

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



**CARACTERIZACION Y ALTERNATIVA DE USO DE UNA  
PELICULA BIODEGRADABLE DE QUITOSANO A  
PARTIR DE LA EXTRACCION DE QUITINA DE  
LANGOSTINO (*Pleuroncodes planipes*) PARA LA  
INDUSTRIA DE ALIMENTOS.**

PRESENTADO POR:

**JOSE LUIS VASQUEZ LARA**

PARA OPTAR AL TITULO DE:

**INGENIERO DE ALIMENTOS  
Y  
MIRNA BEATRIZ VIDAL LOPEZ**

PARA OPTAR AL TITULO DE:

**INGENIERA QUIMICO**

CIUDAD UNIVERSITARIA, ENERO DE 2011.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR :**

**MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ**

**SECRETARIO GENERAL :**

**LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ**

**FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA**

**DECANO :**

**ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO**

**SECRETARIO :**

**ING. OSCAR EDUARDO MARROQUÍN HERNÁNDEZ**

**ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**DIRECTOR :**

**ING. FERNANDO TEODORO RAMÍREZ ZELAYA**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

Trabajo de Graduación previo a la opción al Grado de:

**INGENIERO DE ALIMENTOS  
E  
INGENIERA QUIMICO**

Título :

**CARACTERIZACION Y ALTERNATIVA DE USO DE UNA  
PELICULA BIODEGRADABLE DE QUITOSANO A  
PARTIR DE LA EXTRACCION DE QUITINA DE  
LANGOSTINO (*Pleuroncodes planipes*) PARA LA  
INDUSTRIA DE ALIMENTOS.**

Presentado por :

**JOSE LUIS VASQUEZ LARA  
MIRNA BEATRIZ VIDAL LOPEZ**

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Directores :

Ingra. Haydeé Esmeralda Munguía de Pérez  
Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

San Salvador, Enero de 2011.

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Directores :

Ingra. Haydeé Esmeralda Munguía de Pérez

Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

## AGRADECIMIENTOS

A los docentes directores **Inga. Haydeé Esmeralda Munguía de Pérez** e **Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya**, por brindarnos los lineamientos a seguir para la finalización de este trabajo.

A **MSc. Delmy del Carmen Rico Peña**, por sus valiosos aportes y contribución en el desarrollo de esta investigación.

A **Inga. Tania Torres** por su ayuda en el desarrollo de la experimentación y análisis de resultados.

Al **Ing. Sergio Armando Maravilla Miranda**, de la Facultad de Química y Farmacia, por su colaboración y préstamo de equipos para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua en las películas de quitosano.

Al **Lic. Omar Aguilar**, por facilitarnos el uso de equipos y el área de laboratorios en las instalaciones de CENSALUD.

A **Ing. Cecilia de Flamenco** y **Personal de la planta piloto** por su paciencia y colaboración en la parte experimental de la investigación.

A la empresa **PESQUERA DEL SUR S.A.** por abrirnos las puertas y brindarnos la materia prima para el desarrollo de la investigación, además agradecer el apoyo del **Lic. Alberto Olivares** así como a los miembros de la Unidad de Investigación y Desarrollo **Ing. Mirtala Guevara, Lic. Raúl Cortez y Lic. Numa Hernández.**

A **Jazmín Morán y Flor de María Méndez Escobar**, por ofrecernos su colaboración desinteresada.

## DEDICATORIA

*“Ponerse en movimiento es importante, pero lo más importante es mantener el entusiasmo inicial”*

*Paulo Coelho*

Finalmente puedo escribir la parte más emotiva y personal de este trabajo: las dedicatorias.

En primer lugar lo dedico al Rey de Reyes y Señor de Señores porque para Él es la Gloria y la Honra Eterna, por que ha demostrado en mi vida toda su infinita Bondad y Misericordia.

A mi mami y mi papi por su apoyo incondicional, por el amor que me han brindado y con el cual han llenado toda mi vida, porque ellos han sido un gran motor y fuente de inspiración para toda mi carrera. Los admiro y amo mucho.

A mis hermanos, hermana, sobrinos y cuñad@s porque si tuviera que elegir una familia... no podría encontrar una mejor. Los amo mucho.

A Bea por tu valiosa amistad y por permitirme trabajar contigo todo este tiempo, ¡Muchas gracias compañera de fórmula!... no tuvimos ni una sola pelea como nos habían dicho que pasaría jejeje.

A todos los amigos de la u: el grupo de alimentos (Bere, Eva, Fer, Flor, Karla, Sulma), los calandrias (Frank, Luz, Marcia, Sara), Silvita, Marilyn, Chío, Lauri y Andrea, porque sin todos ustedes mi estancia en la universidad no habría sido la misma, por compartir conmigo esas noches de estudio, el stress de los parciales,

las celebraciones de cumpleaños, las salidas de fin de ciclo y su amistad. Muchas gracias.

A mis grandes amigas Iris, Joha, Lilian, Yessy y Jenny que aunque lejos de poder compartir un salón de clase, siempre pude contar con su apoyo, amistad sincera e incondicional y grandes momentos junto a ustedes, las quiero mucho.

A mi mejor amigo Walters Sergey quien me enseñó a superar el obstáculo más grande en mi vida: el miedo a vencer mis propias debilidades, por recordarme en cada momento que soy capaz de alcanzar todo lo que me propongo y a nunca darme por vencido. Muchas Gracias y Bendiciones para ti.

A todos los docentes de la Escuela de Ingeniería Química que no se preocuparon únicamente por enseñarnos ejercicios y ecuaciones, sino que velaron por una enseñanza más profesional y humana.

**José Luis Vásquez Lara**

## DEDICATORIA

En este día se ha cumplido una de mis frases favoritas:

*Todo esfuerzo tiene su recompensa...*

*Proverbios 14:23*

No por mis propias fuerzas, sino por la bondad y misericordia de Dios a quien le debo todo lo que soy y por quien vivo cada instante de la vida, este logro es gracias a mi Padre Celestial quien me llevó de su mano y me acompañó en este largo camino, tú mereces toda la Gloria y la Honra.

A mis padres, Mirna D. de Vidal y José A. Vidal por creer en mis sueños y darme su apoyo incondicional, por sus oraciones y estar siempre con los brazos abiertos para brindarme su amor, por el consejo sabio y oportuno, por darme empujoncitos cuando ya no podía mas... Y por tener toda la paciencia del mundo, gracias a Dios el momento ha llegado y este logro es por ustedes, ese sacrificio no fué en vano. Los Amo mis viejitos lindos.

A mi abuelita Tila, gracias mi viejita por tus oraciones incansables y por todo tu amor... por ser mi compañía y mi madre.

A mi Hermanita Ana, por hacer mis días más alegres y soportarme en los momentos más complicados de mi existir... eres una excelente amiga y hermana!

A José Luis, mi compañero de fórmula y mi amigo, por compartir la idea y los sueños de alcanzar este gran proyecto y por soportarme todo este tiempo, no dudo que Dios te puso en mi camino... al final logramos el objetivo!

A mis niñ@s, (sin orden de preferencia) Sulma, Eva, Flor, Bere, Karla, Sara y Fer por estar pendientes de mi... por compartir aventuras, éxitos, desvelos, fracaso y cada experiencia única y gratificante, por demostrarme que aun existen amigos verdaderos. Ustedes han enriquecido mi vida con su cariño. Gracias por



recordarme que existen personas valiosas en el mundo y por ser parte del mío.  
Los quiero miles!

A René Huevo, jamás imagine que nuestra amistad llegara tan lejos... gracias por tu apoyo, cariño y comprensión en los buenos y malos tiempos, por tus consejos y sobre todo por esa amistad incondicional, gracias por ayudarme a encontrar mis fortalezas y sacar ventaja de ellas... no tengo palabras, pero quiero agradecerte por estar conmigo en este momento tan importante de mi vida. Pronto viajaremos a Roma. Te quiero.

A cada uno de los docentes de la Escuela de Ingeniería Química que contribuyeron en mi formación académica, gracias por compartir sus conocimientos y formar en mí el criterio.

A mi familia y amigos, que siempre estuvieron pendientes de mi progreso... gracias por el apoyo y oraciones que me brindaron, en especial a mi tía Betty que siempre tuvo cuidado de mí.

A esa persona que sin saber me retó y fué la punta de lanza para que soñara en grande... y este día se cumple ese sueño: ser Ingeniera Química. No importa de donde venga, ni como me llame ó que tan grande sea el objetivo por alcanzar, pero si es lo que quiero lucharé por ello hasta lograrlo.

*“Queda prohibido no sonreír a los problemas, no luchar por lo que quieres,  
abandonarlo todo por miedo, no convertir en realidad tus sueños.”*

*Pablo Neruda*

**Mirna Beatriz Vidal López**

## RESUMEN

---

La presente investigación se desarrolló con el objetivo de caracterizar y proponer una alternativa de uso y aplicación de películas y recubrimientos biodegradables en productos hortofrutícolas, con el fin de conservar sus características fisicoquímicas y prolongar su vida de anaquel.

El polímero caracterizado y utilizado como recubrimiento fue el quitosano, el cual se obtuvo por desacetilación química de la quitina, extraída de los residuos generados por la industria del procesamiento del langostino *Pleuroncodes planipes*. Los métodos utilizados para la caracterización de dicho polímero fueron la viscosimetría capilar para disoluciones diluidas y la titulación potenciométrica. Los resultados indican que el quitosano obtenido cumple con los estándares de peso molecular promedio viscoso ( $1.328856 \times 10^6$  Da) y grado de desacetilación (82.86%) aceptados para la aplicabilidad de dicho material en la formación de films.

Se desarrollaron películas a partir de quitosano, plastificadas con glicerol y aceite de oliva, evaluando su espesor, sus propiedades de barrera al vapor de agua y sus características microbiológicas.

El desarrollo experimental consistió en la evaluación de parámetros fisicoquímicos y organolépticos durante el almacenamiento de fresas (*Fragaria ananassa*) bajo condiciones establecidas. Se utilizó un Diseño Bifactorial con réplica para determinar el efecto que tiene el tipo de recubrimiento aplicado a las fresas y los días de almacenamiento, sobre las propiedades de la fruta. Además, se llevó a cabo un análisis microbiológico de hongos, levaduras y bacterias aeróbicas mesófilas para determinar el efecto inhibitorio que tiene el quitosano sobre dichos microorganismos.

## INDICE

INTRODUCCION .....	i
--------------------	---

---

### CAPITULO I

#### QUITINA Y QUITOSANO

---

1.1 Introducción.....	1
1.2 Quitina.....	1
1.3 Fuentes de obtención de quitina .....	2
1.4 Quitosano .....	4
1.5 Propiedades del quitosano .....	5
1.6 Aplicaciones de quitina y quitosano .....	8
1.7 Mercado mundial de quitina y quitosano .....	11
1.8 Aspectos Regulatorios .....	13

---

### CAPITULO II

#### LANGOSTINO: GENERALIDADES Y SU APROVECHAMIENTO EN EL SALVADOR

---

2.1 Generalidades del Langostino.....	15
2.2 Clasificación Taxonómica.....	16
2.3 Ciclo de vida y época de muda .....	17
2.4 Distribución y Abundancia de Langostino ( <i>Pleuroncodes planipes</i> ) en la Costa Pacífica de El Salvador .....	19

2.5 Importancia del Langostino para la Industria Salvadoreña.....	22
2.6 Impacto ambiental y aprovechamiento del residuo del Langostino ( <i>Pleuroncodes planipes</i> ) en El Salvador .....	23

---

### **CAPITULO III**

#### **PROCESOS DE OBTENCION DE QUITINA Y QITOSANO**

---

3.1 Introducción.....	26
3.2 Conservación y almacenamiento de materia prima.....	26
3.2.1 Acondicionamiento de la materia prima.....	28
3.3 Aislamiento de quitina .....	28
3.4 Obtención de quitosano .....	32
3.5 Caracterización de Quitosano .....	32
3.5.1 Determinación del grado de desacetilación .....	33
3.5.1.1 Titulación potenciométrica.....	33
3.5.2 Determinación del peso molecular.....	35
3.5.2.1 Viscosimetría.....	35
3.6 Películas y recubrimientos de Quitosano .....	38
3.6.1 Propiedades de las películas y recubrimientos de quitosano.....	40
3.6.1.1 Propiedades físicas.....	40
3.6.1.3 Propiedades mecánicas .....	42
3.6.1.4 Propiedades microbiológicas .....	43
3.7 Tratamiento de efluentes de proceso .....	44

