor_A. (% quitosano).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Como se observa en el cuadro 4.4 existe diferencia estadística significativa para todas las variables debido a que su p-Valor es menor a 0,05. Por lo anterior, se

procede a realizar gráficos de medias con el fin de ver cuál de los niveles es el mejor.

**Cuadro 4.5** Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el factor b (concentración de muyuyo)

	<b>Hipótesis nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de Opacidades la misma entre las categorías de Factor_b. (% muyuyo).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,401	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Resistencia a la tensión es la misma entre las categorías de Factor_b. (% muyuyo).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,233	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Permeabilidad al vapor de agua es la misma entre las categorías de Factor_b. (% muyuyo).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,005	Rechazar la hipótesis nula.
4	La distribución de Solubilidad es la misma entre las categorías de Factor_b. (% muyuyo).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,233	Rechazar la hipótesis nula.
5	La distribución de Cohesividad es la misma entre las categorías de Factor_b. (% muyuyo).	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,196	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

La prueba de Kruskal Wallis para el factor b mostrada en el (cuadro 4.5), indica que solo la variable permeabilidad muestra diferencia significativa debido a que su p-Valor es menor a 0,05, se procede a realizar gráfico de medias.

**Cuadro 4.6.** Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para tratamientos

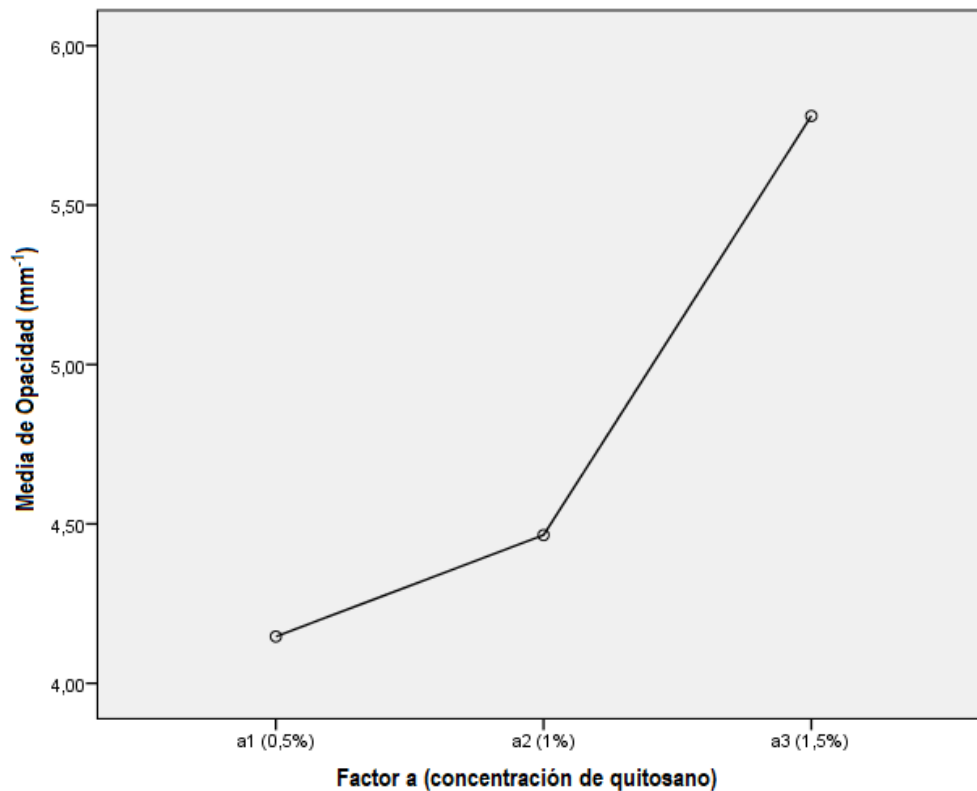
	<b>Hipótesis nula</b>	<b>Prueba</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de Opacidad es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,006	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Resistencia a la tensión es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,005	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Permeabilidad al vapor de agua es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,006	Rechazar la hipótesis nula.
4	La distribución de Solubilidad es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,005	Rechazar la hipótesis nula.
5	La distribución de Cohesividad es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,005	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos mostrada en el (cuadro 4.6) indica que todos los tratamientos presentan diferencia estadística significativa, se procede a realizar HDS de Tukey (cuadros 4.7; 4.8; 4.9; 4.10; 4.11).

## 4.2. OPACIDAD

Los resultados obtenidos en la variable opacidad (gráfico 4.2) muestra que el nivel a1 presentó el menor valor en la variable opacidad, mientras que el nivel a3 fue el que posee el valor más alto, este valor indica que la concentración de quitosano usada en la formulación del recubrimiento influye en la opacidad del recubrimiento, por lo que se debe tomar en cuenta al momento de direccionar hacia qué alimento

puede ser aplicado dicho recubrimiento, con el fin de no ocasionar inconvenientes en la imagen del producto recubierto.



**Gráfico 4.2.** Media de opacidad Factor a (concentración de quitosano)

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos (cuadro 4.6) indica que todos los tratamientos presentan diferencia estadística significativa debido a que su p-Valor es menor a 0,05 por lo tanto, se procede a realizar la prueba de subconjunto para la variable opacidad.



**Cuadro 4.7.** Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable opacidad ( $\text{mm}^{-1}$ )

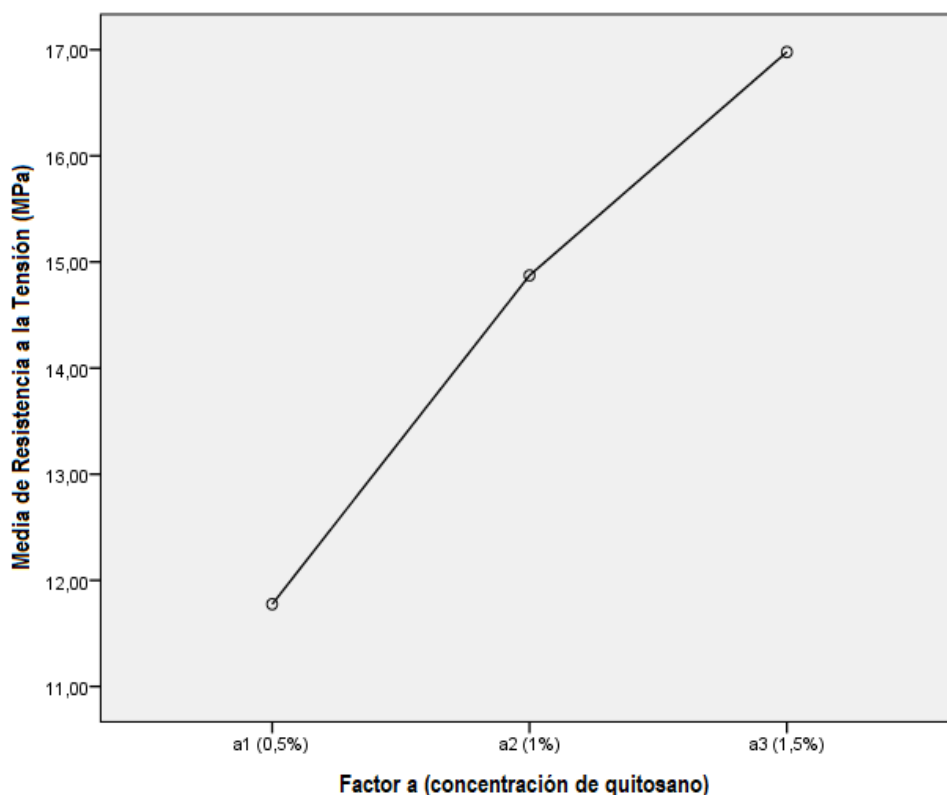
Subconjuntos homogéneos basados en OPACIDAD					
		Subconjunto			
		1	2	3	4
Muestra <sup>1</sup>	T1	2,000			
	T2		5,000		
	T3		9,333	9,333	
	T4		9,667	9,667	
	T5			14,000	
	T6				17,000
Probar estadística		. <sup>2</sup>	5,514	5,514	. <sup>2</sup>
Sig. (prueba de 2 caras)		.	,063	,063	.
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		.	,123	,123	.
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.					
<sup>1</sup> Cada casilla muestra el rango de media de muestras de OPACIDAD.					
<sup>2</sup> No se puede calcular porque el subconjunto sólo contiene una muestra.					

La HSD al 5% de probabilidad de error (cuadro 4.7) situó al T1 en primera categoría estadística debido a que presentó la menor opacidad con un valor de  $4,07 \text{ mm}^{-1}$  y en última categoría al T6 con un valor de  $6,11 \text{ mm}^{-1}$ , lo cual indica que (quitosano 0,5% - muyuyo 40% de concentración v/v) son las concentraciones más idóneas de los tratamientos estudiados para obtener un recubrimiento menos opaco y más transparente.

El trabajo realizado por Santacruz et al. (2015) en películas comestibles a base de almidón y quitosano mostró que las películas con 1% (p/p) de almidón mostraron menores valores de opacidad ( $5,38 \text{ mm}^{-1}$ ) en comparación con películas 0,5% de almidón cuyo valor de opacidad fue mayor ( $6,75 \text{ mm}^{-1}$ ). Asimismo, en un estudio realizado por Muñoz (2014) en películas comestibles a base de almidón de yuca y maíz mostró que los tratamientos que tenían la menor opacidad (valores de  $2,97 \text{ mm}^{-1}$  y  $3,37 \text{ mm}^{-1}$ ) eran los que contenían el mayor porcentaje de almidón (75%). En el presente trabajo se observa que los valores más altos de opacidad se reportaron para el recubrimiento con mayor concentración de quitosano (1,5%).

### 4.3. RESISTENCIA A LA TENSIÓN

Los resultados mostrados en el (gráfico 4.3) muestra que el nivel a1 presentó el menor valor en cuanto a resistencia a la tensión, mientras que el nivel a3 fue el que mostró el valor más alto, este valor indica que la concentración del quitosano influye directamente en la formulación de los recubrimientos el almidón de yuca presenta mejores características en cuanto a resistencia a la tensión, la RT es un parámetro muy importante en la caracterización de recubrimientos comestibles porque indica la resistencia mecánica que podría proporcionar a un alimento que este recubierto.



**Gráfico 4.3.** Media de Resistencia a la Tensión Factor a (concentración de quitosano)

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos mostrada en el (cuadro 4.6) indica que todos los tratamientos presentan diferencia estadística significativa debido a que su p-Valor es menor a 0,05 por lo tanto, se realiza la prueba de subconjunto para la variable resistencia a la tensión.

**Cuadro 4.8.** Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Resistencia a la Tensión (MPa)

		Subconjuntos homogéneos basados en RT					
		Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
Muestra <sup>1</sup>	T1	2,000					
	T2		5,000				
	T3			8,000			
	T4				11,000		
	T5					14,000	
	T6						17,000
Probar estadística		. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>
Sig. (prueba de 2 caras)		.	.	.	.	.	.
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		.	.	.	.	.	.
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.							
<sup>1</sup> Cada casilla muestra el rango de media de muestras de RT.							
<sup>2</sup> No se puede calcular porque el subconjunto sólo contiene una muestra.							