---

## **CAPITULO IV**

### **RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO COMO TECNOLOGIA POST-COSECHA DE PRODUCTOS HORTOFRUTICOLAS**

---

4.1 Introducción.....	46
4.2 Uso del quitosano como recubrimiento en productos hortofrutícolas .....	46
4.3 Consideraciones de la fisiología de productos hortofrutícolas a tener en cuenta en la tecnología post-cosecha.....	49
4.4 Importancia de aplicación de la tecnología post-cosecha .....	54
4.4.1 Importancia de la tecnología post-cosecha.....	54
4.5 Reacciones de pardeamiento enzimático en productos hortofrutícolas .....	55

---

## **CAPITULO V**

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCION, DESACETILACION DE QUITINA Y CARACTERIZACION DE PELICULAS DE QUITOSANO**

---

5.1 Introducción.....	58
5.2 Acondicionamiento de las muestras.....	58
5.3 Extracción de quitina .....	60
5.4 Desacetilación de quitina: Obtención de quitosano.....	61
5.5 Caracterización del quitosano .....	62
5.5.1 Determinación del grado de desacetilación del quitosano por Titulación Potenciométrica .....	63
5.5.2 Determinación del peso molecular por viscosimetría capilar .....	70
5.6 Elaboración de películas de quitosano.....	76

5.7 Caracterización de las películas de quitosano .....	78
5.7.1 Medición del espesor .....	79
5.7.2 Determinación de la permeabilidad al vapor de agua .....	80
5.7.3 Análisis microbiológico de las películas de quitosano .....	88

---

## **CAPITULO VI**

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE UNA ALTERNATIVA DE USO DEL QUITOSANO COMO RECUBRIMIENTO EN UN ALIMENTO**

---

6.1 Introducción.....	90
6.2 Materiales y métodos .....	90
6.3 Evaluación de parámetros de calidad .....	94
6.3.1 Sólidos solubles .....	94
6.3.2 Pérdida de peso (Humedad).....	97
6.3.3 Determinación de pH .....	101
6.3.4 Acidez titulable.....	103
6.3.5 Análisis organoléptico .....	106
6.3.6 Análisis microbiológico.....	116
 CONCLUSIONES.....	 119
 RECOMENDACIONES .....	 121
 REFERENCIAS.....	 122
 ANEXOS.....	 126

Anexos 5.1 Valores de presión de vapor de saturación del agua. ....	127
Anexos 5.2 Resultados de análisis microbiológico en películas de quitosano ....	129
Anexo 5.3 Estimación del intervalo de confianza de la media.....	131
Anexo 6.1 Diseño factorial de dos factores .....	135
Anexo 6.2 Prueba hedónica a fresas .....	143
Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día uno).....	145
Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día cinco) .....	146
Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día doce) .....	149

## INDICE DE TABLAS

---

	Pág.
Tabla 1.1 Composición química representativa de diversos tipos de desechos quitinosos industriales.....	3
Tabla 2.1 Clasificación taxonómica del langostino.....	16
Tabla 2.2 Valores de CPUE (kg/ hr) promedio de <i>P. planipes</i> por época climática realizados en seis cruceros de investigación en la zona costera salvadoreña.....	21
Tabla 2.3 Volúmenes de exportación de langostino y su equivalente económico para el año 2008.....	22
Tabla 3.1 Límites permisibles en análisis microbiológicos para películas de polietileno de baja densidad.....	44
Tabla 4.1 Aplicación del Quitosano como recubrimiento en diferentes productos hortofrutícolas.....	48
Tabla 5.1 Resultados de la titulación potenciométrica y su primera derivada en 3 muestras de quitosano.....	64
Tabla 5.2 Puntos de inflexión curva de titulación potenciométrica en muestras de quitosano.....	68
Tabla 5.3 Resultados del grado de desacetilación para las muestras de quitosano.....	70
Tabla 5.4 Valores de viscosidades relativa, específica y reducida para las muestras de quitosano.....	73
Tabla 5.5 Resultados del análisis de peso molecular en las muestras analizadas.....	76



Tabla 5.6	Resultados de la medición de espesor en películas de quitosano.....	79
Tabla 5.7	Registro y aumento de peso para pruebas de permeabilidad al vapor de agua en películas de quitosano.....	83
Tabla 5.8	Resultados de la determinación de permeabilidad al vapor de agua en películas de quitosano.....	87
Tabla 5.9	Permeabilidad al vapor de agua de películas comestibles y poliméricas.....	88
Tabla 5.10	Análisis microbiológico en películas de quitosano.....	89
Tabla 6.1	Resumen de condiciones y parámetros de evaluación para la investigación.....	94
Tabla 6.2	Resultados de la determinación de sólidos solubles de fresas en estudio.....	95
Tabla 6.3	Análisis de varianza para la determinación de sólidos solubles en fresas (°Brix).....	97
Tabla 6.4	Resultados de pérdida de peso en muestras de fresas.....	99
Tabla 6.5	Análisis de varianza para la determinación de pérdida de peso en fresas.....	101
Tabla 6.6	Resultados de la determinación de pH en fresas.....	102
Tabla 6.7	Análisis de varianza para la determinación de pH en fresas.....	103
Tabla 6.8	Resultados de porcentaje de acidez en fresas.....	104
Tabla 6.9	Análisis de varianza para el porcentaje de acidez en fresas.....	105

Tabla 6.10	Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 1.....	106
Tabla 6.11	Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 5.....	108
Tabla 6.12	Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 12.....	110
Tabla 6.13	Resultados del análisis microbiológico en fresas.....	117

## INDICE DE FIGURAS

---

	Pág.
Figura 1.1 Estructura química de la quitina.....	2
Figura 1.2 Reacción de desacetilación de la quitina.....	4
Figura 1.3 Estructura química del quitosano.....	5
Figura 1.4 Grafico de composición del mercado mundial de quitina y quitosano.....	12
Figura 1.5 Proyección de la evolución del mercado mundial de quitosano....	13
Figura 2.1 Fotografía del langostino <i>Pleuroncodes planipes</i> .....	15
Figura 2.2 Estados de desarrollo embrionarios y larvas de langostino.....	17
Figura 2.3 Ciclo de vida del langostino <i>Pleuroncodes planipes</i> .....	18
Figura 2.4 Distribución de las zonas disponibles pescables del langostino Chileno <i>Pleuroncodes planipes</i> en El Salvador.....	20
Figura 2.5 Fotografía tomada en el área de desecho de una planta procesadora de langostino ubicada en la zona de Acajutla, El Salvador.....	24
Figura 3.1 Esquema del proceso de extracción de quitina.....	31
Figura 3.2 Curva de titulación potenciométrica para el quitosano comercial y su primera derivada en la que se muestra los dos puntos de inflexión que permiten determinar el grado de acetilación.....	35
Figura 3.3 Intercambio gaseoso y de vapor de agua en el tejido vegetal con recubrimiento de quitosano.....	39

Figura 4.1	Pardeamiento enzimático observado en productos hortofrutícolas en función del tiempo.....	56
Figura 5.1	Secuencia de pasos para el acondicionamiento de las muestras.	59
Figura 5.2	Condiciones del proceso de extracción de quitina a partir de harina de exoesqueletos de langostino.....	61
Figura 5.3	Condiciones de desacetilación de quitina.....	62
Figura 5.4	Grafica de la titulación potenciométrica en la muestra #1 de quitosano.....	67
Figura 5.5	Primera derivada de la curva de titulación potenciométrica de la muestra #1 de quitosano .....	68
Figura 5.6	Representación gráfica para la determinación de la viscosidad intrínseca de la muestra #1 .....	74
Figura 5.7	Grafica de tiempo vs. ganancia de peso para película de quitosano 2% + aceite de oliva 0.6%.....	82
Figura 6.1	Secuencia de pasos para la aplicación del recubrimiento en fresas.....	92
Figura 6.2	Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de °Brix en las tres muestras de fresas.....	96
Figura 6.3	Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de pérdida de peso en las tres muestras de fresas.....	100
Figura 6.4	Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de pH en las tres muestras de fresas.....	102
Figura 6.5	Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de acidez titulable en las tres muestras de fresas.....	105
Figura 6.6	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 1.....	107
Figura 6.7	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 5.....	109
Figura 6.8	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+ aceite de oliva, día 5.....	109

Figura 6.9	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+ glicerina, día 5.....	110
Figura 6.10	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 12 .....	111
Figura 6.11	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+ aceite de oliva, día 12.....	111
Figura 6.12	Gráfico radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+ glicerina, día 12.....	112
Figura 6.13	Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas recubiertas con quitosano más aceite de oliva.....	113
Figura 6.14	Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas recubiertas con quitosano más glicerina.....	114
Figura 6.15	Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas sin recubrimiento.....	115
Figura 6.16	Imagen comparativa de las fresas con y sin recubrimiento de quitosano después de 12 días de almacenamiento en refrigeración.....	118

## INTRODUCCION

---

El estilo de vida de los consumidores modernos unido al deseo de adquirir productos naturales y beneficiosos para la salud ha hecho que el consumo de alimentos frescos se haya visto incrementado en los últimos años.

Sin embargo, los daños causados, durante el periodo de post-cosecha de productos hortofrutícolas, dan origen a reacciones que provocan su deterioro, como: oscurecimiento enzimático, desarrollo de microorganismos, cambios en la textura y susceptibilidad a la deshidratación, además, los procesos de deterioro constituyen una de las pérdidas más importantes en los alimentos y representan un perjuicio económico de real envergadura.

Por ello, resulta necesario el desarrollo de tecnologías de conservación que retrasen los procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica durante la comercialización.

Una alternativa de solución a esta problemática lo constituyen los recubrimientos y películas, llamadas también films (derivado del idioma inglés), los cuales cumplen funciones muy importantes para prevenir dicho deterioro y además prolongan el tiempo de vida útil de los productos hortofrutícolas.

Los materiales para desarrollar estas películas que tengan la propiedad de proteger al alimento de su degradación, deben ser, al mismo tiempo, menos agresivos con el medio ambiente. Es por esto que los polímeros naturales son utilizados como biomateriales, con el propósito de disminuir el uso e impacto de los polímeros derivados del petróleo.

Las fuentes de obtención de estos biopolímeros son muy variadas, siendo, actualmente, una de las más importantes la quitina, la cual es la segunda sustancia polimérica más abundante en la naturaleza después de la celulosa.

El quitosano es un polisacárido lineal y el principal derivado de la quitina, obtenido por desacetilación de la misma, es decir, una reacción química en la que se sustituyen los grupos acetamido por grupos amino.

Comercialmente el quitosano ha abarcado diferentes industrias: médica, farmacéutica, biotecnológica, cosmetológica, agrícola y, particularmente debido a su capacidad de formación de películas, posee promisorias aplicaciones en empaques y cobertores de alimentos como una barrera contra los agentes contaminantes, microorganismos, reacciones de pardeamiento y el intercambio de agua y gases del exterior gracias a sus propiedades únicas de biodegradabilidad, no toxicidad y actividad antimicrobiana.

Los desechos de crustáceos, producidos por las industrias pesqueras, constituyen actualmente la principal fuente industrial de extracción de quitina y quitosano para los países que dominan el mercado mundial de producción de estos biopolímeros.

En El Salvador la industria y comercialización de langostinos es una importante fuente de ingresos, que a la vez genera un problema medioambiental debido a la gran acumulación de desechos proveniente de sus caparazones; siendo entonces, una innovadora alternativa para el país, tratar estos residuos no aprovechados como fuente de extracción de los biopolímeros quitina y quitosano, siguiendo así el ejemplo de muchos países a nivel mundial.

## 1.0 QUITINA Y QUITOSANO

---

### 1.1 Introducción

El reemplazo total de los plásticos sintéticos por materiales biodegradables para la elaboración de empaques no se ha logrado concretar en la actualidad, no obstante, si se han podido sustituir algunos polímeros sintéticos por otros naturales en aplicaciones específicas. Tales reemplazos han permitido el desarrollo de productos con características particulares en determinados empaques como películas, protectores, recubrimientos, envolturas, bolsas, entre otros.