La HSD al 5% de probabilidad de error (cuadro 4.8) ubicó al T1 en primera categoría estadística debido a que presentó la menor resistencia a la tensión con un valor de 11,37 MPa y en última categoría al T6 con un valor de 17,31 MPa el cual presento la mayor resistencia a la tensión, estos resultados encontrados muestran que (quitosano 1,5% muyuyo 60% de concentración v/v) son las concentraciones más eficaces de los tratamientos estudiados para obtener un recubrimiento con mayor resistencia mecánica.

La resistencia a la tensión (RT), la elongación y la fuerza de corte son propiedades mecánicas de las películas comestibles que pueden ser usadas para describir el comportamiento del material (Espinoza, Pedroza, San Martín, Cruz y Tomás, 2011).

En un estudio realizado por Wang, Li, Holmes, Kerry y Kerry (2007) a distintas concentraciones de proteínas y polisacáridos para la formación de películas comestibles, se determinó que en general las películas formuladas con polisacáridos tienen mayores valores de fuerza tensil en comparación con las películas formuladas con proteínas. Sin embargo, las películas con polisacáridos tienen menores valores de porcentaje de elongación. Por ejemplo, las películas de gelatina al 8% presentaron una fuerza tensil de 6,60 MPa y un porcentaje de

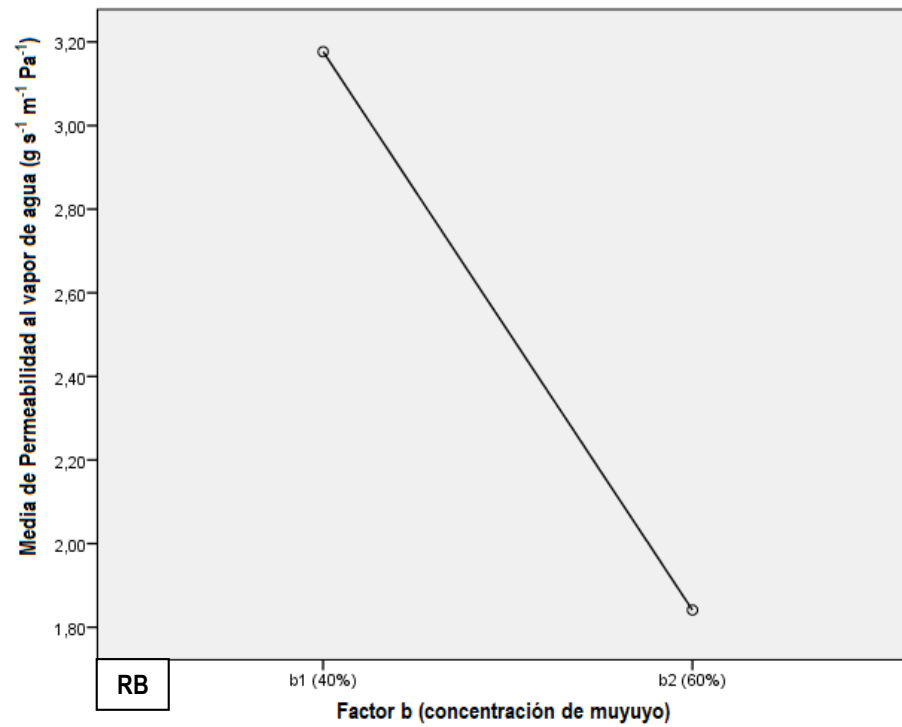
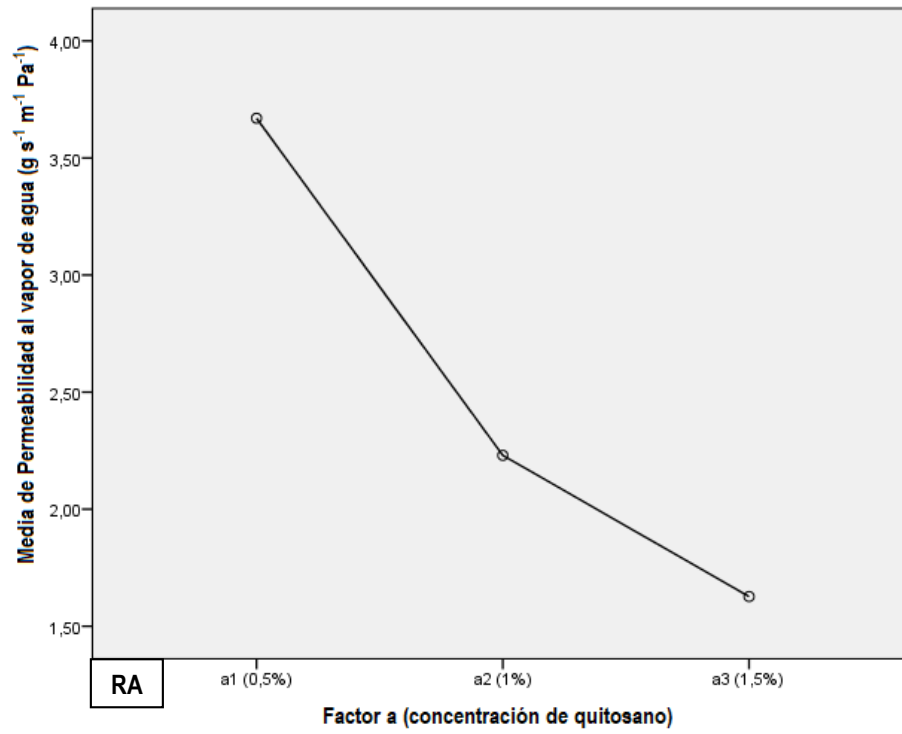
elongación de 89,69%, mientras que con películas formuladas con carboximetilcelulosa al 2% se obtuvieron valores de 11,25 MPa de fuerza tensil y 10,53% de elongación.

#### **4.4. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA**

El gráfico 4.4 (RA) muestra que en el factor a el nivel a1 presentó el mayor valor de Permeabilidad al vapor de agua, mientras que el nivel a3 fue el que mostro el valor más bajo, estos resultados indican que en la formulación de los recubrimientos el quitosano influye en las características del mismo en cuanto a permeabilidad, dado que a menor concentración de quitosano da origen a recubrimientos más permeables.

Para el factor b grafica 4.4 (RB) indica que en el factor b el nivel b1 presentó el mayor valor de Permeabilidad al vapor de agua, a diferencia del nivel b2 fue el que mostró el valor más bajo, estos resultados indican que en la formulación del recubrimiento de muyuyo influye la concentración, esto se ve reflejado en las características del mismo en cuanto a permeabilidad al vapor de agua, dado que a menor concentración de muyuyo da origen a recubrimientos más permeables.

Se obtiene la permeabilidad cuantificando el índice de movimiento de vapor de agua a través de la película mediante los cambios de peso debido a la transferencia de humedad. Este parámetro evaluado ayuda a relacionar la utilidad del recubrimiento, en referencia al contenido de agua de cada tipo de alimento, de esta manera se podría direccionar tomando en cuenta las características que se desean en el alimento recubierto.



**Gráfico 4.4.** Media de Permeabilidad al Vapor de Agua Factor a (concentración de quitosano) y Factor b (concentración de muyuyo).

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos mostrada en el (cuadro 4.6) indica que todos los tratamientos muestran diferencia estadística significativa  $P \leq 0,05$  por lo anterior, se realizó la prueba de subconjuntos para la variable permeabilidad al vapor de agua.

**Cuadro 4.9.** Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Permeabilidad al Vapor de Agua ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ )

Subconjuntos homogéneos basados en PVA					
		Subconjunto			
		1	2	3	4
Muestra <sup>1</sup>	T6	3,500			
	T4	3,500			
	T5	8,000			
	T2		11,000		
	T3			14,000	
	T1				17,000
Probar estadística		5,492	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>
Sig. (prueba de 2 caras)		,064	.	.	.
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		,124	.	.	.
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.					
<sup>1</sup> Cada casilla muestra el rango de media de muestras de PVA.					
<sup>2</sup> No se puede calcular porque el subconjunto sólo contiene una muestra.					

La HSD al 5% de probabilidad de error (cuadro 4.9) ubicó a los tratamientos 6,4 y 5 en primera categoría estadística debido a que presentaron menor permeabilidad al vapor de agua mostrando valores de  $1,15 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  y en última categoría al tratamiento 1 el cual mostro la mayor PVA con un valor de  $4,13 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , estos resultados encontrados exponen que quitosano 1,0 y 1,5% - muyuyo 60% de concentración v/v son las concentraciones más eficaces de los tratamientos estudiados para obtener un recubrimiento con menor permeabilidad al vapor de agua.

En comparación con otras películas y recubrimientos comestibles, las películas obtenidas en este estudio mostraron una mayor permeabilidad al vapor de agua. Los valores de permeabilidad fueron entre  $1,2 \times 10^{-9}$  y  $2,7 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  para películas de almidón (Kim, Ko y Park, 2002),  $2,7 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  para

hidroxipropilmetilcelulosa (HMPC), películas de lípidos y antimicrobianos (Valencia, Palou, del Rio y Pérez, 2011).

La mayoría de las películas comestibles son de naturaleza hidrófila por lo que se evidencia una relación positiva dependiente entre la permeabilidad al vapor de agua y el espesor de los recubrimientos y películas, estos autores consideran que a medida que el espesor de la película aumenta la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, la presión parcial del equilibrio del vapor de agua en la superficie interna aumenta a medida que aumenta la película (Gennadios et al., 1994; Park y Chinnan, 1995; McHug, 1993).

Los recubrimientos comestibles que son formulados a base de polisacáridos, presentan valores altos en cuanto a permeabilidad al vapor de agua. Domínguez y Jiménez (2012) mencionan que la permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos elaborados con gomas es habitualmente menor que en los recubrimientos obtenidos a base de otros polisacáridos, y esta puede disminuir aún más con la adición de aceites de origen vegetal.

Esta propiedad es muy importante en los recubrimientos comestibles, su función es actuar como barrera contra la humedad, ya que se busca que las películas comestibles disminuyan la transferencia de humedad entre el producto y el medio. Dicha propiedad es medida con el valor de permeabilidad al vapor de agua. Se requiere que la permeabilidad al vapor de agua sea lo más baja posible (Qiu y Wen, 2008).

De igual manera Fontes, Ramos, Sivi y Queiroz (2011) manifiestan que se requiere que las películas funcionen como barrera a gases, principalmente oxígeno y dióxido de carbono. Debido a las reacciones de oxidación causadas por el oxígeno en varias aplicaciones de películas comestibles, se busca que las películas tengan bajas permeabilidades a éste gas.

Al usar polisacáridos como compuestos para la formación de recubrimientos comestibles, se logra obtener películas transparentes que presentan propiedades mecánicas moderadas. Sin embargo, las aplicaciones se limitan debido a que las películas son solubles en agua y permeables al vapor de agua. Para mejorar dichas condiciones es posible adicionar compuestos hidrofóbicos como ceras o aceites, y también se pueden realizar tratamientos para el entrecruzamiento de las moléculas (Vargas, Pastor, Chiralt, McClements, y González, 2008; Campos, Gerschenson y Flores, 2011).

Para evitar estas falencias en los recubrimientos comestibles se podría utilizar proteínas en su formulación, ya que estas muestran un efecto sinérgico, la adición de una proteína a la formulación puede mejorar las propiedades de barrera de películas comestibles de polisacáridos (Chen et al., 2010; Espinoza et al., 2011), así como también la adición de quitosano, en un estudio realizado por, De Moura et al. (2011), las propiedades de las películas formadas con carboximetilcelulosa (CMC) al 2% mejoraron al adicionar quitosano. Al agregar nanopartículas de quitosano de 110 nm, bajaron los coeficientes de difusión, lo que causó que la permeabilidad al vapor de agua de las películas disminuyera. Esto fortalecería la idea de utilizar la combinación de quitosano y muyuyo con el fin de obtener un recubrimiento comestible con propiedades de barrera mejoradas.

El control de los cambios de los gases, particularmente el oxígeno, permite un mejor control en la maduración de las frutas y reduce significativamente la oxidación de los productos sensibles al oxígeno y la rancidez de las grasas insaturadas (García, 2008). El espesor de las películas influye significativamente sobre las propiedades de las mismas (Cuq et al., 1996). Sin embargo, no ha sido extensivamente estudiado a pesar de que se plantea que el control del mismo es necesario por su influencia sobre la mayoría de las propiedades de las películas y para la comparación entre estas. Se ha reportado la influencia del espesor sobre las propiedades mecánicas y de transporte de las películas (Cuq et al., 1996; McHugh, Avena y Krochta, 1993).

En las aplicaciones de envasado de alimentos Ghanbarzadeh, Almasi y Entezami



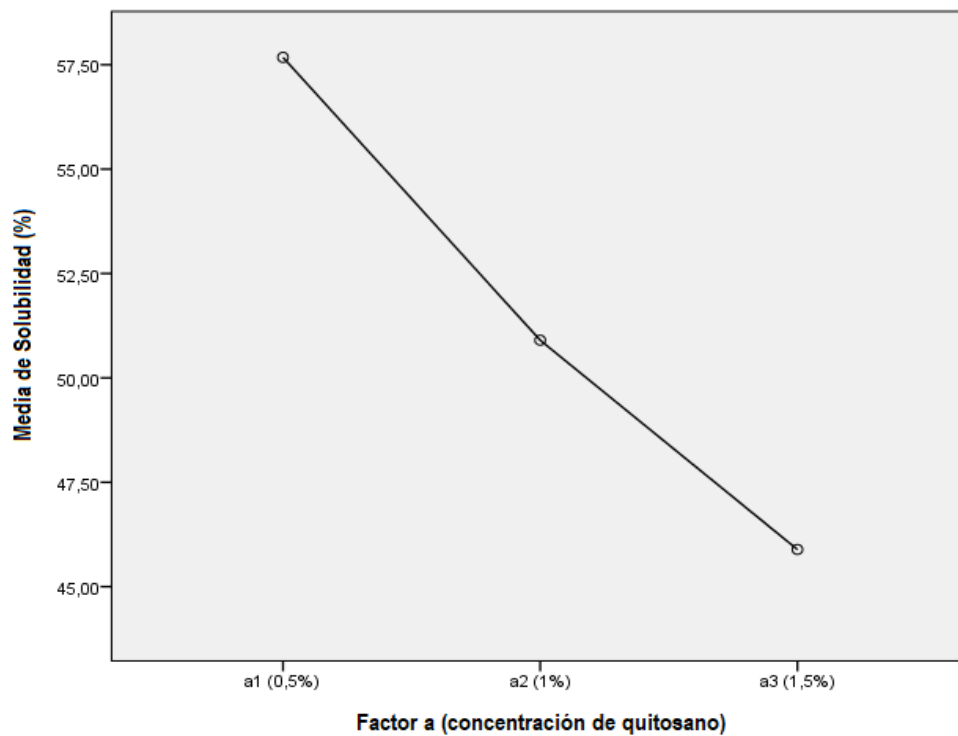
(2011) menciona que, una película debería evitar o reducir el intercambio de humedad entre el alimento y la atmósfera circundante; la permeabilidad al vapor de agua debe ser tan baja como sea posible,

La permeabilidad al vapor de agua es la propiedad más ampliamente estudiada en los recubrimientos comestibles, debido al importante papel del agua en las reacciones del deterioro de los alimentos (Cerqueira, Lima, Teixeira, Moreira y Vicente, 2009). La alta permeabilidad al vapor de agua es una limitación importante en el uso de películas basadas en polímeros naturales como materiales de envasado de alimentos. Una de las funciones principales del envasado de alimentos es evitar o minimizar la transferencia de humedad entre los alimentos y la atmósfera circundante. Por lo tanto, la permeabilidad al vapor de agua (WVP, por sus siglas en inglés) debe ser en menor proporción para optimizar el entorno del paquete de alimentos y aumentar potencialmente la vida útil del producto alimenticio (Hosseini, Rezaei, Zandi y Ghavi, 2013).

Además, esto puede ser importante para reducir la alteración de la calidad sensorial, las características microbiológicas, físicas y químicas de los alimentos cubiertos con este material (Gontard y Guilbert, 1994). Para la conservación de frutas y hortalizas Mendoza (2012) indican que, mientras más bajos sean los valores de permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos, se podrían considerar mejores recubrimientos, ya que de esta manera el alimento no pierde peso por deshidratación y conserva sus características originales por más tiempo.

#### **4.5. SOLUBILIDAD**

La variable solubilidad fue mayor en el nivel a1, el cual presentó el valor más alto, mientras que el nivel a3 fue el que reveló el valor más bajo (gráfico 4.5), este valor indica que la concentración del quitosano influye directamente en la formulación de los recubrimientos.



**Gráfico 4.5.** Media de Solubilidad Factor a (concentración de quitosano)

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos expuesta en el (cuadro 4.6) expresa que todos los tratamientos muestran diferencia estadística significativa  $P \leq 0,05$  por lo expuesto anteriormente, se realizó la prueba de subconjunto para la variable solubilidad en agua.

**Cuadro 4.10.** Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Solubilidad (%)

		Subconjuntos homogéneos basados en SOLUBILIDAD					
		Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
Muestra <sup>1</sup>	T6	2,000					
	T5		5,000				
	T4			8,000			
	T3				11,000		
	T2					14,000	
	T1						17,000
Probar estadística		. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>	. <sup>2</sup>
Sig. (prueba de 2 caras)		.	.	.	.	.	.
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		.	.	.	.	.	.
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.							
<sup>1</sup> Cada casilla muestra el rango de media de muestras de SOLUBILIDAD.							
<sup>2</sup> No se puede calcular porque el subconjunto sólo contiene una muestra.							

La HSD al 5% de probabilidad de error (cuadro 4.10) situó al tratamiento 6 en primera categoría estadística debido a que presentó menor solubilidad en agua exponiendo valores de 44,08% y en última categoría al T1 con un valor de 59,06% estos resultados encontrados exponen que (quitosano 1,5% - muyuyo 60% de concentración v/v) son las concentraciones más eficaces de los tratamientos estudiados para obtener un recubrimiento menos soluble en agua.

La solubilidad del recubrimiento es una característica muy importante al momento de caracterizar, dado que dependerá de este análisis su posible utilización para recubrir un alimento en referencia a su contenido de agua.

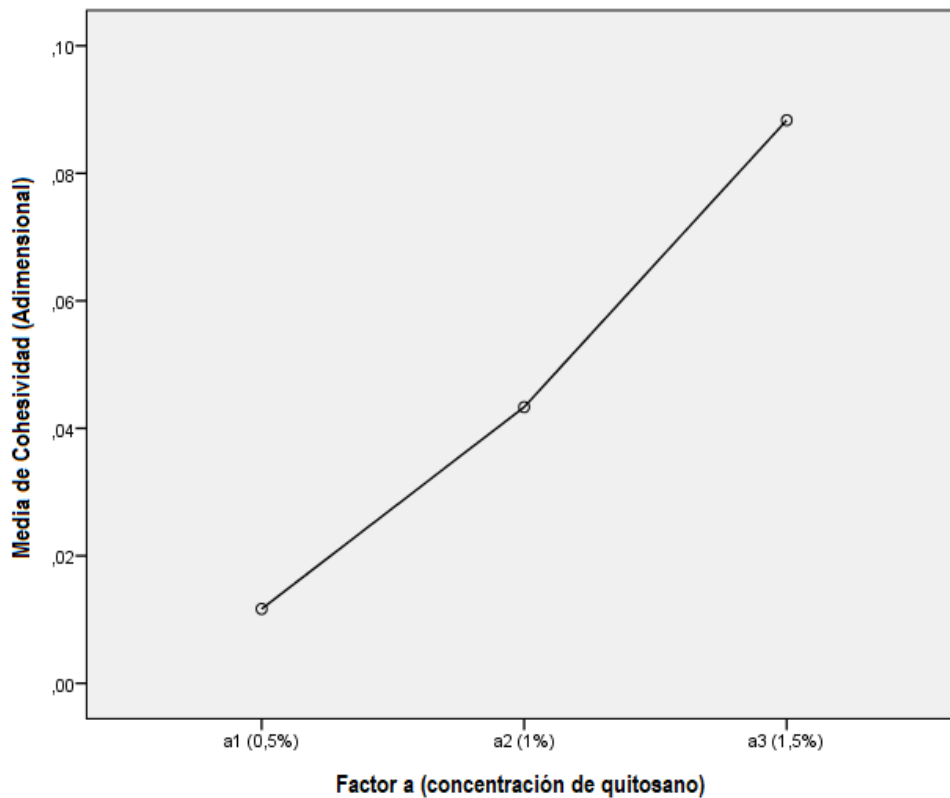
La solubilidad de la película en agua es un factor importante que determina su biodegradabilidad cuando se utiliza como un medio para proteger los alimentos (Gnanasambadam, Hettiarachchy y Coleman, 1997). Aunque se requiere una baja solubilidad de las películas durante el almacenamiento, una alta solubilidad podría ser ventajosa durante la cocción de productos envueltos en películas (Laohakunjit y Noomhorm, 2004). Por eso es necesario conocer las características de las películas para poder posteriormente encontrarles una aplicación (Romero et al., 2011).

En otro estudio realizado por Haq et al. (2013a) en películas comestibles basadas en *Cordia. mixa*, se informaron valores de 26,71% de solubilidad de película sin presencia de plastificante y 43,81% en presencia de plastificante. Las películas hechas con corteza de banano presentaron un porcentaje de solubilidad de entre 7,21% y 25,57% (Anchundia, Santacruz y Coloma, 2016). En otro trabajo realizado por Mali (2002) se reportó una solubilidad de entre 19,34% y 30,76% a 25°C para películas hechas con *Dioscorea alata* almidón, glicerol y agua.