Estos polímeros naturales, denominados biopolímeros, provienen de cuatro grandes fuentes: origen animal (colágeno, gelatina), origen marino (quitina, quitosano), origen agrícola (lípidos, proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico y polihidroxicanoatos).

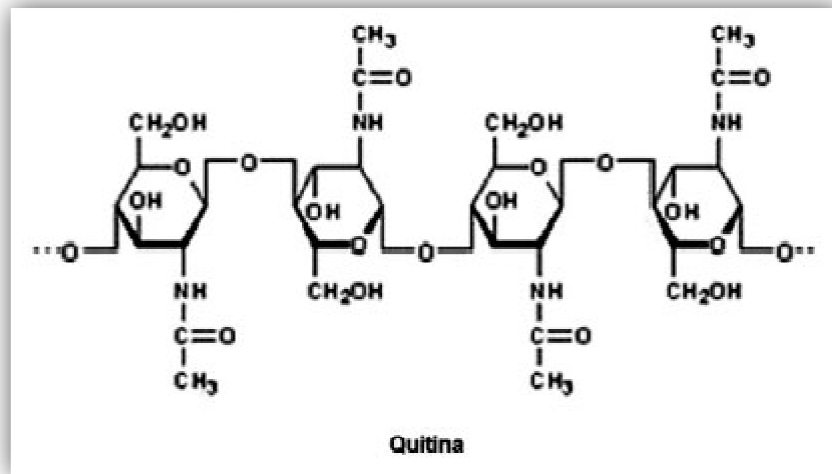
De estas cuatro fuentes de obtención de biopolímeros la que ha obtenido mayor auge en los últimos años es la de origen marino, debido a ello se han realizado estudios referentes a la extracción de quitina y quitosano, la determinación de sus propiedades y la evaluación de sus aplicaciones en diversos campos industriales.

### 1.2 Quitina

La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa, y está formada por unidades de 2-acetamida-2-desoxiglucosa unidas por medio de enlaces 1,4-beta-glucosídico, prácticamente es insoluble en la mayoría de solventes comunes



La estructura química de la quitina es mostrada en la figura 1.1



**Figura 1.1** Estructura química de la quitina.

Ref.: Tapia, C., Soto, D., Albuquerque, C., (2009).

La quitina fue aislada por primera vez por el profesor francés Henri Braconnot en el año 1811 a partir de hongos superiores y por su origen la denominó "fungina". Posteriormente, en el año 1923 se le denominó con el nombre de quitina que significa cubierta o envoltura.

La quitina fue más bien una curiosidad de laboratorio durante muchos años. Sin embargo, en la actualidad, la quitina y sus derivados han pasado a ser polímeros de gran aplicabilidad en los más diversos campos de la actividad humana.

### **1.3 Fuentes de obtención de quitina**

La quitina es un componente orgánico abundante en la estructura esquelética de muchas de las clases que conforman al grupo de los invertebrados, como por ejemplo, los artrópodos, los anélidos, los moluscos y los celenterios. La quitina se encuentra, además, presente en algunos hongos como los ascomicetos, zigomicetos, basidiomicetos y deuteromicetos y en algas como las diatomeas.

El exoesqueleto de crustáceos es actualmente la principal fuente industrial de extracción de quitina, la cual se encuentra presente en diferentes porcentajes de acuerdo al tipo de crustáceos, variando con la especie biológica y la época del año en rangos muy amplios para los distintos constituyentes.

La composición química de los residuos de diferentes tipos de crustáceos para las zonas costeras en Iberoamérica se observa en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1** Composición química representativa de diversos tipos de desechos quitinosos industriales.

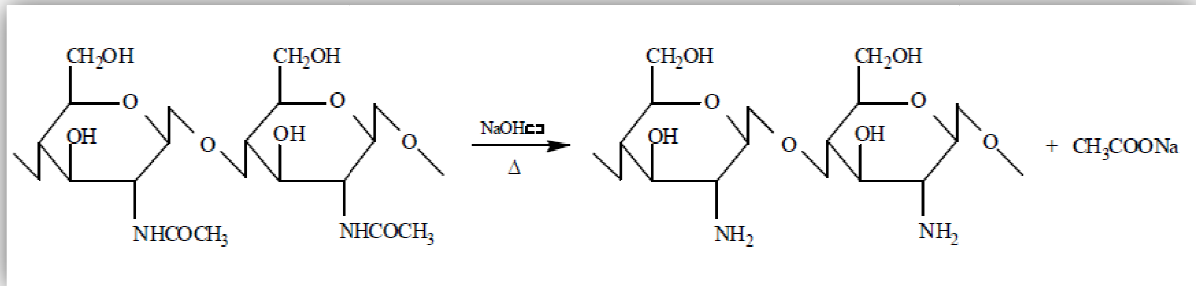
Fuente	Composición Química			
	Proteína (%)	Ceniza (%)	Lípidos (%)	Quitina (%)
Langosta y Langostinos	23.1	33.7	2.2	20.2
Camarón	58.0	24.2	1.4	16.4
Cangrejo	13.1	72.4	0.8	13.8
Calamar	55.3	0.9	0.6	43.2

Ref.: Agulló, E., Mato, R., (2004).

La Quitina se extrae fácilmente mediante un tratamiento químico con el fin de remover los pigmentos, las sales, tales como el carbonato de calcio, y las proteínas que se encuentran asociadas con ella.

## 1.4 Quitosano

Cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado, y a temperaturas superiores a 60°C, se produce la reacción de desacetilación. (Figura 1.2)



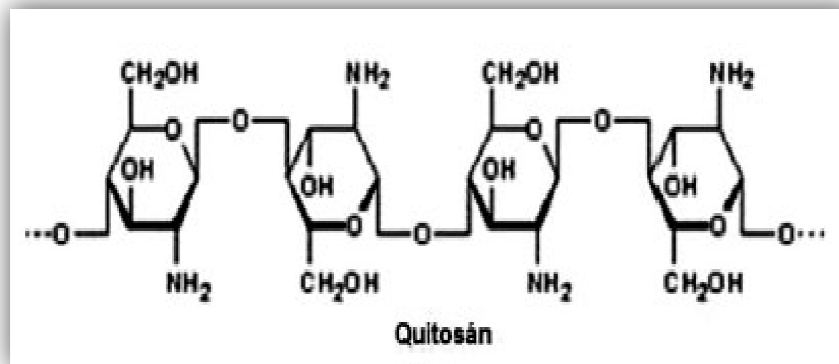
**Figura 1.2** Reacción de desacetilación de quitina.

Ref.: Díaz, G., (2002)

Esta reacción consiste en la pérdida del resto acetilo del grupo amido del carbono 2, mientras queda un grupo amino en esa posición.

El producto de la reacción se denomina quitosano y presenta propiedades significativamente diferentes a la quitina de partida. El quitosano constituye el derivado más importante de la quitina.

El quitosano posee una cadena más corta que la quitina, alrededor de 25-30 unidades menos de glucosamina. Su fórmula es beta (1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, (Figura 1.3).



**Figura 1.3** Estructura química del quitosano.

Ref.: Tapia, C., Soto, D., Albuquerque, C., (2009)

### 1.5 Propiedades del quitosano

El quitosano es el único polisacárido catiónico natural; esto le confiere propiedades especiales que lo hacen útil en numerosas aplicaciones. Dichas propiedades son:

- a) Inocuidad a la salud humana
- b) Propiedad antimicrobiana
- c) Biodegradabilidad

#### **a) Inocuidad a la salud humana (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

El quitosano tiene la propiedad única de unirse a las grasas en el tracto digestivo antes de que éstas entren en contacto con las enzimas digestivas y se absorban.

La grasa unida al Quitosano se vuelve una masa gelatinosa imposible de absorber por el organismo por lo tanto se elimina con las heces.

El quitosano posee una carga eléctrica positiva que le permite enlazar químicamente a los lípidos, grasas y bilis cargados negativamente. Es para los humanos una fibra totalmente indigerible, por tanto, la ingestión del mismo no

aporta ninguna caloría y al no absorberse a nivel sistémico, ejerce su mecanismo de acción sólo a nivel local; por lo cual no posee ninguna contraindicación, salvo la alergia manifiesta a los crustáceos.

La dosis letal del quitosano ( $DL_{50}$ ), en ratas, es de 16 g/Kg de peso corporal. Ello sitúa al quitosano en el nivel del azúcar y lo hace menos tóxico que la sal. Por este motivo, el quitosano ya ha sido aceptado como suplemento dietario o como aditivo alimentario por la legislación de varios países, entre ellos, Italia, Francia, Noruega, Estados Unidos, Argentina y Japón (ver sección 1.8 aspectos regulatorios). Además, el quitosano es punto de partida para la síntesis de derivados con el mismo fin.

#### **b) Propiedad antimicrobiana (Lárez, C., 2008)**

Los mecanismos de acción por los cuales el quitosano ejerce actividad antimicrobiana no han sido aclarados completamente; sin embargo, hay algunos mecanismos propuestos para explicar acciones específicas.

La interacción electrostática entre el quitosano cargado positivamente y algunas bacterias con membranas celulares cargadas negativamente (Gram negativas) altera de manera significativa las propiedades de barrera de la membrana exterior del microorganismo. La formación del complejo polielectrolito bloquea físicamente la membrana celular externa del microorganismo, impidiendo el flujo normal de nutrientes y desechos, provocando así la muerte bacteriana.

El mismo autor establece que para algunas bacterias Gram positivas que carecen de cargas negativas en la membrana celular, el quitosano ha mostrado actividad incluso mayor. En el caso de *S. aureus*, recientemente se ha planteado la posibilidad de que la membrana celular de estos microorganismos tenga poros lo

suficientemente grandes como para que el quitosano logre entrar al interior de las células y alterar funciones vitales de éstas.

Además, el quitosano inhibe multitud de especies de hongos, exceptuando, o siendo menos efectivo con aquellas que lo poseen en sus paredes celulares.

### **c) Biodegradabilidad (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

Se entiende como biodegradable al producto o sustancia que puede descomponerse en elementos químicos naturales por la acción de agentes biológicos, como el sol, el agua, las bacterias, las plantas o los animales. En consecuencia todas las sustancias son biodegradables, la diferencia radica en el tiempo que tardan los agentes biológicos en descomponerlas en químicos naturales.

Más que el origen, la estructura química de los biopolímeros es la que determina su biodegradabilidad; aunque, en cualquier caso para el quitosano, la respuesta biológica de este compuesto, así como cualquiera de sus propiedades, dependerá de sus características particulares, es decir, método de obtención, del peso molecular, del grado de desacetilación, etc.

La degradación del quitosano se debe principalmente a la susceptibilidad de ser hidrolizado enzimáticamente. Las macromoléculas son comúnmente degradadas fuera de las células a unidades mono o diméricas por la acción de exoenzimas y esos productos son absorbidos por las mismas.

Y es debido a su biodegradabilidad que el Quitosano abre un gran potencial económico y benéfico en el área de los empaques y películas o recubrimientos, dada las similitudes con los materiales sintéticos.

## **1.6 Aplicaciones de quitina y quitosano (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

En los últimos años, las publicaciones científicas, patentes y páginas web reportan y exponen los avances en la producción, caracterización y aplicaciones de la quitina, quitosano y sus derivados. La evolución de los usos y aplicaciones de estos biopolímeros es muy significativa y su tendencia crece de año con año.

Debido a las propiedades que poseen la quitina y el quitosano, se han podido identificar una enorme cantidad de aplicaciones que abarcan campos tan variados como el de la alimentación, la medicina, la agricultura, la cosmética, la farmacia y el control ambiental, entre otros, dichas aplicaciones se resumen a continuación.

### **a) Aplicaciones en alimentos**

El quitosano es un biopolímero inocuo a la salud humana y que posee numerosas propiedades que lo hacen muy versátil en su aplicación en el área de los alimentos. Se destacan en estas propiedades, su carácter emulsionante, gelificante, estabilizante y antioxidante. Además, el Quitosano previene reacciones de deterioro de los alimentos como el pardeamiento enzimático.

El quitosano es usado en la industria alimentaria ya que posee actividad antimicrobiana, por lo cual se lo emplea para extender el tiempo de preservación de los alimentos mínimamente procesados, por ejemplo, los productos hortofrutícolas sufren pérdidas de producto o disminución de su calidad por daños mecánicos, alteraciones fisiológicas o ataque de agentes patógenos como bacterias y hongos. La actividad antimicrobiana del quitosano se emplea para proteger a estos productos y proporcionarles una cobertura generada por la propiedad filmogénica de las soluciones del quitosano.