En otros estudios, el porcentaje de solubilidad en películas hechas con almidón de banano y agua fue de 20,2% (Zamudio, 2006), en almidón de papa se reportó una solubilidad de 40,42% y 33,20% en películas de almidón de yuca (Santacruz et al., 2015). Se informó una solubilidad del 100% en películas comestibles basadas en proteínas de suero de leche (lactoalbúmina y lactoglobulina) Pérez, Nadaud y Krochta (1999). Una mayor solubilidad está directamente relacionada con un alto valor de la permeabilidad al vapor de agua, y esto es favorable para algunos productos que necesitan mantener una alta humedad relativa (Viña et al., 2007).

#### **4.6. COHESIVIDAD**

La variable cohesividad fue mayor en el nivel a3, el cual presentó el valor más alto, mientras que el nivel a1 fue el que reveló el valor más bajo (gráfico 4.6), este valor indica que la concentración del quitosano influye directamente en la formulación de los recubrimientos.



**Gráfico 4.6.** Media de Cohesividad Factor a (concentración de quitosano)

La prueba de Kruskal Wallis para los tratamientos presentada en el (cuadro 4.6) demuestra que existe diferencia estadística significativa para todos los tratamientos p-Valor es menor a 0,05 por lo tanto, se procede a efectuar la prueba de subconjuntos para la variable cohesividad.

**Cuadro 4.11.** Prueba de subconjuntos Kruskal Wallis para la variable Cohesividad (adimensional)

		Subconjunto			
		1	2	3	4
Muestra <sup>1</sup>	T1	2,000			
	T2		5,500		
	T3		7,500		
	T4			11,000	
	T5				14,167
	T6				16,833
Probar estadística		. <sup>2</sup>	2,500	. <sup>2</sup>	3,232
Sig. (prueba de 2 caras)		.	,114	.	,072
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		.	,304	.	,201
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.					
<sup>1</sup> Cada casilla muestra el rango de media de muestras de COHESIBILIDAD.					
<sup>2</sup> No se puede calcular porque el subconjunto sólo contiene una muestra.					

La HSD al 5% de probabilidad de error (cuadro 4.11) situó al T1 en primera categoría estadística debido a que presentó menor cohesividad en el recubrimiento exponiendo valores de 0,0 (adimensional), en última categoría se ubicaron los tratamientos 5 y 6 con un valor de 0,07 y 0,10 respectivamente, estos resultados encontrados exponen que (quitosano 1,5% - muyuyo 60% de concentración v/v) son las concentraciones más eficaces de los tratamientos estudiados para obtener un recubrimiento con mayor cohesividad.

Totosausa, Pérez, y Gutiérrez, (2016) indican que la cohesión y adhesión están relacionadas con la estructura, composición química, peso molecular, regularidad de las cadenas estructurales, ramificaciones, polaridad y distribución de grupos polares de la cadena polimérica. La cohesión y rigidez de las películas se ven favorecidas por un orden superior de las cadenas. Los grupos polares disminuyen la difusión moléculas, pero promueven la formación de cadenas laterales ordenadas. La desnaturalización y algunos aditivos que promueven enlaces cruzados se utilizan para tener un orden molecular. La funcionalidad del polímero también está relacionada con las características del solvente. La solvatación del polímero y la extensión de la cadena polimérica pueden producir películas más

eficientes. El grado de cohesividad dependerá de la estructura polimérica, el solvente utilizado, la temperatura y la presencia de plastificante (Banker, 1966; Guilbert, 1996; Srinivasa y Tharanathan, 2007).

Cuando se alcanza el punto de fusión en un polímero, su fracción cristalina se transforma en un líquido con estructura desordenada; mientras que en la transición vítrea se caracteriza por cambios en su fracción amorfa, pasando de un estado vítreo estable a un estado desordenado y gomoso donde el material se transforma en blando y flexible (Cuq, Gontard y Guilbert, 1998). Estos cambios en las propiedades termoplásticas permiten que la matriz polimérica forme una película cohesiva (Byaruhanga, Erasmus, Naushad y Tayloret, 2007). La cohesión del material es una propiedad muy importante, ya que puede tener efecto en las propiedades mecánicas del material final, y se define como la fuerza atractiva entre las moléculas de la misma sustancia (Han et al., 2005).

#### **4.7. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

De acuerdo con los resultados de la inhibición de *Rhizopus* sp, *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp, (cuadro 4.12), el T6 (quitosano 1,5% muyuyo 60% de concentración v/v), evidenciaron una mayor actividad antimicrobiana contra *Rhizopus* sp, reportando un valor de 2,98 mm en el halo de inhibición, para *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp, los valores reportados fueron 2,29 mm y 1,79 mm. Se evidenció que a medida que se aumenta la concentración de los componentes mayor poder inhibitorio presentaron los recubrimientos a las 48 horas de exposición.

**Cuadro 4.12.** Análisis microbiológico, halo de inhibición, de quitosano y muyuyo contra *Rhizopus* sp, *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp. (medias\*)

Tratamientos	<i>Rhizopus spp</i> , (mm)	<i>Aspergillus spp</i> , (mm)	<i>Penicillium ssp</i> , (mm)
T1 a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	2,07 <sup>a</sup>	1,76 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>
T2 a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	2,14 <sup>b</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,19 <sup>ab</sup>
T3 a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	2,16 <sup>b</sup>	1,85 <sup>b</sup>	1,22 <sup>b</sup>
T4 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	2,76 <sup>c</sup>	1,91 <sup>c</sup>	1,31 <sup>c</sup>
T5 a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	2,88 <sup>d</sup>	2,17 <sup>d</sup>	1,57 <sup>d</sup>
T6 a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	2,98 <sup>e</sup>	2,29 <sup>e</sup>	1,79 <sup>e</sup>

\*Letras iguales en columnas no difieren entre sí a un nivel de confianza del 95%.

Los primeros esfuerzos por generar películas comestibles antimicrobianas se enfocaron al uso de polímeros como el quitosano, que además de formar parte de la estructura de la película comestible también, en ciertas concentraciones, tienen la capacidad de inhibir el crecimiento microbiano. La actividad antimicrobiana del quitosano se deriva de las cargas positivas que interfieren con algunos residuos de macromoléculas cargadas negativamente que se encuentran en la membrana celular, provocando agujeros en la misma, y lixiviación celular. Las películas formadas por quitosano limitan la contaminación en la superficie de los alimentos (Cooksey, 2005). Otro trabajo realizado por Coma et al. (2002) elaboraron películas de quitosano (1% p/v), reportando la inhibición del crecimiento superficial de listeria monocytogenes en un 80% y determinando el mecanismo de acción a nivel de la membrana celular. Así también, Sebti et al. (2005) informaron acerca de la inhibición de *Aspergillus niger* en películas con bajas concentraciones de quitosano (0,1% p/v).

Nuevas investigaciones y revisiones recientes frente al uso de quitosano reúnen diversa información referente al efecto de su grado de desacetilación sobre la actividad antimicrobiana, su uso dentro del diseño de nuevos films basados en compuestos bioactivos y su interacción frente a otros componentes que hacen parte



de los alimentos frescos y mínimamente procesados, tratados con esta tecnología (No, Park, Lee y Meyers, 2002; Devlieghere et al. 2004; Aider, 2010; Martínez et al., 2010).

El mecanismo de acción del quitosano se basa principalmente en su carácter policatiónico, que varía en dependencia del grado de acetilación (GA). Se sugiere que los grupos aminos desacetilados interactúan con los residuos aniónicos de las superficies celulares. Esto conlleva a la desestabilización de la permeabilidad de la membrana microbiana y a un desbalance osmótico que puede provocar la lisis celular (Rabea, Badawy, Stevens, Smaghe y Steurbaut, 2003; Bautista et al., 2006).

Los estudios muestran que en dependencia del GA varía el efecto que ejercen diferentes tipos de quitosano sobre el desarrollo de microorganismos como *Fusarium graminearum* Shw., *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Pythium irregulare* Buisman, *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn y *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (Park et al., 2002); Falcón, Cabrera, Ortega y Martínez, 2008).

Otra de las teorías que explica el mecanismo de acción de la quitosano se basa en el grado de polimerización (GP). Se plantea que a medida que disminuye el GP aumenta su acción antifúngica (Kendra y Hadwiger, 1984). Este hecho podría deberse a que un compuesto con menor número de unidades podría penetrar la célula microbiana e incluso difundir hasta el núcleo con mayor facilidad. En el interior celular interactuaría con biomoléculas como los ácidos nucleicos, e inhibir los procesos de replicación, transcripción y síntesis proteica. Esta hipótesis se confirmó, en parte, al observar que el empleo de oligoquitosanas, que son compuestos que contienen hasta 10 residuos de glucosamina, provocó importantes daños celulares en *Phytophthora capsici* (Leonian), tales como la ruptura del sistema de endomembranas, especialmente de vacuolas y vesículas secretoras como los plasmalemosomas (Xu, Zhao, Han y Du, 2007).

Aunque numerosos trabajos reflejan resultados similares que confirman la hipótesis de la importancia del grado de polimerización, en otros no se observan diferencias al emplear quitosanas con diferente peso molecular. Los experimentos *in vitro* sobre *Colletotrichum gloeosporoides* (Penz), *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler y *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) mostraron que tres quitosanos (con pesos moleculares bajo, medio y alto) ejercían un efecto similar en el crecimiento de estas especies, sin observarse diferencias marcadas en su inhibición (Bautista et al., 2005; Sánchez et al., 2007; Guerra et al., 2009).

La concentración de quitosano generalmente se relaciona de manera directa con su actividad antimicrobiana (El Ghaouth et al., 1992; Hernández et al., 2007; Xu et al., 2007; Falcón et al., 2009; Liu et al., 2007; Rodríguez et al., 2007). El crecimiento de especies como *Botrytis cinerea* (Pers.: Fr.) o *Penicillium expansum* Link se afecta significativamente a medida que las concentraciones del polímero oscilan entre 1 y 100 mg/L, y alcanzan su mayor inhibición con este último valor (Liu et al., 2007). De modo similar sucede con *F. oxysporum*, *Pythium ultimum* Trow, *R. stolonifer* y *Mucor* sp., donde aumentos de la concentración de quitosano de 0,5 hasta 2,0 g/L reducen marcadamente el crecimiento radial de estas especies (Palma et al., 2008; Hernández et al., 2007). La investigación de El Ghaouth et al. (1992) también muestran que el crecimiento de *A. alternata*, *R. stolonifer*, *B. cinerea* y *C. gloeosporoides* se redujo a medida que la concentración aumentaba de 0,75 a 6 g/L.

Recientemente se ha estudiado la penetración del quitosano a la célula microbiana. Se ha demostrado que su internalización en hongos filamentosos ocurre a través de endocitosis y es un proceso activo, ya que depende de ATP, como se demostró para especies como *Neurospora crassa* (Palma et al., 2009), y se sugería para los conidios de *F. oxysporum* y *P. chlamydosporia* (Palma et al., 2008).

Diferentes tipos de células (conidios, tubos germinativos, hifas vegetativas) muestran distinta sensibilidad al quitosano, aunque estas últimas parecen ser las

que menos se afectan (Plascencia et al., 2003; Sánchez et al., 2007; Xu et al., 2007; Hernández et al., 2008; Pacheco et al., 2008; Palma et al., 2008; 2009).

De acuerdo a Muzzarelli et al., (1990), la actividad antimicrobiana del quitosano contra las bacterias, podría ser atribuido a la naturaleza policationica de su molécula, la cual permite la interacción y formación de polielectrolitos complejos con polímeros ácidos producidos en la superficie de la célula bacteriana (lipopolisacaridos, ácido teicoico, teicuronico, y polisacáridos capsulares). Recubrimientos y películas a base de quitosano probados sobre *Listeria monocytogenes* mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de dicha bacteria (Coma et al., 2002; Ponce et al., 2008).

Este hidrocólido (quitosano) tiene la capacidad de retardar el crecimiento de ciertos microorganismos que son deletéreos en postcosecha de frutas, tales como *Fusarium spp.*, *Colletotrichum musae*, y *Lasiodiplodia theobromae* en banano (*Musa acuminata* L. Var. *Kluai Hom Th ong*), Kyu, Jitareerat, Kanlayanarat y Sangchote (2007); Maqbool, Ali, Ramachandran, Smith y Alderson (2010), o *Botrytis cinerea* en tomate de mesa tratado con soluciones de recubrimiento conteniendo concentraciones de 1 – 2% w/v de quitosano y pimiento (*Capsicum annum* L. Var. *Bellboy*). Mediante la evaluación del efecto del moho *Botrytis cinerea*, sobre tejidos de frutos de pimiento en presencia de quitosano (1,0 mg/mL), se pudo determinar que el fitopatógeno sufrió daño celular en las hifas invasoras y se redujo la producción de poligalacturonasa, lo cual justificaría la conservación de la firmeza de los tejidos (El Ghaouth et al., 1992; 1997).

Estudios sugieren que el quitosano, en películas plastificadas o no, muestra actividad fungistática, lo cual hace posible el desarrollo de nuevos empaques activos con buenas propiedades térmicas. Factores como la temperatura de almacenamiento y las modificaciones de las propiedades mecánicas y de barrera influenciadas por aditivos y otros tipos de sustancias antimicrobianas pueden potenciar el efecto antimicrobiano de las películas (Martínez et al., 2010).

La tendencia actual apunta a consumir alimentos sanos, saludables, orgánicos y sobre todo inocuos, lo que incita al desarrollo de nuevos materiales que sean utilizables en la conservación de alimentos, por lo antes mencionado se hace necesario la formulación de recubrimientos comestibles que presenten buenas características mecánicas y que además tengan propiedades antimicrobianas, lo que indica que se puede combinar estos materiales para mejorar sus propiedades mecánicas y antimicrobianas. De esta manera los biomateriales actúan como transportadores de dichos compuestos que serán transportados a lugares objetivo como el intestino, sin perder su actividad al estar dentro de tal matriz o durante su paso por el tracto gastrointestinal (Korhonen, 2002).

Para dar respuestas a los objetivos planteados en esta investigación, a continuación, se muestran los resultados generales de las variables evaluadas en el recubrimiento comestible.

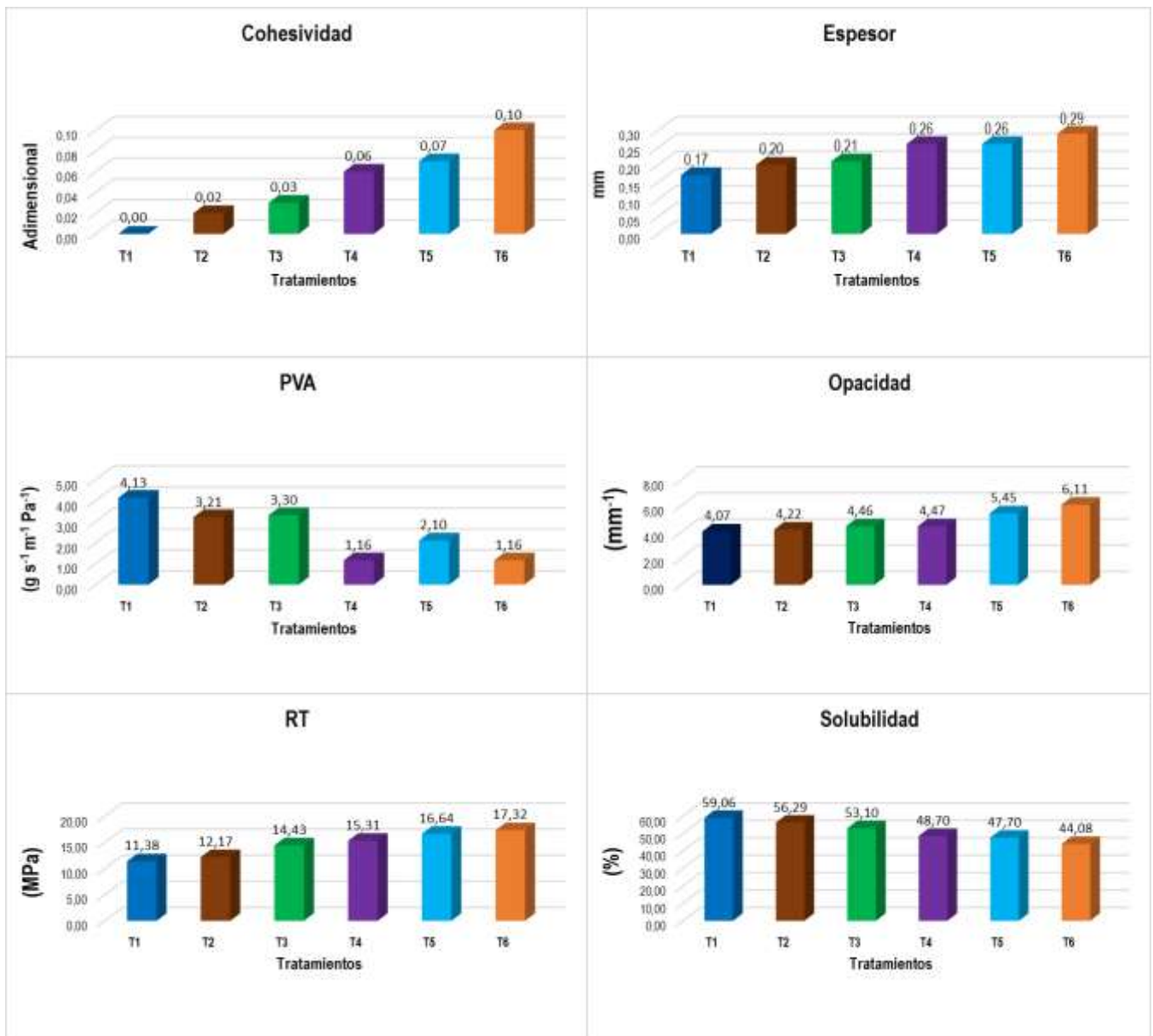
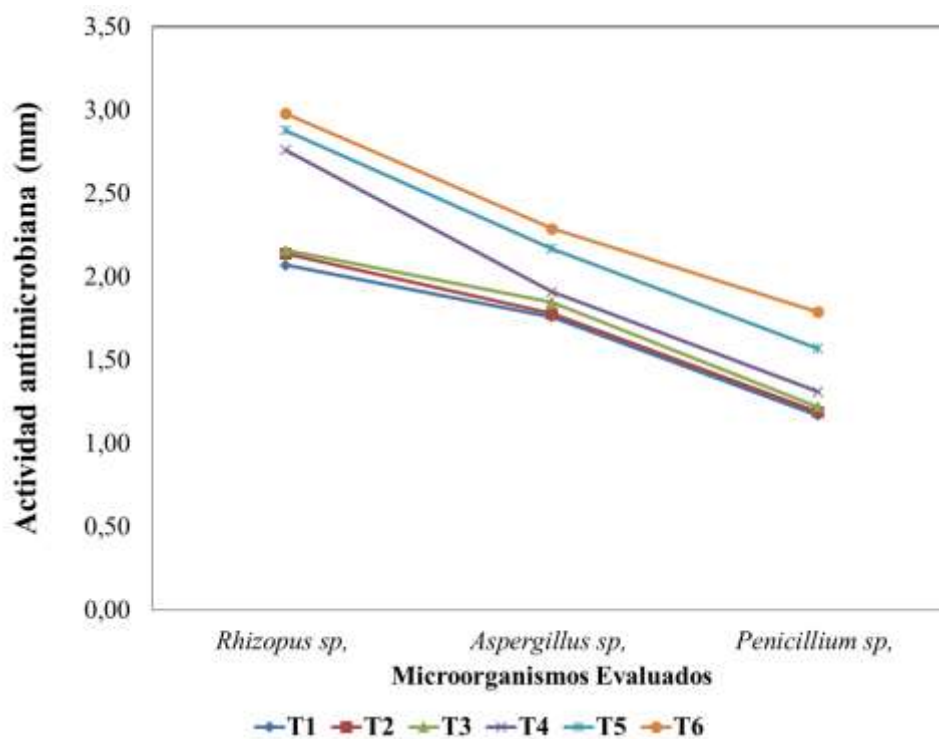


Gráfico 4.7. Análisis físicos realizados en el recubrimiento

Los resultados de los análisis físicos realizados en el recubrimiento comestible presentados en el (grafico 4.7) muestran el comportamiento en cuanto a las variables analizadas (cohesividad, espesor, permeabilidad al vapor de agua (PVA), opacidad, resistencia a la tensión (RT) y solubilidad), dando como resultado que el mejor comportamiento lo presento el tratamiento 6 (quitosano-muyuyo 1,5/ 60% v/v),

siendo esta la concentración óptima para obtener mejores características mecánicas.

Para responder al objetivo 2 a continuación se presenta el comportamiento de los tratamientos en cuanto a la actividad microbiana in vitro (grafico 4.8).



**Gráfico 4.8.** Análisis microbiológicos realizados en el recubrimiento

Los resultados microbiológicos indican que el mejor tratamiento como control antimicrobiano in vitro fue el tratamiento 6 (quitosano-muyuyo 1,5/ 60% v/v).