Se utiliza además, para recuperar materiales sólidos en residuos de industrias alimentarias; eliminar colorantes, sólidos, sustancias acidas de jugos de frutas; y también para la recuperación de proteínas y grasas del suero de quesos.

Entre otros usos se puede mencionar la purificación de agua de consumo, la inmovilización de enzimas, el encapsulamiento de nutraceuticos, las películas biodisponibles, los envases activos y los aditivos en alimentos.

### **b) Aplicaciones en medicina**

Una gran variedad de usos médicos de quitina y quitosano ha sido reportada por R. L. Whistler. Polysaccharide Chemistry New York, (1983). Dichos estudios sugieren que estos polímeros pueden ser usados para inhibir fibroplasias y promover el crecimiento de tejidos debido a sus propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad.

Actualmente, se usan a la quitina y quitosano en vendajes para heridas, alimentos dietéticos anticolesterolémicos, vehículos para la liberación controlada de fármacos, entre otras aplicaciones.

### **c) Aplicaciones en agricultura**

El uso de quitina y quitosano en la agricultura se centra en mejorar los rendimientos agronómicos por medio de varios mecanismos. Las semillas recubiertas con soluciones de quitosano mejoran su germinación y producen altos rendimientos de cosecha.

Adicionalmente, la quitina y el quitosano fueron usados en una proporción del 0.1% como suplementos de suelo y se encontró una buena modulación y fijación de nitrógeno después de la etapa de crecimiento.



Otro campo de aplicación de la quitina y el quitosano en agricultura es su utilización como matrices para la liberación de agroquímicos para el control de plagas o para suministrar nutrientes de una manera sostenida y selectiva.

#### **d) Aplicaciones en cosmética**

La actividad fungicida del quitosano y la capacidad para disolverse en ácidos orgánicos lo hace compatible en formulaciones de crema, lociones y acondicionadores para el cabello.

Entre los efectos positivos del quitosano en formulaciones cosméticas, tenemos su compatibilidad con la piel, a la que protege actuando como una barrera física contra la radiación ultravioleta y la deshidratación. Su formulación en cremas aprovecha su carácter filmogénico, que permite una rápida disminución de las líneas de expresión.

Y recientemente una patente americana propone al quitosano como material alternativo para la fabricación de lentes de contacto.

#### **e) Aplicaciones farmacéuticas**

Las industrias americana y japonesa han investigado, en las últimas décadas, el uso de quitosano en sistemas de liberación controlada de fármacos. Este biopolímero catiónico con grupos funcionales potencialmente reactivos tiene posibilidades especiales para utilizarse en esta tecnología. La biocompatibilidad y la biodegradabilidad del quitosano han sido claramente establecidas y son cualidades sumamente importantes para esos objetivos.

Sus mayores usos han sido en la elaboración de membranas de hemodiálisis, suturas biodegradables, sustitutos artificiales de la piel, agentes cicatrizantes en

quemaduras, sistemas liberadores de fármacos, liberación de la insulina, transporte de agentes anticancerígenos y paralizador de las hemorragias.

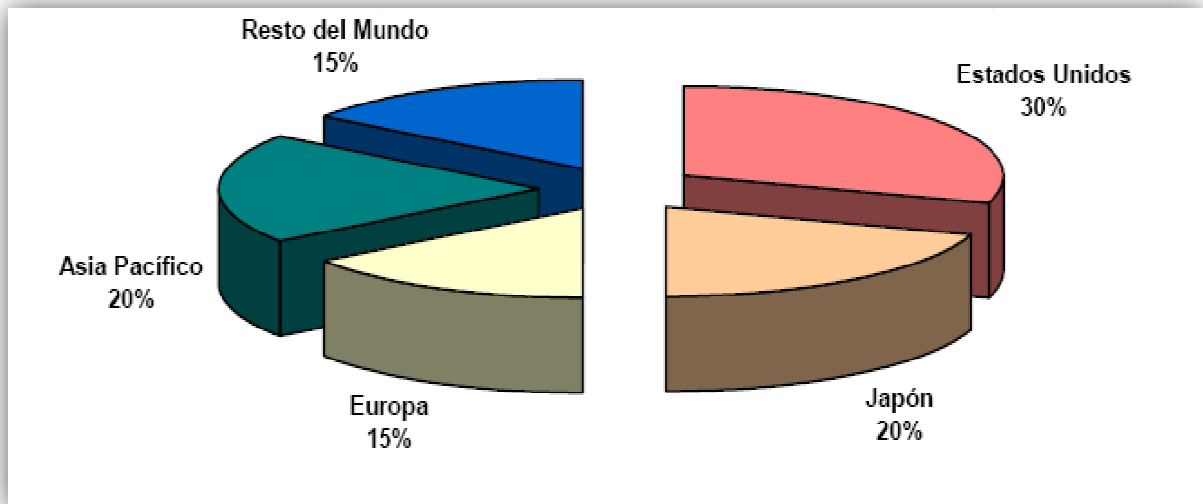
#### **f) Aplicaciones en control ambiental**

En una de sus primeras aplicaciones en control ambiental, el quitosano ha sido empleado como un efectivo agente coagulante en reactores de lodo activado en plantas de tratamiento biológico secundario de aguas de origen doméstico e industrial. El mayor impacto en control ambiental de la quitina y el quitosano es el potencial que poseen en sistemas de tratamientos de aguas residuales que contienen metales tales como Cu (II), Cd (II), Zn (II), Pb (II), Fe (III), Mn (II), Ag (I). Este hecho se debe a la capacidad que presentan estos polímeros de sufrir reacciones de quelación con ellos.

#### **1.7 Mercado mundial de quitina y quitosano (Caprile, M., 2006)**

El mercado de la quitina y el quitosano ha venido evolucionando aceleradamente. En 1990 la producción mundial anual estimada era de mil toneladas, mientras que en la actualidad, la cifra se aproxima a las 6 mil toneladas y la tendencia es hacia una franca expansión a medida que se conocen más aplicaciones de ambos polímeros y las regulaciones para su uso se extienden a diversos campos.

El mercado mundial de productores de quitina y quitosano está formado por diferentes actores. Liderando el mercado se encuentran Estados Unidos y Japón y en menor escala destacan la Unión Europea y algunos países asiáticos, (Figura 1.4)



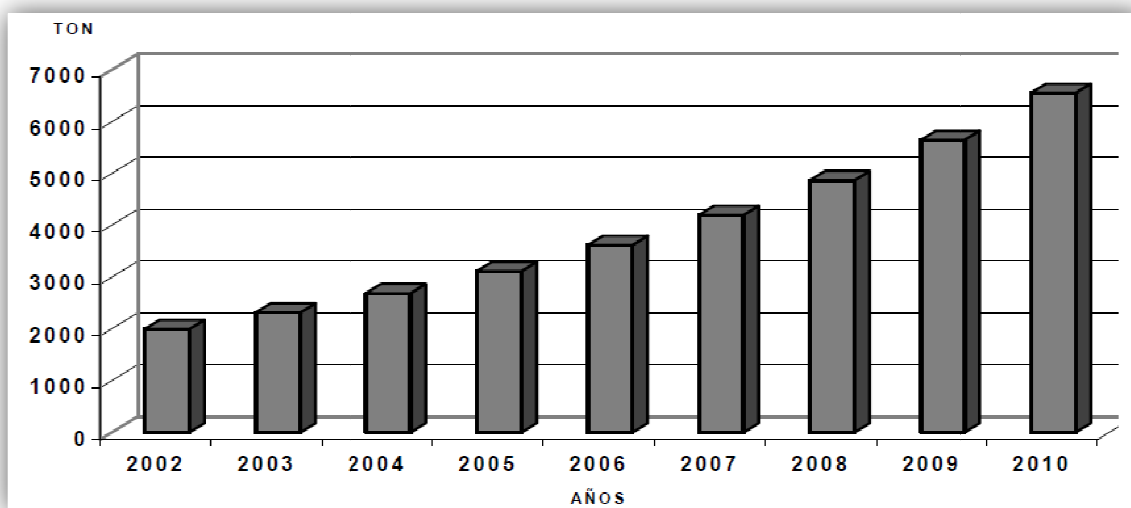
**Figura 1.4** Gráfico de composición del mercado mundial de quitina y quitosano.

Ref.: Caprile, M., (2006).

Las cifras disponibles indican que una porción elevada del mercado continua dominada por el uso del quitosano como suplemento alimenticio y como agente floculante. Sin embargo, la mayor parte de las empresas que se han venido estableciendo en los últimos años están más orientadas hacia aplicaciones de alto valor agregado como la industria de alimentos, biomedicina y agricultura.

La gran variedad de aplicaciones del quitosano ha dado origen al nacimiento de una nueva generación de empresas dedicadas a capitalizar las oportunidades que brindan nichos de mercados altamente especializados. Ello se constata, particularmente, en el campo de usos de matrices para el cultivo de células, la elaboración de derivados bioactivos con usos en el tratamiento de enfermedades crónicas, la fabricación de materiales para usos médicos y la conservación de alimentos.

Un estudio realizado en el año 2008 por Global Industry Analyst, Inc., la cual es un editor de renombre en investigaciones de mercado y reconocido mundialmente, reportó que la producción mundial de quitina y quitosano proyectada para el año 2010 arroja como resultado una tasa de crecimiento anual del 16%. La Figura 1.5 muestra la proyección estimada de producción mundial de quitosano para el año 2010.



**Figura 1.5** Proyección de la evolución del mercado mundial de quitosano.

Ref.: Caprile, M., (2006).

### **1.8 Aspectos Regulatorios (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

Según M. L. Weiner, (1992), países como Japón, Noruega, Italia, entre otros, han aprobado el uso de quitosano en alimentos. En Japón fue aprobado desde hace quince años, de tal manera que se ha incorporado a alimentos funcionales como promotor de la salud cardiovascular.

De hecho, dentro de la categoría de alimentos funcionales en este país, Foods for Specified Health Use, que son regulados por la Oficina de Política en Salud y Bienestar, se han aprobado declaraciones en la etiqueta que asocian el consumo de alimentos en los que se ha empleado quitosano al hecho de ser anticolesterolémicos.

En el caso de Estados Unidos, reportes recientes afirman que el producto Chito Clear TM de la empresa Primex ha sido registrado como “auto-reconocido como inocuo” (Self-affirmed GRAS status), lo que permite su uso como ingrediente alimenticio en ese país (D. E. Pszczola, 2003).

El uso del quitosano como suplemento dietético se encuentra regulado por la Dietary Supplement Health and Education Act (DHSEA) y, de acuerdo con esta disposición legal, no se requieren pruebas de inocuidad y seguridad para suplementos dietarios comercializados antes del 15 de octubre de 1994.

Todo esto demuestra que el mercado y la regulación de Quitina y Quitosano han crecido de manera explosiva en los últimos años.

## 2.0 LANGOSTINO: GENERALIDADES Y SU APROVECHAMIENTO EN EL SALVADOR

---

### 2.1 Generalidades del Langostino

El Langostino *Pleuroncodes planipes*, conocido comúnmente como “langostino chileno” o “langostilla” es un crustáceo decápodo, el cual está estrechamente relacionado con los cangrejos de porcelana, cangrejos ermitaños y luego, más distante, con los cangrejos comunes. Se distribuye desde la costa occidental de California del Sur, Suroeste de México hasta algunos países de Centro América. La figura 2.1 muestra la imagen del langostino *Pleuroncodes planipes*.



**Figura 2.1** Fotografía de Langostino *Pleuroncodes planipes*.

Planta procesadora de langostino ubicada en la zona de Acajutla, El Salvador

El cuerpo del langostino es aplanado, el abdomen suele ser doblado en sí mismo, y las patas delanteras son muy alargadas y armadas con pinzas largas. El quinto par de patas generalmente está oculto dentro de la cámara de enmalle, bajo el caparazón, dando al langostino la apariencia de tener sólo ocho patas.

El langostino tiene una longitud del cuerpo máxima de 100 mm. Para la zona costera del pacífico salvadoreño la población de langostino chileno presenta rangos entre 10 y 42 mm de longitud cefalotorácica, estimándose que la talla promedio de la población es de 26.8 mm con un abdomen extendido (González, J., Salazar, J., 2007).