En base a los resultados obtenidos se confirma la hipótesis planteada en este estudio, demostrando que la concentración de *Cordia lutea* Lam y quitosano si influye en las características físicas y antimicrobianas in vitro del recubrimiento comestible.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- Las características físicas fueron influenciadas favorablemente por la mayor concentración de quitosano y goma de *C. lutea* (1,5 y 60% v/v) correspondiente al T6.
- En cuanto al efecto antimicrobiano el tratamiento T6 (quitosano-muyuyo 1,5/60% v/v) mostró inhibición microbiana frente a las cepas de (*Rizophus* sp, *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp,) siendo más efectivo contra *Rizophus* sp.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- ❖ Aplicar recubrimiento comestible de quitosano y goma de *C. lutea* en concentraciones de (1,5 y 60% v/v) para la conservación de alimentos.
- ❖ Usar el recubrimiento de quitosano y goma de *C. lutea* para el control de hongos (*Rizophus* sp, *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp,) en la etapa de poscosecha.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adeosun, C. B., Olaseinde, S., Opeifa, A. O., & Atolani, O. (2013). Essential oil from the stem bark of *Cordia sebestena* scavenges free radicals. *Journal of Acute Medicine*, 3(4), 138-141.
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 837-842.
- Alves, V. D., Mali, S., Beléia, A., & Grossmann, M. V. E. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941–946.
- Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa Paradisiaca*). *Revista chilena de nutrición*, 43(4), 394-399.
- Arancibia, M., Alemán, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2014). Desarrollo de películas activas a partir de residuos de langostino (*Penaeus vannamei*). In *Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA* (Vol. 9, pp. 153-158).
- ASTM. (1996). Standard test methods for water vapor transmission of materials, method E96/E96M - 13. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Ayranci, E., & Tunc, S. (2003). A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chemistry*, 80(3), 423–431.
- Babak, G., H. Almasi and A. Entezami. (2010). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *IFSET* 11: 697-702.
- Badawy, M. E., Rabea, E. (2011). A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection”, [en línea] *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, DOI-10.1155/2011/460381: 1-29.
- Baldwin, E. (2003). Tratamientos de superficie y revestimientos comestibles en la conservación de alimentos. En: *Manual de Conservación de Alimentos*. Editado por: M. Shafiur Rahman.
- Banker, G. S. 1996. Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55(1): 81-89.



- Basiak, E., A. Lenart & Debeaufot. F. (2017). Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *Int J Biol Macromol.* 98:348-356.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez del Valle, M. G., Bosquez-Molina, E., & Sánchez-Domínguez, D. (2005). Quitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Revista Iberoamericana de tecnología postcosecha*, 7(1), 1-6.
- Bäumler, ER, Carelli, AA, & Martini, S. (2014). Preparación y propiedades físicas de películas de pectinato de calcio modificadas con cera de girasol. *Revista europea de ciencia y tecnología de lípidos*, 116 (11), 1534-1545.
- Bautista-Baños, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquezdel Valle, M. G., Hernández-López, M., Barka, E. A., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118.
- Bautista-Baños, S., Necha, L. L. B., Hernández-López, M., & Rodríguez-González, F. (2016). Morphological and ultrastructural modifications of chitosan-treated fungal phytopathogens. In *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 251-275). Academic Press.
- Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z., & Corona-Rangel, M. L. (2017). Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest—a review. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 23(2), 103-121.
- Bégin, A., & Van Calsteren, M. R. (1999). Antimicrobial films produced from chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 26(1), 63-67.
- Begoña, D., Peña, G. y Sánchez, C. (2015). Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, 16(1), 8-17.
- Benhura, M. A. N., & Chidewe, C. K. (2004). The emulsifying properties of a polysaccharide isolated from the fruit of *Cordia abyssinica*. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(5), 579-583.
- Berúmen-Varela, G., Coronado-Partida, L. D., Ochoa-Jiménez, V. A., Chacón-López, M. A., & Gutiérrez-Martínez, P. (2015). Efecto del quitosano en la inducción de resistencia contra *Colletotrichum sp.* en mango (*Mangifera indica* L) cv. Tommy Atkins. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 16-21.

- Briassoulis, D. (2006). Mechanical behaviour of biodegradable agricultural films under real field conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 91(6), 1256–1272.
- Bruna, J.E.; Castillo, M.; Ocampo, R.; Rodríguez, F.; Guarda, A. & Galotto, Ma. José. (2014a). Eco-compositos basados en un desecho agroindustrial y poliácido láctico con actividad antimicrobiana y antioxidante para potencial uso en envases de alimentos. En Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA 9. Volumen 1. (pp. 413420).
- Byaruhanga, Y. B., Erasmus, C., Naushad Emmambux, M., & Taylor, J. R. (2007). Effect of heating cast kafirin films on their functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1), 167-175.
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N. & Flores S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technol.* 4:849-875
- Castro, M., Espinoza, V., Mantuano, M., Molina, R., García, Y., & Lavayen, E. (2017). Recubrimiento comestible de quitosano, almidón de yuca y aceite esencial de canela para conservar pera (*Pyrus communis* L. cv. "Bosc"). *La Técnica*, (2), 42-53.
- Castro, M., Mantuano, M. I., Coloma, J. L., & Santacruz, S. (2017). Utilisation of Cassava starch edible films containing salicylic acid on papaya (*Carica papaya* L.) preservation. *Revista Politécnica*, 39(1), 7-12.
- Castro, M., Rivadeneira, C., Mantuano, I., Santacruz, S., & Ziani, K. (2014). Utilización de recubrimientos comestibles a base de quitosano y Aloe Vera en papaya (*Carica papaya* L. cv." Maradol") cortada. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 22(2), 5-12.
- Castro, M. M., Rivadeneira, C., & Santacruz, S. (2018). Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca, ácido salicílico y aceites esenciales para la conservación de mango cortado. *Revista de la Universidad del Zulia*, 7(18), 55-68.
- Chen, C. H., & Lai, L. S. (2008). Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoo leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1584–1595.
- Chen, C. P., Wang, B. J., & Weng, Y. M. (2010). Physicochemical and antimicrobial properties of edible aloe/gelatin composite films. *International journal of food science & technology*, 45(5), 1050-1055.

- Chien, P. J., Sheu, F., & Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225-229.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I., & Hubinger, M. D. (2011). Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 381-387.
- Chiumarelli, M., & Hubinger, M. D. (2012). Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch–Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. *Food hydrocolloids*, 28(1), 59-67.
- Cerqueira, M. A., Lima, A. M., Souza, B. W., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., & Vicente, A. A. (2009). Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1456-1462.
- Cisneros-Zevallos, L., & Krochta, JM. (2002). Atmósferas internas modificadas de frutas y verduras frescas recubiertas: comprensión de los efectos de la humedad relativa. *Journal of Food Science*, 67 (6), 1990-1995.
- Cissé, M., Polidori, J., Montet, D., Loiseau, G., & Ducamp-Collin, M. N. (2015). Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 101, 10-14.
- Cooksey, K. (2005). Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. *Food Additives and Contaminants*. 22(10): 980-987.
- Colla, E., Sobral, P. J., & Menegalli, F. C. (2006). *Amaranthus cruentus* flour edible films: influence of stearic acid addition, plasticizer concentration, and emulsion stirring speed on water vapor permeability and mechanical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6645-6653.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., & Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of food science*, 67(3), 1162-1169.
- Cuq, B., Gontard, N., CUQ, J. L., & Guilbert, S. (1996). Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. *Journal of food science*, 61(3), 580-584.
- Cuq, B., Gontard, N., & Guilbert, S. (1998). Proteins as agricultural polymers for packaging production. *Cereal chemistry*, 75(1), 1-9.

- Chiralt, Amparo. (2014). Materiales biodegradables para el envasado activo de alimentos a base de almidón. En Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA 9. Volumen 1. (pp. 27-36). 13-16.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E. (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*, 36(8), 981-1014.
- De Ancos, B., González-Peña, D., Colina-Coca, C., & Sánchez-Moreno, C. (2015). uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1):8-17.
- Debeaufort, F., Martin-Polo, M., & Voilley, A. (1993). Polarity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of Food Science*, 58,428-434.
- Del Nobile, M. A., Conte, A., Scrocco, C., & Brescia, I. (2009). New strategies for minimally processed cactus pear packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3), 356-362.
- De Moura, M. R., Lorevice, M. V., Mattoso, L. C. & Zucolotto, V. (2011). Highly stable, edible cellulose films incorporating chitosan nanoparticles. *Journal of Food Science*. 76(2):25-29.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food microbiology*, 21(6), 703-714.
- Dietsche, E. (2017). New industrial policy and the extractive industries (No. 161). World Institute for Development Economic Research (UNU-WIDER).
- Domínguez-Courtney, M. F., & Jiménez-Munguía, M. T. (2012). Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas Sel. Ingeniería Aliment*, 6, 110-121.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173-1182.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J., & Asselin, A. (1992). Effect of chitosan and other polyions on chitin deacetylase in *Rhizopus stolonifer*. *Experimental Mycology*, 16(3), 173-177.

- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A., & Benhamou, N. (1992). Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycological research*, 96(9), 769-779.
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819-1841.
- Espinoza-Herrera, N., Pedroza-Islas, R., San Martín- Martínez, E., Cruz-Orea, A., & Tomás, S. (2011). Thermal, mechanical and microstructures properties of cellulose derivatives films: a comparative study. *Food Biophysics*. 6(1):106-114.
- Espitia, P. J. P., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. D. J., Soares, N. D. F. F., & McHugh, T. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties-a review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287– 296.
- Espezua, E., & Ponce, E. (2014). Obtención y Caracterización mecánica de compósitos con matriz de biopolímero termoplástico de PLA. Tesis de Grado, Universidad Católica Santa María, Arequipa. Recuperado el 18 de octubre de 2018, [detesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3004](http://detesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3004).
- Fabra, M. J., Jiménez, A., Atarés, L., Talens, P., & Chiralt, A. (2009). Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. *Biomacromolecules*, 10(6), 1500-1507.
- Falcón-Rodríguez, A. B., Cabrera, J. C., Ortega, E., & Martínez-Téllez, M. A. (2009). Concentration and physicochemical properties of chitosan derivatives determine the induction of defense responses in roots and leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4(3), 192-200
- Falcón, A. B., Cabrera, J. C., Costales, D., Ramírez, M. A., Cabrera, G., Toledo, V., & Martínez-Téllez, M. A. (2008). The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica nicotianae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 103.
- Famáa, L., Rojasb, A. M., Goyanesa, S., & Gerschensonb, L. (2003). Películas comestibles de aplicación industrial. *Trabajo*, 10(5).
- Fernandez, D. (2015). Eatable films and coverings: a favorable alternative in the postharvest conservation of fruits and vegetables. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(3), 52-57.