## 2.2 Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica del langostino *Pleuroncodes planipes* se muestra en la tabla 2.1

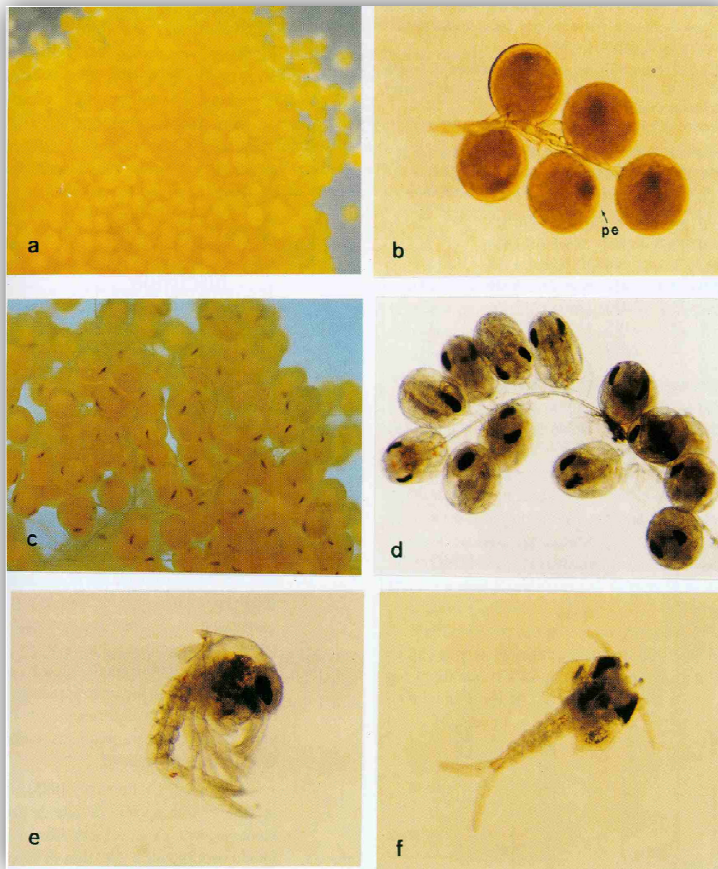
**Tabla 2.1** Clasificación taxonómica del langostino

Reino	Animalia
Phylum	Arthropoda
Sub-phylum	Crustácea
Clase	Malacostraca
Orden	Decápoda
Sub-orden	Reptantia
Familia	Galatheidae
Género	<i>Pleuroncodes</i>
Especie	<i>Pleuroncodes planipes</i>
Nombre científico	“Langostino Chileno”, “Langostilla”

Ref.: Cárdenas, J., Orellana, L., (2005)

### 2.3 Ciclo de vida y época de muda

Cárdenas J., y Orellana L., (2005), afirman que la hembra de esta especie transporta sus huevos de una a tres semanas y después son liberados y permanecen en el plancton donde pasan a través de cinco estadios (Figura 2.2) hasta convertirse en juveniles. (Figura 2.3)

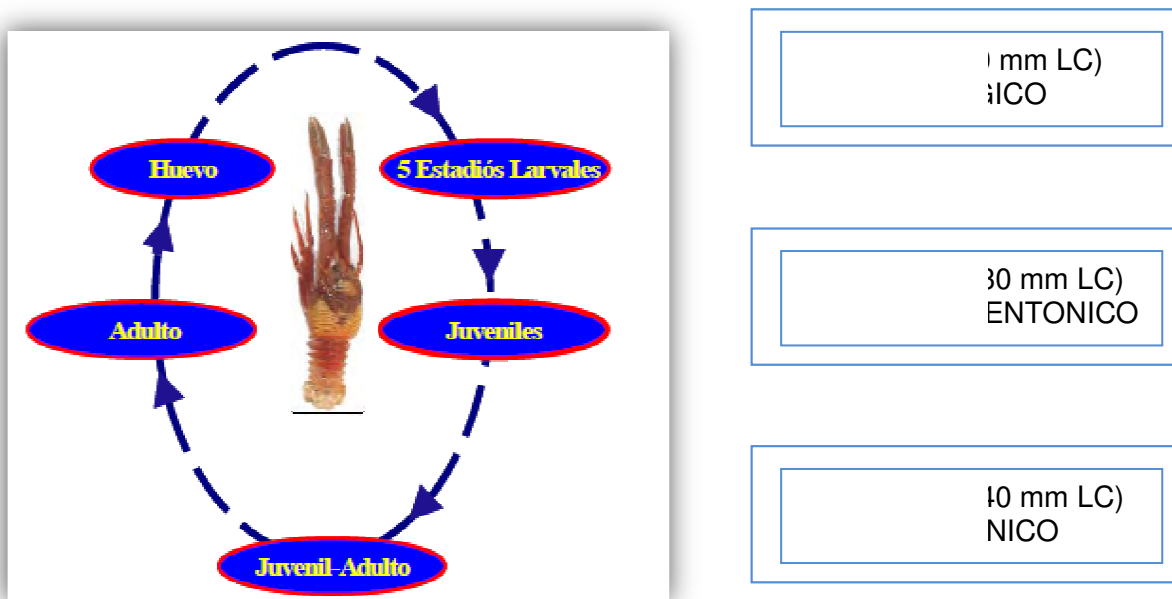


**Figura 2.2** Estados de desarrollo embrionario y larvas de langostino

a) Estado 1: huevos inmaduros; b) Estado 2: vitelo granuloso, pe: primordio embrionario; c) Estado 3: embriones con pigmentación negra oblicua en los ojos; d) Estado 4: embriones con ojos ovalados totalmente pigmentados; e) Estado 5: Larva recién eclosionada, mostrando la curvatura propia inicial; f) Larva extendida, minutos después de la eclosión.

Ref.: Palma, S., Arana, P., (2007).





**Figura 2.3** Ciclo de vida de Langostino Chileno (*Pleuroncodes planipes*).

Ref.: Cárdenas J., y Orellana L., (2005)

Los mismos autores, sostienen que en la fase juvenil y parte de la adulta transcurren la columna de agua hasta poco más del año de edad que sería la fase pelágica, donde alcanza los 20 mm de cefalotórax.

El segundo año de vida (20-30 mm de cefalotórax), *Pleuroncodes planipes* alterna el modo de vida pelágico con el bentónico, desarrollándose así la segunda fase, el tercer año de vida llega a medir de 30 a 42 mm de cefalotórax, que se convierte estrictamente bentónico habitando en el borde de la plataforma continental que alcanza unos 200 m de profundidad media y talud que se sitúa entre los 200 y 2000 m de profundidad media.

En los crustáceos, el proceso de crecimiento se produce de forma discontinua y cíclica debido al fenómeno de muda o ecdisis. Para crecer experimentan mudas cuyo ritmo disminuye con la edad.

El proceso de muda se divide en tres pasos:

- Formación de una capa interna, presencia de doble capa y su duración es de 10 días aproximadamente.
- Rompimiento del cascarón antiguo y apareamiento del nuevo, duración 4 días.
- Endurecimiento total de la capa nueva.

#### **2.4 Distribución y Abundancia de Langostino (*Pleuroncodes planipes*) en la Costa Pacífica de El Salvador (González, J., Salazar, J., 2007)**

El Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad de El Salvador (ICMARES), junto con el grupo pesquero PRESTOMAR y Pesquera del Sur en unión a otras entidades gubernamentales han presentado un informe en el cual se ha clasificado el recurso Langostino disponible pescable, en cuatro zonas en El Salvador, como puede observarse en el mapa presentado en la Figura 2.4

Las cuatro zonas en El Salvador donde se encuentra disponible el recurso langostino son:

- a) Zona I: Bocana del Río Paz - Puerto de Acajutla.
- b) Zona II: Puerto de Acajutla - Puerto La Libertad.
- c) Zona III: Puerto La Libertad - Bocana del Río Lempa.
- d) Zona IV: Bocana del Río Lempa - Golfo de Fonseca.



**Figura 2.4** Distribución de las zonas disponibles pescables del langostino *Pleuroncodes planipes* en El Salvador.

Ref.: González, J., Salazar, J., (2007).

La distribución del langostino en la costa salvadoreña, mostró la existencia de una franja poco dispersa a lo largo de la costa, los mayores volúmenes se concentraron de los 180-200 m de profundidad, lo cual indica que la biomasa explotable de la población se concentra en este rango.

En cuanto a la abundancia del recurso la relación del langostino con su fauna asociada presenta una proporción de 67% especie objetivo.

Además, el mismo autor reporta la Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE) del langostino; el cual es un parámetro utilizado para realizar una estimación de la abundancia del recurso, relacionando dos variables: las capturas obtenidas durante la pesca y el tiempo de arrastre promedio; siendo estos valores reportados

tanto para la época seca (diciembre-mayo) como para la época lluviosa (junio-noviembre).

Al hacer la comparación entre la época seca con la época de lluvia, la primera presentó valores constantes, ya que se reportaron capturas entre los 1,000 a 1,600 kg/h, siendo esta época la más regular en cuanto a la abundancia del recurso (Tabla 2.2)

**Tabla 2.2** Valores de CPUE (kg/h) promedio de *P. planipes* por época climática realizados en seis cruceros de investigación en la zona costera salvadoreña.

<b>Época Seca</b>		<b>Época de Lluvia</b>	
<b>Mes</b>	<b>CPUE (kg/h)</b>	<b>Mes</b>	<b>CPUE (kg/h)</b>
Febrero	967.5	Julio	595.1
Marzo	1629.0	Septiembre	660.9
Mayo	1247.8	Noviembre	2402.2
<b>PROMEDIO</b>	<b>1281.4</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>1219.4</b>

Ref.: González, J., Salazar, J., (2007).

Los registros de captura a nivel de zonas de muestreo presentaron muchas variaciones, por ejemplo: en la zona III se registró la mayor abundancia del recurso, alcanzando volúmenes de hasta 3,000 kg/h, por otra parte los menores valores se presentaron en la zona I y II con registros de hasta 1,500 kg/h; mientras que la zona IV obtuvo valores medios.

Este comportamiento refleja que la población de *Pleuroncodes planipes* es muy variable en tiempo y espacio, dejando claro que la existencia de diferentes patrones como las épocas climáticas, las corrientes marinas, épocas de muda, períodos de reproducción y presencia de zonas ricas en nutrientes podrían influenciar la distribución y abundancia del recurso.

## **2.5 Importancia del Langostino para la Industria Salvadoreña (El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2006)**

Hasta finales de los años 90 la pesquería del camarón y su fauna acompañante sustentaron la pesca industrial salvadoreña, sin embargo el estado de sobreexplotación, los efectos de los fenómenos naturales, la fuerte presión y algunas prácticas nocivas tales como la pesca en zonas estuarinas y con artes de pesca no permitidos han hecho que el recurso pierda posicionamiento.

A partir del año 2002 la captura comercial del Langostino ha tomado auge. Actualmente dos empresas, una de ellas localizada en el Puerto de la Unión y la otra en el Puerto de Acajutla, exportan langostino a Europa y Estados Unidos.

Los datos de exportaciones de langostino, correspondientes al período de enero a diciembre de 2008, según la balanza de pagos del Banco Central de Reserva (BCR), y en comparación con la exportación de camarón, se pueden observar en la Tabla 2.3

**Tabla 2.3** Volúmenes de exportación de langostino y su equivalente económico para el año 2008

<b>CONCEPTO</b>	<b>VOLUMEN, kg</b>	<b>VALOR, US \$</b>
<b>Camarón congelado</b>	86,401	566,447
<b>Langostino congelado</b>	763,366	9,420,522

Fuente: Balanza de pagos del BCR, 2008.

El langostino figura entre los productos pesqueros con mayor volumen de comercio a nivel mundial. De acuerdo a datos del BCR, del volumen total de exportación de langostino, detallado en la tabla 2.3, a Europa se exportan 18,294 kg que representan un valor monetario de \$161,322; mientras que a Norte

América se exportan 745,072 kg con un valor de \$9,259,200; haciendo un total de \$9,420,522, representando así una contribución a la economía en este rubro.

De conservarse las tendencias en los comportamientos marinos para el caso del langostino, se esperarían resultados positivos, según el Centro para el Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA).