- Fontes, L. B., Ramos, K. K., Sivi, T. C. & Queiroz, F. C. (2011). Biodegradable edible films from renewable sources-potential for their application in fried foods. *American Journal of Food Technology*. 6(7):555- 567.
- Galotto, M., & Guarda, A. (2014). Nuevas tendencias en envases de alimentos. En Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA 9. Volumen 1. (pp. 4653). 13-16.
- García, M. A. (2008). Películas y cubiertas de quitosana en la conservación de vegetales (No. 664 (05) 664). e-libro, Corp.
- Garrison, T. F., Murawski, A., & Quirino, R. L. (2016). Bio-based polymers with potential for biodegradability. *Polymers*, 8(7), 262.
- Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A., & Froning, G. W. (1996). Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal of Food Science*, 61(3), 585-589.
- Gennadios, A., Weller, CL & Testin, (1993). Modificación de RF de las propiedades físicas y de barrera de las películas basadas en gluten de trigo comestible. *Cereal Chem*, 70 (4), 426-429.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A. (2011). Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. *Industrial Crops and products*, 33(1), 229-235.
- Gnanasambadam, R. Hettiarachchy, N.S. Coleman, M. (1997). Mechanical and barrier properties of rice bran films. *Journal of Food Science* 62 (2), 395–398.
- Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 78-85.
- Gómez, E., & Poscosecha, D. T. D. I. (2011). Recubrimientos para frutas y hortalizas. V curso internacional tecnología poscosecha y procesamiento mínimo, 32.
- Gontard, N., Guilbert, S., & CUQ, JL (1992). Películas de gluten de trigo comestible: influencia de las principales variables del proceso en las propiedades de la película utilizando la metodología de superficie de respuesta. *Diario de la ciencia de la alimentación*, 57 (1), 190-195.
- González-Aguilar, G.A., Monroy-García, I.N., Goycoolea-Valencia, F., Díaz-Cinco, M.E. & Ayala-Zavala, J.F. (2005). Cubiertas comestibles de quitosano. Una

alternativa para prevenir el deterioro microbiano y conservar la calidad de papaya fresca cortada. Nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. 1: 121-133.

- González, A., Alvis, A., y Arrázola, G. (2015). Efecto del Recubrimiento Comestible en las Propiedades de Trozos de Batata (*Ipomoea batatas* Lam.) Fritos por Inmersión: Parte 1: Textura. *Información tecnológica*, 26(1), 95-102.
- González, E., García, C., & Correa, J. (2005). Especies forestales del bosque seco Cerro Negro-Cazaderos Zapotillo-Puyango. Loja, Ecuador. Fundación Ecológica Arcoíris, pág, 39.
- Granda Moser, V., & Guamán Guamán, S. (2006). Composición florística, estructura, endemismo y etnobotánica de los bosques secos “algodonar” y “la ceiba” en los cantones Macará y Zapotillo de la provincia de Loja (Bachelor's thesis).
- Guilbert, S., Gontard, N., & Gorris, L. G. (1996). Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lwt-Food Science and Technology*, 29(1–2), 10–17.
- Guilbert, S. 1996. Technology and application of edible protective films. En: G. Barbosa-Canovas, y J. S. Welti-Chanes (Eds). *Food Preservation by moisture control, Fundamentals and applications. Isopow Practicum II*, N.Y.EE.UU. pp. 371-394.
- Gutiérrez, T., M. Soledad., E. Pérez and L. Fama, L. (2014). Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch. *Food Hydrocoll.* 45: 211-217.
- Gutiérrez-Martínez, P., Chacón-López, A., Xoca-Orozco, L. A., Ramos-Guerrero, A., Velázquez-Estrada, R., & Aguilera-Aguirre, S. (2016). Chitosan and Changes in Gene Expression During Fruit–Pathogen Interaction at Postharvest Stage. In *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 299-311).
- Han, J., & Gennadios, A. (2005). Edible films and coating: a review. En: J. H. Han (Eds). *Innovations in food packaging*. Elsevier Academic Press, London, UK. pp. 239-276.
- Haq, M. A., Alam, M. J., & Hasnain, A. (2013a). Gum Cordia: a novel edible coating to increase the shelf life of Chilgoza (*Pinus gerardiana*). *LWT e Food Science and Technology*, 50(1), 306-311.
- Haq, M. A., & Hasnain, A. (2013b). Studies on shelf life extension of chilgoza (*Pinus gerardiana*). *Asian Journal of Chemistry*, 25(1), 343-348.

- Haq, M. A., & Hasnain, A. (2014a). Antioxidant containing gum cordia coatings for control of peanut oxidation. *Journal of food processing and preservation*, 38(3), 896-904.
- Haq, M. A., Hasnain, A., & Azam, M. (2014b). Characterization of edible gum cordia film: Effects of plasticizers. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 163-169.
- Haq, M. A., Hasnain, A., Jafri, F. A., Akbar, M. F., & Khan, A. (2016). Characterization of edible gum cordia film: Effects of beeswax. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 674-680.
- Han, J. H., & Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: A review. *Innovations in Food Packaging*, 239, 262.
- Henics, T., & Wheatley, D. (1999). Cytoplasmic vacuolation, adaptation and cell wall. A view of new perspectives and features. *Biology of the Cell*, 91(7), 485-98.
- Hernández, M. (2002). Uso potencial del quitosano y extractos vegetales en el control de *Colletotricum gloeosporioides*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium digitatum* y *Fusarium oxysporum* de la papaya (*Carica papaya*). Tesis de Maestría en Ciencias. CePROBI-IPN. Yautepec, Morelos, México. 101 p.
- Hernández-Medina, M. T.-U.-G.-A. (2007). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en la península de Yucatán, México. *Memorias del IX Congreso de ciencia de los alimentos*.
- Hernández-Lauzardo, A. N., Hernández-Martínez, M., Velázquez-del Valle, M. G., Guerra-Sánchez, M. G., & Melo-Giorgana, G. E. (2007). Actividad Antifúngica del Quitosano en el Control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. y *Mucor spp.* *Revista mexicana de fitopatología*, 25(2), 109-113.
- Hernandez-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velazquez-Del Valle, M. G., Méndez-Montealvo, M. G., Sánchez-Rivera, M. M., & Bello-Perez, L. A. (2008). Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Carbohydrate Polymers*, 73(4), 541-547.
- Hernández, I., González, O., Alberto, C., Pereira, P., Quesada, A., & Valencia, M. (2017). Películas biodegradables con propiedades bioactivas. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 057-089.
- Hernández-Téllez, C. N., Plascencia-Jatomea, M., & Cortez-Rocha, M. O. (2016). Chitosan-based bionanocomposites: development and perspectives in food



and agricultural applications. In *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 315-338).

- Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Vázquez, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International journal of biological macromolecules*, 113, 1233-1240.
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. *Food chemistry*, 136(3-4), 1490-1495.
- Janjarasskul, T., Rauch, D. J., McCarthy, K. L., & Krochta, J. M. (2014). Barrier and tensile properties of whey protein–candelilla wax film/sheet. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 377-382.
- Jiang, Y., Li, J., & Jiang, W. (2005). Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. *LWT-food Science and Technology*, 38(7), 757-761.
- Kalia, A., & Parshad, V. R. (2015). Novel trends to revolutionize preservation and packaging of fruits/fruit products: microbiological and nanotechnological perspectives. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(2), 159-182.
- Kaya, M., Česonienė, L., Daubaras, R., Leskauskaitė, D., & Zabulionė, D. (2016). Chitosan coating of red kiwifruit (*Actinidia melanandra*) for extending of the shelf life. *International journal of biological macromolecules*, 85, 355-360.
- Kendra, DF, & Hadwiger, LA (1984). Caracterización del oligómero de quitosán más pequeño que es máximo antifúngico para *Fusarium solani* y provoca la formación de pisatina en *Pisum sativum*. *Micología experimental*, 8 (3), 276-281.
- Korhonen, H. (2002). Opciones tecnológicas para nuevos conceptos nutricionales. *Revista Internacional de Tecnología Lechera*, 55 (2), 79-88.
- Kowalczyk, D., & Baraniak, B. (2014). Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films—a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 41, 195-209.
- Krochta, J., Baldwin, E., & Nisperos-Carriedo, M. (Eds.) (2010). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company; 1994. Chapter 10, Edible coatings from lipids and resins; p. 279–303.

- Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27.
- Kyu Kyu, W. N., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S., & Sangchote, S. (2007). Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest biology and technology* 45, 333 – 340.
- Laohakunjit, N., & Noomhorm, A. (2004). Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. *Starch-Stärke*, 56(8), 348-356.
- Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & De la Caba, K. (2013). Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food engineering*, 116(4), 889-899.
- Leceta, I., Molinaro, S., Guerrero, P., Kerry, J. P., & De la Caba, K. (2015). Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 142-150.
- Limones, B., Eduardo, R., & Peralta Avila, M. B. (2018). Caracterización de Biopolímero Obtenido a partir de Leche de Vaca y Almidón de Yuca (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química).
- Liu, K., Liu, J., Li, H., Yuan, C., Zhong, J., & Chen, Y. (2016). Influence of postharvest citric acid and chitosan coating treatment on ripening attributes and expression of cell wall related genes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit. *Scientia horticulturae*, 198, 1-11.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X., & Xu, Y. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 300-306.
- Li, X. F., Feng, X. Q., Yang, S., Wang, T. P., & Su, Z. X. (2008). Effects of molecular weight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus niger*. *Iranian Polymer Journal*, 17(11), 843-852.
- Lizardi-Mendoza, J., Monal, WMA., & Valencia, FMG. (2016). Características químicas y propiedades funcionales del quitosán. En *Chitosan en la preservación de productos agrícolas* (pp. 3-31). Prensa Académica.
- López-García, F., & Jiménez-Martínez, C. (2015). Películas biopoliméricas: aplicaciones para envases y otros productos. *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*, 9-36.

- Mackerron, C. B., & Hoover, D. (2015). Waste and opportunity 2015: environmental progress and challenges in food, beverage, and consumer goods packaging. Hoover, Editor.
- Mali, S. (2002). Produção, caracterização e aplicação de filmes plásticos biodegradáveis a base de amido de cará (*Dioscorea alata*). Tesis Doctoral. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, Brasil. 150 p.
- Mantilla, N., Castell-Perez, M. E., Gomes, C., & Moreira, R. G. (2013). Multilayered antimicrobial edible coating and its effect on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 37-43.
- Maqbool, M., Ali, A., Ramachandran, S., Smith, D. R., & Alderson, P. G. (2010). Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Crop Protection*, 29(10), 1136-1141.
- Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Ezquerra-Brauer, J. M., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., & Plascencia-Jatomea, M. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 305-315.
- McHugh, T. H., & Senesi, E. (2000). Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3), 480-485.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of food science*, 58(4), 899-903.
- Mendoza, L. (2012). Characterization of films forming solutions made with flour and barley starch. Instituto Politécnico Nacional. Morelos, México. p 72.
- Meng, X., Li, B., Liu, J., & Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106(2), 501-508.
- Meza, A. 2006. Desarrollo de películas o recubrimientos comestibles con potencial para el recubrimiento de frutas frescas. Proyecto de especialización en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana– Iztapalapa 76p.
- Molavi, Hooman; Behfar, Somayyeh; Shariati, Mohammad Ali; Kaviani, Mehdi and Atarod, Shirin. (2015). A review on biodegradable starch based film. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 4(5):456-461.