## **2.6 Impacto ambiental y aprovechamiento del residuo del Langostino (*Pleuroncodes planipes*) en El Salvador (Ref.: Pesquera del Sur)**

Las plantas procesadoras de crustáceos utilizan, únicamente, entre el 5 y 10% del peso del langostino para la extracción de su parte comestible y su posterior comercialización en la industria de alimentos; el resto está constituido por vísceras y exoesqueleto.

Específicamente en la zona de Acajutla, el procesado del langostino asciende a 6, 136,000 kg por año, pero esta cantidad de pesca genera a la vez alrededor de 5, 646,000 kg de residuos que son considerados como contaminantes ambientales, y que en la actualidad, únicamente son dispuestos en un relleno sanitario. La Figura 2.5 muestra una fotografía de los residuos generados por una planta procesadora de Langostino.



**Figura 2.5** Fotografía tomada en el área de desecho de una planta procesadora de langostino ubicada en la zona de Acajutla, El Salvador

Los residuos del procesado de crustáceos constituyen una problemática para todos los países dedicados a este rubro y, por tal motivo, este volumen de residuos, unido a su lenta capacidad de degradación, ha estimulado una intensa investigación a nivel internacional centrada en la determinación y búsqueda de un uso sostenible del recurso.

Los desechos sólidos de los crustáceos sin tratamiento tienen un importante potencial de contaminación y su disposición final genera, por lo tanto, diversos problemas. En algunos casos se les destina en vertedores de rellenos sanitarios o se eliminan por incineración. En otros casos, se produce su volcado directo en el océano u otros lugares, lo que origina diferentes grados de polución de acuerdo con la magnitud del desecho.

Con el fin de dar solución a dicha problemática, las plantas que procesan crustáceos en Iberoamérica operan de diferentes maneras con sus desechos, algunas secan el caparazón completo incluyendo vísceras y restos orgánicos; los muelen y comercializan como harina destinada a alimento balanceado para animales o fertilización. El contenido mineral de estas harinas es relativamente alto y ciertos compuestos, como la quitina, resultan ser no digeribles y pueden producir problemas de irritación intestinal. La ingesta diaria debe, por lo tanto, ser reducida y controlada. Estas características hacen que el mercado de consumo no tenga un volumen de comercialización importante. Además, sí en determinadas regiones no existe un consumo local de cierta magnitud, el costo de fletes puede hacer que la producción de harinas no sea rentable (Agulló, E., Mato, R. 2004).

Otra alternativa utilizada es la extracción y comercialización de las proteínas y la fracción residual, compuesta principalmente por quitina y minerales de calcio, y utilizarla como fertilizante.

Actualmente en El Salvador, estos residuos de langostino, considerados como “contaminantes ambientales”, resultan ser compuestos no aprovechados, que podrían ser utilizados, por ejemplo, como materia prima para la obtención de dos biopolímeros especializados y de alto valor agregado a nivel mundial: la quitina y su derivado funcional, el quitosano, que tienen un inmenso campo de aplicación con relevante valor económico.



## **3.0 PROCESOS DE OBTENCION DE QUITINA Y QUITOSANO**

---

### **3.1 Introducción**

Debido a su alto contenido de humedad y composición química, los desechos o materia prima utilizables industrialmente para producir quitina y quitosano constituyen una biomasa altamente perecedera desde el punto de vista microbiológico. Es también, muy susceptible a la degradación enzimática, especialmente bajo las condiciones climatológicas prevalecientes la mayor parte del año en El Salvador.

Por tanto, su manejo previo es un paso que requiere atención especial, sobre todo si, además, la planta procesadora se encuentra alejada de las plantas donde se genera el desecho. Las dificultades a vencer son, especialmente, aquellas asociadas a reducir el deterioro microbiológico durante el transporte, almacenamiento y triturado de la biomasa antes de ser procesada.

### **3.2 Conservación y almacenamiento de materia prima (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

Para preservar las características de calidad de la biomasa quitinosa, o materia prima, es indispensable que el proceso de extracción se realice en un laboratorio cercano a las plantas pesqueras que la proporcionarán. Esto representa beneficios económicos porque disminuye los costos de transporte y requerimientos de almacenaje. Se conocen al menos cuatro alternativas para preservar la biomasa quitinosa, cada una de estas opciones presenta ventajas y desventajas que se mencionan brevemente a continuación:

### **a) Enfriamiento**

En el caso del almacenamiento a baja temperatura, en congelación ( $a \sim -18^{\circ}\text{C}$ ) ó refrigeración ( $a \sim -4^{\circ}\text{C}$ ), el tipo de tratamiento depende del tiempo previsto de almacenamiento previo al proceso. Desde el punto de vista de la calidad de los productos finales quitina, quitosano, pigmentos y proteína, la congelación es la opción más deseable, toda vez que, de esta forma, se preserven las características de los componentes en su estado nativo, como el alto peso molecular, además, se previene de la degradación microbiana y no se pierden las propiedades fisicoquímicas de las proteínas. No obstante, los tratamientos a baja temperatura implican mayores costos.

### **b) Secado**

Aunque el secado con calor ofrece una alternativa más viable que la congelación, desde el punto de vista económico, y permite prolongar el almacenamiento de grandes volúmenes de desecho a temperaturas más altas que las aplicadas en la congelación, el tratamiento necesario para evaporar el agua promueve una mayor interacción química entre quitina y proteína y, por lo tanto, hace más difícil la separación subsiguiente de la quitina. Ello menoscaba la pureza del polímero obtenido e implica tratamientos químicos severos. Además, pueden ocurrir reacciones termo-oxidativas en el polímero, con lo cual se afecta sensiblemente la calidad del material producido, en particular para aplicaciones de alto valor agregado.

### **c) Ensilado**

Consiste en los tratamientos de la biomasa por medio de la adición de ácidos tanto orgánicos como inorgánicos, o por medio de la fermentación con bacterias ácido-lácticas que producen el ácido in situ a partir de una fuente barata de azúcares. En el ámbito industrial, resulta en menos insumos de energía, agua y productos químicos, y se le considera como un pre-tratamiento en las operaciones del proceso de aislamiento de quitina.

#### **d) Tratamiento alcalino**

La materia prima se somete a tratamiento con una solución alcalina diluida. Este proceso ha demostrado ser efectivo durante algunos días y depende de las condiciones de almacenaje. La solución utilizada no debe ser removida, ya que puede usarse en la posterior etapa de desproteínización.

#### **3.2.1 Acondicionamiento de la materia prima**

Todos los tratamientos en la obtención de quitina involucran reacciones químicas entre una fase sólida y otra líquida, y requieren del acceso de los reactivos líquidos hasta los sitios sólidos activos. Para lograr esto, es necesario acondicionar la materia prima, en este caso, reducir el tamaño de las partículas sólidas, de tal manera que se facilite el contacto íntimo entre fases a fin de obtener condiciones uniformes de reacción.

Otra operación de acondicionamiento consiste en la eliminación de la materia orgánica u otro material extraño adherido a la superficie mediante lavados sucesivos con agua a ebullición.

#### **3.3 Aislamiento de quitina (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

Los desechos de los crustáceos están compuestos de proporciones variables de proteínas, sales de calcio, quitina y cantidades mínimas de grasa y otros compuestos (Tabla 1.1), por lo tanto, el proceso para llevar a cabo el aislamiento de la quitina involucra tres operaciones básicas:

- 1) Decoloración
- 2) Desproteínización
- 3) Desmineralización

## **1) Decoloración**

Los exoesqueletos de crustáceos contienen pigmentos cuya recuperación puede ser integrada al proceso general de obtención de quitina, puesto que los mismos poseen un alto valor comercial. Químicamente la mayor parte de los pigmentos presentes en los crustáceos son la astacina, la astaxantina, la cantaxantina, la luteína y el  $\beta$ -caroteno. Se han reportado varias condiciones para la remoción de los pigmentos de las materias primas quitinosas. Estos compuestos pueden ser separados mediante extracciones del exoesqueleto con etanol, éter, acetona, cloroformo, entre otros. También se ha reivindicado que el empleo de ácido acético al 50% en caliente puede, simultáneamente, desmineralizar las cáscaras y extraer los carotenoides presentes.

De igual forma se pueden emplear agentes blanqueadores convencionales tales como el peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 5-3% ó hipoclorito de sodio ( $NaClO$ ) al 0.32%. También se han empleado tratamientos que combinan la extracción con solventes y el uso de agentes oxidantes. Sin embargo, esta última alternativa debe ser considerada con mucha precaución, debido a los cambios químicos que este tipo de tratamiento oxidativo puede inducir en la estructura del polímero afectándolo negativamente.

## **2) Desproteización**

Para separar la proteína en el material biológico, los exoesqueletos de crustáceos son tratados usualmente con soluciones de hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) (1-10%) a temperaturas entre los 65 y los 100°C durante un periodo de 1 a 24 horas.

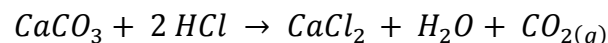
La relación entre la fase sólida compuesta por los fragmentos de caparzones y la líquida de la solución alcalina esta en un rango aproximado de 1:5 a 1:10, expresada en kilogramos de sólido por litro de solución. Es importante lograr un mezclado uniforme del medio reaccionante.

Un aspecto importante a tenerse en cuenta durante la desproteinización es la formación de espuma característica de las proteínas. Para reducir este efecto, se debe optimizar las condiciones operacionales, principalmente, la velocidad de agitación.

### **3) Desmineralización**

El contenido mineral de los residuos de los crustáceos oscila entre 30% y 55%, y está constituido principalmente, por carbonato de calcio, y en menor proporción (~10%) por fosfato de calcio. El carbonato de calcio se hace presente, mayormente, como calcita en condiciones cristalinas, aunque también se le encuentra en el estado amorfo. La remoción de carbonato de calcio se realiza por tratamiento ácido. Para ello, se han utilizado numerosos ácidos: ácido clorhídrico (HCl), ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH), ácido fórmico (HCOOH), etc., pero habitualmente, se realiza con soluciones diluidas de HCl a temperatura ambiente. La concentración de la solución de HCl, la cantidad de ella y el tiempo de tratamiento varían de acuerdo con la materia prima.

Desde el punto de vista químico, la desmineralización con ácidos se logra a través de la siguiente reacción:



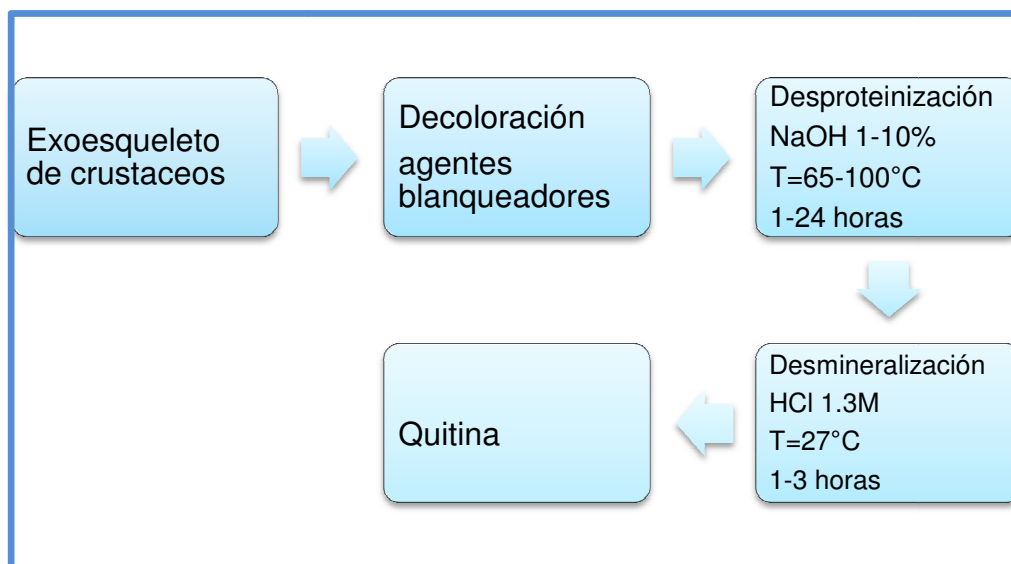
En esta reacción, se obtiene cloruro de calcio disuelto en el efluente acuoso y se libera dióxido de carbono. Mediante esta ecuación, es posible calcular el requerimiento estequiométrico de HCl necesario para reaccionar con la cantidad de carbonato de calcio presente. En este sentido, es importante considerar la variabilidad del contenido de minerales en los caparazones de crustáceos, ya que este varía no solo con la especie sino con las estaciones del año.

Al concluir el proceso de desmineralización se procede al lavado de la quitina. Si queda retenido ácido en la estructura sólida, puede producirse rotura de la cadena polimérica de quitina. Para evitar este proceso se puede agregar una solución alcalina en pequeñas cantidades como para alcanzar un pH neutro, sobre todo si la desacetilación para obtener quitosano no se realiza a continuación.

Al iniciar la etapa de desmineralización ácida, es importante asegurar que la quitina haya sido lavada hasta la neutralidad con anterioridad, pues de lo contrario parte del ácido añadido para la desmineralización se pierde. Lo anterior es válido para la continuación del proceso, ya que, de quedar ácido en el sólido antes de la desacetilación, una parte del NaOH se gasta, lo que además trae como consecuencia una disminución en su concentración.

Luego resulta conveniente desplazar la mayor cantidad de líquido retenido en la quitina, para evitar la dilución del álcali si se efectúa la desacetilación.

A continuación la Figura 3.1, resume el proceso de extracción de quitina a partir de exoesqueletos de crustáceos.



**Figura 3.1.** Esquema del proceso de extracción de quitina

Ref.: Agulló, E., Mato, R., (2004)

### **3.4 Obtención de quitosano (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

El quitosano es el principal derivado de la reacción de desacetilación de la quitina (Figura 1.2). Para obtenerlo se requiere de tratamientos térmicos en soluciones acuosas muy concentradas, generalmente hidróxido de sodio (NaOH) al 50% en una relación 1:7 a 100 °C por una hora. La desacetilación completa difícilmente se alcanza y normalmente no es necesaria, ya que la solubilidad en soluciones de ácido diluido se logra a partir de un grado de desacetilación de ~60%.

El criterio utilizado para distinguir entre quitina y quitosano es precisamente la solubilidad de este último en soluciones ácido diluido. El quitosano, por lo tanto, no es una entidad química única y definida, sino que designa a una familia de polisacáridos que varía entre sí en su composición y tamaño molecular. Esta variabilidad se asocia especialmente a las condiciones del proceso de obtención.

### **3.5 Caracterización de Quitosano**

Tanto la composición de las cadenas de quitosano, como sus dimensiones, suelen variar dependiendo del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención.

Por este motivo, el grado de desacetilación y el peso molecular son dos parámetros que se deben conocer para caracterizar una muestra de este polisacárido ya que ambos tienen gran incidencia en sus propiedades. Otros parámetros a determinar para su caracterización más completa serían, el porcentaje de humedad, el contenido de cenizas, las proteínas totales, la cristalinidad, la determinación del contenido de material insoluble, etc., sin embargo para la aplicación del quitosano como recubrimiento o película basta con determinar su peso molecular y grado de desacetilación. (Maldonado S., 2005).

### **3.5.1 Determinación del grado de desacetilación (Díaz, G., 2002)**

Un parámetro importante para el estudio de la quitina es su grado de acetilación o grado de desacetilación. Es decir la razón entre las unidades 2-acetamida-2-deoxi-D-glucopiranososa y 2-amino-2-deoxi-D glucopiranososa. Esta razón tiene un marcado efecto en la solubilidad y las propiedades de la quitina.

La quitina presenta un grado de acetilación típico de 0.90, mientras que el quitosano posee un grado de acetilación de menos de 0.35. Para calcular esta razón se emplean muchas herramientas analíticas, entre ellas: espectroscopía infrarroja, titulación potenciométrica, espectroscopía ultravioleta, espectroscopía de resonancia magnética nuclear, entre otros.

#### **3.5.1.1 Titulación potenciométrica (Díaz, G., 2002)**

El potencial de un electrodo adecuado puede utilizarse en forma muy conveniente para establecer el punto de equivalencia en una titulación, lo que se denomina una titulación potenciométrica.

Por lo general, la titulación potenciométrica consiste en la medida o registro de un potencial de celda, o una lectura de pH, después de cada adición del reactivo valorante. Al comienzo se agregan porciones relativamente grandes del reactivo con el que se titula; a medida que se aproxima al punto final, anunciado por mayores cambios de potencial, las adiciones de reactivo titulante se hacen más pequeñas.

El punto final de la titulación se determina calculando el cambio de potencial por unidad de cambio en el volumen del reactivo (es decir  $\Delta E/\Delta V$ ; curva de la primera derivada), donde se supone que la curva de titulación es asimétrica con relación al verdadero punto de equivalencia, y que la inflexión en la curva corresponde a



dicho punto. Este supuesto es perfectamente válido, siempre que las especies químicas participantes en el proceso reaccionen entre sí en una forma equimolar.

La determinación del contenido de grupos amino en el quitosano se realiza por una titulación potenciométrica ácido-base (Broussignac, P., 1968), la cual consiste en medir las variaciones de los valores de pH al titular una solución de quitosano.

El quitosano es disuelto en HCl y titulado con NaOH; esto produce una curva de titulación con dos puntos de inflexión, (Fig. 3.2) la diferencia entre las dos abscisas corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano. La concentración del grupo amino está determinada por la ecuación (3.1):

$$\%NH_2 = \frac{16.1(y-x)}{w} f \quad \text{Ec.(3.1)}$$

Donde:

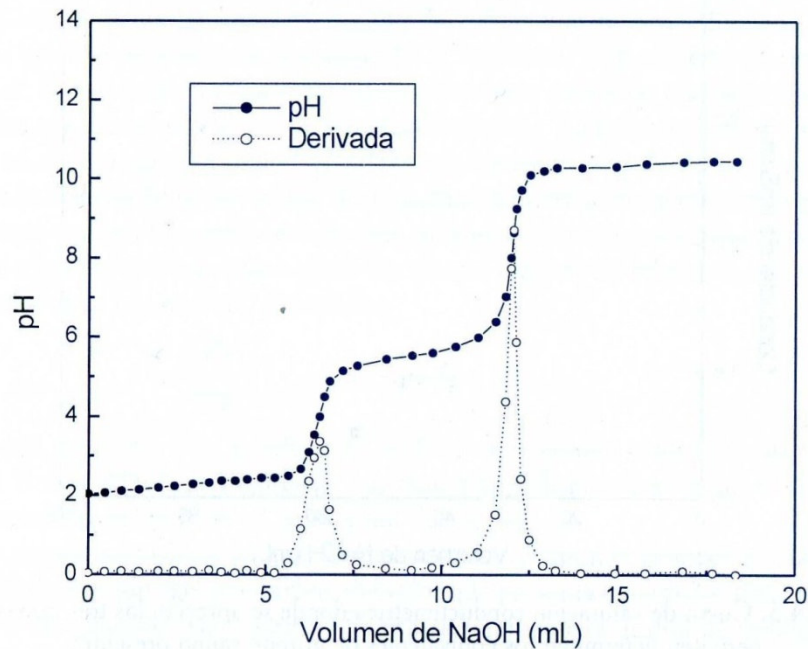
**y** : Punto de inflexión mayor, expresado en volumen

**x**: Punto de inflexión menor, expresado en volumen

**f**: Molaridad de la solución de NaOH

**w**: Peso en gramos de la muestra

**16.1**: Valor relacionado con el peso equivalente del quitosano



**Figura 3.2.** Curva de titulación potenciométrica para el quitosano comercial y su primera derivada en la que se muestran los dos puntos de inflexión que permiten determinar el grado de acetilación

Ref.: Agulló, E., Mato, R., 2004

### 3.5.2 Determinación del peso molecular

#### 3.5.2.1 Viscosimetría (Gestí, S., 2004)

La viscosidad es la propiedad de todo fluido (líquido o gas) que caracteriza su comportamiento de flujo. A escala microscópica, la mayor o menor viscosidad de un fluido es consecuencia de la facilidad con que las partículas que lo constituyen se deslizan unas respecto a otras, al estar relacionada la viscosidad con el rozamiento interno del fluido.

En el caso concreto de disoluciones poliméricas, la viscosidad es bastante elevada ya que, debido al elevado tamaño de las partículas disueltas, éstas experimentan gran resistencia al movimiento. La viscosidad de un polímero en disolución depende de la naturaleza del polímero y del disolvente, de la distribución de pesos moleculares, de la concentración y de la temperatura.

La viscosidad de un fluido se puede relacionar con el tiempo de flujo  $t$ , requerido para que un volumen determinado de disolución pase a través de un capilar por efecto de la gravedad. Esta relación puede obtenerse a partir de la ecuación Hagen-Poiseuille (ecuación 3.2):

$$v = \frac{\pi \Delta P r^4}{8 \eta l} \quad \text{Ec.(3.2)}$$

Donde:

- $v$ :** Flujo volumétrico del fluido,
- $\Delta P$ :** es la diferencia de presión que mantiene el flujo,
- $r$ :** es el radio del capilar,
- $\eta$ :** es la viscosidad, y
- $l$ :** es la longitud del capilar.

Teniendo en cuenta que  $v$  también puede expresarse como  $v = \frac{V}{t}$ , donde  $V$  representa el volumen de fluido desplazado, es posible relacionar la viscosidad con el tiempo (ecuación 3.3)

$$\eta = \frac{\pi \Delta P t r^4}{8 V l} \quad \text{Ec. (3.3)}$$

En el caso de disoluciones, es frecuente medir la viscosidad por comparación de la viscosidad de la disolución con la del disolvente puro. Los parámetros

resultantes son la viscosidad relativa ( $\eta_r$ ) y la viscosidad específica ( $\eta_{sp}$ ), definidas en la ecuación (3.4) y la ecuación (3.5), respectivamente.

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Ec. (3.4)}$$

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad \text{Ec. (3.5)}$$

Donde  $\eta$  y  $\eta_0$  son, respectivamente, las viscosidades de la disolución y del disolvente puro,  $t$  es el tiempo de paso de la disolución por un capilar y  $t_0$  el tiempo de paso del disolvente puro por el mismo capilar.

Cuando se quiere tener en cuenta el efecto de la concentración ( $c$ ) en la viscosidad, se pueden utilizar otros dos parámetros, conocidos como viscosidad inherente ( $\eta_{inh}$ ) y viscosidad reducida ( $\eta_{red}$ ), definidas en la ecuación (3.6) y la ecuación (3.7).

$$\eta_{inh} = \frac{\ln(\eta_r)}{c} = \frac{\ln(\frac{\eta}{\eta_0})}{c} = \frac{\ln(\frac{t}{t_0})}{c} \quad \text{Ec. (3.6)}$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_r - 1}{c} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \frac{1}{c} = \frac{t - t_0}{t_0} \frac{1}{c} \quad \text{Ec. (3.7)}$$

De este modo, para calcular la viscosidad intrínseca de un polímero, se procede de la siguiente manera:

- 1) Se mide el tiempo de caída, a través de un capilar, de un conjunto de disoluciones diluidas de distinta concentración y el tiempo de caída de disolvente puro.
- 2) Partiendo de los anteriores valores, se calcula la viscosidad relativa  $\eta_{rel}$  y la viscosidad específica  $\eta_{sp}$ , lo que permite obtener las viscosidades inherente  $\eta_{inh}$  y reducida  $\eta_{red}$ .

- 3) Se representa conjuntamente la viscosidad inherente y la reducida frente a la concentración del polímero disuelto y se realizan las regresiones lineales correspondientes a los puntos obtenidos. La viscosidad intrínseca será el valor medio de las ordenadas en el origen de ambos ajustes.

Una vez conocida la viscosidad intrínseca del sistema polímero-disolvente, puede determinarse el peso molecular promedio viscoso del polímero mediante la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (ecuación 3.8):

$$[\eta] = K (M_V)^a \quad \text{Ec. (3.8)}$$

Donde:  $K$  y  $a$  son las denominadas constantes Mark-Houwink y dependen del polímero, del disolvente y de la temperatura.

### **3.6 Películas y recubrimientos de Quitosano**

Una de las propiedades más interesantes del quitosano es su capacidad de formación de películas. De hecho, el quitosano forma películas fuertes, flexibles, transparentes, resistentes a las grasas y aceites, y con buenas propiedades mecánicas y de permeabilidad. Además, estos recubrimientos tienen ventajas adicionales debido a que son antimicrobianas.