- Moreno, H., y N. Patiño. (2010). Elaboración de un recubrimiento comestible antimicrobial y antioxidante a partir de aceite de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado a la ensalada primavera mínimamente procesada de la empresa Defrescura. Tesis profesional. Universidad La Salle. Bogotá, Colombia 110231.
- Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., & Voilley, A. (2002). Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 42(1), 67-89.
- Motto, P. (2005). Plantas medicinales del bosque seco cantón Zapotillo y Macará. UNL-COSV. Loja, Ecuador.
- Muñoz, J. (2014). Evaluation, characterization and optimization of a bioplastic from the combination of corn starch, cassava and glycerol in their physical properties and barrier. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; p 22.
- Muzzarelli, R., Tarsi, R., Filippini, O., Giovanetti, E., Biagini, G., & Varaldo, P. E. (1990). Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34(10), 2019-2023.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International journal of food microbiology*, 74(1-2), 65-72.
- Nychas, G. J. E. (1995). Natural antimicrobials from plants. *In New methods of food preservation* (pp. 58-89). Springer, Boston, MA.
- Olivas, G. I., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(7-8), 657-670.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest biology and Technology*, 50(1), 87-94.
- Pacheco, N., Larralde-Corona, C. P., Sepulveda, J., Trombotto, S., Domard, A., & Shirai, K. (2008). Evaluation of chitosans and *Pichia guilliermondii* as growth inhibitors of *Penicillium digitatum*. *International journal of biological macromolecules*, 43(1), 20-26.
- Palma-Guerreo, J., Huang, I., Jansson, H., Salinas, J., Lopez-Llorca, L. and Read, N. (2009). Chitosan permeabilizes the plasma membrane and kills cells of *Neurospora crassa* in an energy dependent manner. *Fungal Genetics and Biology* 46:585–594.

- Palma–Guerreo, J., Jansson, H., Salinas, J., & Lopez–Llorca, L. (2008). Effect of chitosan on hyphal and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of applied Microbiology* 104:541–553.
- Palma–Guerreo, J., Lopez–Jimenez, J., Pérez–Berna, A., Huang, I., Jansson, H., Salinas, J., Villalaín, J., Read, N., & Lopez–Llorca, L. (2010). Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular Microbiology* 75:1021–1032.
- Park, H. J., Weller, C. L., Vergano, P. J., & Testin, R. F. (1993). Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *Journal of Food Science*, 58(6), 1361-1364.
- Chinnan, MS., & Park, HJ. (1995). Efecto del nivel de platicador y la temperatura en la transmisión de vapor de agua de películas comestibles a base de celulosa 1. *Journal of Food Process Engineering* , 18 (4), 417-429.
- Park, R. D., Jo, K. J., Jo, Y. Y., Jin, Y. L., Kim, K. Y., & Shim, J. H. (2002). Variation of antifungal activities of chitosans on plant pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(1), 84-88.
- Pavlath, A. E., & Orts, W. (2009). Edible films and coatings: why, what, and how? In *Edible films and coatings for food applications* (pp. 1-23). Springer, New York, NY.
- Peña, A., Sánchez, N. S., & Calahorra, M. (2013). Effects of chitosan on *Candida albicans*: conditions for its antifungal activity. *BioMed research international*, 2013, 527549-527549.
- Pérez, E., X. Segobia., M. Tapia & M. Schroeder. (2012). Native and cross-linked modified *Dioscorea trifida* (*cushcush yam*) starches as bio-matrices for edible films. *J Cell Plast.* 48: 545-556.
- Pérez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (2001). Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(2), 996-1002.
- Pérez-Gago, M. B., Nadaud, P., & Krochta, J. M. (1999). Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64(6), 1034-1037.
- Petriccione, M., Pasquariello, M. S., Mastrobuoni, F., Zampella, L., Di Patre, D., & Scortichini, M. (2015). Influence of a chitosan coating on the quality and nutraceutical traits of loquat fruit during postharvest life. *Scientia Horticulturae*, 197, 287-296.

- Plascencia-Jatomea, M., Viniegra, G., Olayo, R., Castillo-Ortega, M. M., & Shirai, K. (2003). Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macromolecular Bioscience*, 3(10), 582-586.
- Quintero, J., Falguera, V. & Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 1(5), 93-118.
- Qiu-Ping, Z., & Wen-Shui, X. (2008). Physicochemical properties of edible and preservative films from chitosan/cassava starch/gelatin blend plasticized with glycerol. *Food Technology & Biotechnology*. 46(3):262-269.
- Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457-1465.
- Raghav, P. K., Agarwal, N., & Saini, M. (2016). Edible coating of fruits and vegetables: a review. *International Journal of Scientific Research and Modern Education*. 1(1):188-204.
- Ramos-García, M. D. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Bosquez-Molina, E., Alia-Tejacal, I., & Estrada-Carrillo, M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(1), 44-57.
- Ren, J., Liu, J., Li, R., Dong, F., & Guo, Z. (2012). Antifungal properties of chitosan salts in laboratory media. *Journal of Applied Polymer Science*, 124(3), 2501-2507.
- Ribeiro, C., Vicente, A., Teixeira, J., & Miranda, C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology* 44:63–70.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., y Martín-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 240-246.
- Robson, M. G., Ferreira, N.F., Alvarenga, D., & Almeida, L. (2008). Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality. *Carbohydrate polymers* 72: 403–409.
- Rodríguez, A. F., Menéndez, D. C., Delgado, E. O., Díaz, O. L., & Pino, J. C. (2007). Evaluation of chitosan as an inhibitor of soil-borne pathogens and as an

- elicitor of defence markers and resistance in tobacco plants. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 5(4), 533-541.
- Rojas-Argudo, C., Del Río, M. A., & Pérez-Gago, M. B. (2009). Development and optimization of locust bean gum (LBG)-based edible coatings for postharvest storage of 'Fortune' mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, 52(2), 227-234.
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2016). Use of chitosan to control postharvest decay of temperate fruit: effectiveness and mechanisms of action. In *Chitosan in the preservation of agricultural commodities* (pp. 155-177). Academic Press.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Divenere, D., & Salerno, M. (2002). Effects of pre-and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, 67(5), 1862-1867.
- Romero-Bastida, C., P. Zamudio-Flores & A. Bello-Pérez. (2011). Antimicrobials in oxidized banana starch films: Effect on antibacterial activity, microestructure, mechanical and barrier properties. *Rev Mex Ing Quím.* 10: 445-453.
- Sánchez-Domínguez, D., Bautista-Baños, S., & Ocampo, P. C. (2007). Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. In *Anales de Biología* (No. 29, pp. 23-32). Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia.
- Sebti, I., Martial - Gros, A., Carnet - Pantiez, A., Grelier, S., y Coma, V. (2005). Polímero de quitosano como recubrimiento bioactivo y película contra la contaminación por *Aspergillus niger*. *Journal of Food Science*, 70 (2), M100-M104.
- Sánchez, D.D. (2008). Cambios citológicos y bioquímicos inducidos por el quitosano en el patosistema *Alternaria alternata* jitomate. Tesis de Doctorado en Ciencias. CEPROBI-IPN. Yautepec, Morelos, México. 119 p.
- Sánchez-Villanueva, R., Fabra, M. J., & Talens, P. (2010). Recubrimientos comestibles a base de caseinato sódico con capacidad antioxidante. Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, 46022.
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 1-16.
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., & Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer,

- surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89-94.
- Shah, Umar; Naqash, Farah; Gani, Adil y Masoodi, F.A. (2016). Art and science behind modified starch edible films and coatings: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(3):568-580.
- Silva-Weiss, A., Ihl, M., Sobral, P. J. A., Gómez-Guillén, M. C., & Bifani, V. (2013). Natural additives in bioactive edible films and coatings: functionality and applications in foods. *Food Engineering Reviews*, 5(4), 200-216.
- Sivakumar, D., Bill, M., Korsten, L., & Thompson, K. (2016). Integrated application of chitosan coating with different postharvest treatments in the control of postharvest decay and maintenance of overall fruit quality. In *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 127-153). Academic Press.
- Sothornvit, R., & Pitak, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International*, 40(3), 365– 370.
- Sothornvit, R., & Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 407-415.
- Srinivasa, P. C. y Tharanathan, R. N. (2007). Chitin/Chitosan-Safe, ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. *Food Reviews International*. 23: 53-72
- Sun, T., Wu, C. L., Hao, H., Dai, Y., & Li, J. R. (2016). Preparation and preservation properties of the chitosan coatings modified with the in situ synthesized nano SiO<sub>2</sub>. *Food Hydrocolloids*, 54, 130-138.
- Tharanathan, R. N., & Kittur, F. S. (2003). Chitin—the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1):61–87.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., & Nilsuwan, K. (2015). Película de emulsión a base de gelatina de piel de pescado y aceite de palma: propiedades físicas, estructurales y térmicas. *Alimentos hidrocoloides*, 48, 248-259.
- Totosausa, A., Pérez-Chabelab, M., & Gutiérrez-Cruza, R. (2016). Películas comestibles de caseinato de sodio y carragenina como acarreadoras de bacterias lácticas termotolerantes. inhibición de microorganismos patógenos in vitro. *REV. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*.1(2): 762-768.



- Tumwesigye, K. S., Oliveira, J. C., & Sousa-Gallagher, M. J. (2016). New sustainable approach to reduce cassava borne environmental waste and develop biodegradable materials for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 7, 8-19.
- Uquiche-Carrasco, E., Villarroel-Tudesca, M., & Cisneros-Zevallos, L. (2002). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L.) durante el almacenamiento. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 52(1), 84-90.
- Valencia-Chamorro, SA, Palou, L., del Río, MA, y Pérez-Gago, MB (2011). Películas y recubrimientos antimicrobianos comestibles para frutas y verduras frescas y mínimamente procesadas: una revisión. *Revisiones críticas en ciencia de la alimentación y nutrición*, 51 (9), 872-900.
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. y Gonzalez-Martinez, C. 2008. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews In Food Science & Nutrition*, 48(6):496-511.
- Viña, S. Z., Mugridge, A., García, M. A., Ferreyra, R. M., Martino, M. N., Chaves, A. R., & Zaritzky, N. E. (2007). Effects of polyvinylchloride films and edible starch coatings on quality aspects of refrigerated Brussels sprouts. *Food Chemistry*, 103(3), 701-709.
- Wang, L. Z., Li, L., Holmes, J., Kerry, J. F. & Kerry, J. P. (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*. 42(9):1128-1138.
- Xu, J., Zhao, X., Han, X., & Du, Y. (2007). Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87(3), 220-228.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.
- Zamudio-Flores, P. B., Romero-Bastida, C. A., Hernández-Uribe, J. P., Bello-Pérez, L. A., & Vargas-Torres, A. (2007). Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia*, 41(8), 837-844.
- Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Pérez-González, J., Bosquez-Molina, E., & Bello-Pérez, L. A. (2006). Films prepared with oxidized banana starch: mechanical and barrier properties. *Starch-Stärke*, 58(6), 274-282.

- Zhang, D., & Quantick, P. C. (1997). Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 12(2), 195-202.
- Zheng, L. Y., & Zhu, J. F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate polymers*, 54(4), 527-530.
- Ziani, K., Fernández-Pan, I., Royo, M., & Maté, J. I. (2009). Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2309-2314.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1**

*Obtención, selección y tratamiento de los frutos de C. lutea*

**ANEXO 2**

*Insumos para la preparación de la solución de quitosano*

**ANEXO 3**

*Análisis realizados en el recubrimiento*