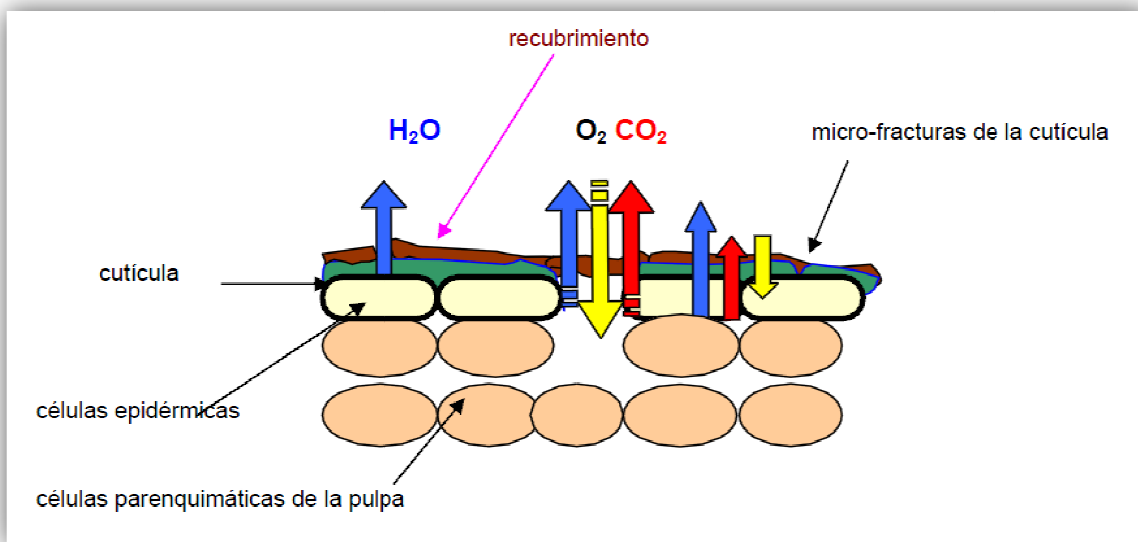
Las películas de quitosano tienen excelentes propiedades mecánicas que dependen, en gran medida, del peso molecular, grado de cristalinidad y contenido de humedad de las mismas. Poseen valores medios o moderados de permeabilidad al vapor de agua y actúan como barrera al oxígeno. (Figura 3.3)

Otra de las características de estas películas y cubiertas es que pueden ser utilizadas como vehículo de ingredientes funcionales, tales como antioxidantes,

saborizantes, colorantes, agentes antimicrobianos, entre otros, conformando alimentos funcionales o nutracéuticos.

Otra propiedad interesante del quitosano en relación con los empaques para alimentos, es su habilidad para absorber iones de metales pesados, utilizándose para disminuir los procesos oxidativos presentes en los alimentos. (Roblejo, L. 2009).

Las películas de quitosano se forman a partir de soluciones más o menos concentradas del polímero, normalmente 3% p/p. Estas soluciones pueden filtrarse o centrifugarse para eliminar los elementos insolubles y luego se dejan secar por evaporación del solvente en una placa.



**Figura 3.3** Intercambio gaseoso y de vapor de agua en el tejido vegetal con recubrimiento de quitosano.

Ref.: Bósquez, E., (2003).

También se obtienen buenas películas a partir de quitina, pero su insolubilidad hace que se les haya dedicado una menor atención.

Además, las películas de quitosano presentan una excelente adhesión a diferentes tipos de superficie, una buena elasticidad y una gran resistencia al agua. Todos estos son parámetros importantes a la hora de evaluar su aplicabilidad en distintos sectores (Agulló, E., Mato, R., 2004).

### **3.6.1 Propiedades de las películas y recubrimientos de quitosano**

#### **3.6.1.1 Propiedades físicas (Roblejo, L. 2009, p.20)**

Entre las propiedades físicas más importantes para las películas y recubrimientos se encuentran: color, espesor, transparencia, solubilidad y aquellas relacionadas con la resistencia mecánica.

##### **a) Espesor**

El espesor de las películas influye significativamente sobre las propiedades de las mismas, puede influir sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas y cubiertas biodegradables hidrofílicas, sin que las causas reales de este fenómeno estén totalmente esclarecidas. La influencia del espesor sobre las propiedades ópticas también ha sido estudiada. Películas obtenidas a partir de quitosano mostraron una apariencia ligeramente amarilla, oscureciéndose el color a medida que el espesor aumentó.

#### **3.6.1.2 Permeabilidad**

Las películas y recubrimientos de quitosano son de importancia en aplicaciones relacionadas con alimentos por su habilidad para ser una barrera para la transferencia de masa.

La permeabilidad es definida como la cantidad de una sustancia (habitualmente oxígeno, dióxido de carbono o vapor de agua) que atraviesa una película o recubrimiento.

Esta propiedad puede ser evaluadas por el método ASTM E96 / E96M – 05: “Métodos de Prueba Estándar para Transmisión de Vapor de Agua de los Materiales”.

La permeabilidad al vapor de agua está influenciada por el área del material extendido, el espesor inducido y por la diferencia de presión de vapor de agua entre las dos superficies bajo condiciones específicas de temperatura y humedad, y el transporte de gases, puede ocurrir por dos mecanismos: difusión capilar y difusión activa.

Entre los factores que afectan la permeabilidad de las películas biodegradables se encuentran la propia estructura de la película, (por ejemplo, su porosidad), los aditivos empleados, las condiciones de fabricación, el tiempo y condiciones de almacenamiento, así como la temperatura a la cual se realiza el proceso.

Para las películas y recubrimientos de quitosano se ha encontrado que, en general, un aumento en la concentración del plastificante incrementa la permeabilidad al oxígeno, mientras que el tipo de ácido empleado en la disolución formadora de la película influye, aunque no marcadamente, en la permeabilidad al vapor de agua.

La permeabilidad de las películas a los gases que pasan a través de ella, es definida de la misma forma que la permeabilidad al vapor de agua. La permeabilidad puede ser fuertemente dependiente de la actividad de agua.

Estudios han demostrado que las películas y recubrimientos de quitosano tienen baja afinidad con el agua y una menor movilidad macromolecular, según lo



anterior las películas de quitosano pueden actuar como barreras adecuadas al paso de vapor de agua por lo que el coeficiente de permeabilidad al vapor de agua se mantiene aproximadamente constante.

### **3.6.1.3 Propiedades mecánicas (Garde, J., 2009)**

Desde el punto de vista de su comportamiento mecánico, las películas y recubrimientos son quebradizos, frágiles y poco elásticos, lo que da origen a la aparición de grietas y agujeros en su superficie que impiden sus propiedades reguladoras de transporte de gases y vapores, mejorándose esto con la adición de sustancias plastificantes para disminuir la fragilidad y aumentar la elasticidad.

El mecanismo por el cual el plastificante logra estos efectos, involucra alguna interacción entre el polímero y el plastificante que produce una reducción de las fuerzas acumulativas intermoleculares a lo largo de las cadenas poliméricas, conduciendo a una estructura más suave.

Una película o recubrimiento con buenas propiedades de barrera podría ser ineficiente si sus propiedades mecánicas no permiten mantener su integridad durante la manipulación, empaquetado y transportación. Por esto, la resistencia mecánica y la deformación son determinadas para su evaluación.

#### **a) Resistencia a la tracción**

Es la fuerza necesaria para romper, por estiramiento, una determinada superficie de un material plástico, ejercida en el sentido de alargar el material.

Puede evaluarse mediante “Método de prueba estándar para las propiedades de tracción de Láminas de plástico delgado” (ASTM D882-02).

#### 3.6.1.4 Propiedades microbiológicas (Maldonado, S. 2005)

##### a) Propiedades antimicrobianas

La actividad antimicrobiana del quitosano dependerá de factores como el tipo de quitosano (grado de desacetilación, peso molecular), del pH del medio, de la temperatura, etc.

Existen varias hipótesis sobre el mecanismo de la actividad antimicrobiana del quitosano. La más estimable es un cambio en la permeabilidad de la célula debido a las interacciones entre el quitosano que es policatiónico y las cargas electronegativas de la superficie de la célula.

El quitosano es capaz de inhibir algunas bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio spp.* y *Salmonella typhimurium*.

Actualmente en El Salvador no existe una normativa que regule los límites microbiológicos permitidos en películas de Quitosano como empaque primario o recubrimiento de alimentos.

Por tanto, se hace referencia a la Norma Salvadoreña NSR 83.60.02:10 aplicada a películas de polietileno de baja densidad, que está en contacto con alimentos. (Tabla 3.1)

**Tabla 3.1** Límites permisibles en análisis microbiológicos para películas de polietileno de baja densidad

<b>Análisis microbiológico</b>	<b>Límites permisibles</b>
Recuento total de bacterias mesófilas	Máximo 10 UFC/ 100 cm <sup>2</sup>
Recuento de hongos y levaduras	No mayor 10 UFC/ 100 cm <sup>2</sup>
Patógenos	Ausencia total en 100 cm <sup>2</sup>

Ref.: Norma Salvadoreña NSR 83.60.02:10

Estos parámetros microbiológicos serán tomados como referencia en ausencia de normas aplicables a películas de Quitosano.

### **3.7 Tratamiento de efluentes de proceso (Agulló, E., Mato, R., 2004)**

En los procesos de extracción de Quitina y su desacetilación para obtener Quitosano, las principales corrientes de desechos son aguas residuales provenientes de productos secundarios de reacción, reactivos agotados o contaminados que no pueden ser reutilizados y aguas de lavado de las fracciones sólidas.

Las corrientes de aguas residuales son: las que provienen del lavado inicial del acondicionamiento de los caparazones de crustáceos, las corrientes que se separan de las proteínas, las que provienen del proceso de desmineralización y las de los lavados posteriores a cada proceso.

Estos efluentes, normalmente contienen una importante carga orgánica constituida por aceite, grasas, minerales, proteínas, carbohidratos, pequeñas partículas de carne, sangre vísceras, caparazones, y sólidos solubles.

Para recuperar la mayor cantidad posible de subproductos, se debe tratar de minimizar la utilización de agua, para reducir, de esta manera, la pérdida de productos solubles, recuperar las proteínas y minerales disueltos en los efluentes líquidos y las porciones sólidas a ser utilizadas como componentes en alimentos.

## **4.0 RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO COMO TECNOLOGIA POST-COSECHA DE PRODUCTOS HORTOFRUTICOLAS**

---

### **4.1 Introducción**

Cada vez resulta ser más popular el consumo de frutas y verduras mínimamente procesadas ya que el consumidor asocia un beneficio para la salud con la ingesta diaria de los productos frescos, además de combinarse con la tendencia de preferir alimentos listos para comer por ser estos muy prácticos.

Sin embargo, los daños causados entre las etapas de post-cosecha y consumo dan origen a reacciones que provocan el deterioro, tales como: oscurecimiento enzimático, desarrollo de microorganismos, cambios en la textura y susceptibilidad a la deshidratación. Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas tecnologías de conservación que retrasen los procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica, durante la comercialización de estos productos.

Por lo tanto se considera importante la aplicación de tecnología post-cosecha valorando los cambios fisiológicos y bioquímicos que sufren los productos hortofrutícolas durante el proceso que comprende desde la cosecha hasta su consumo.

### **4.2 Uso del quitosano como recubrimiento en productos hortofrutícolas**

De manera general se puede señalar que el recubrimiento de los productos hortofrutícolas con diferentes películas, ha sido una técnica que ha dado buenos resultados en la conservación de los mismos. Las películas elaboradas con polisacáridos han sido muy utilizadas y dentro de ellas destaca el uso del quitosano, mostrando un efecto positivo en la calidad de dichos productos, (Tabla 4.1).

Fundamentalmente el uso de quitosano en el control de enfermedades post-cosecha se atribuye a tres características esenciales:

- 1) La propiedad de formar películas que protegen la superficie de los frutos y vegetales, regulando el intercambio de gases y humedad;
- 2) La actividad fungicida y
- 3) La capacidad de inducir una respuesta de resistencia en los tejidos vegetales.

Se han realizado diversos estudios enfocados a evaluar la calidad de los productos hortofrutícolas, sin embargo, son escasos los trabajos que abordan el aspecto sensorial. El quitosano permite prolongar la vida media de frutos y vegetales, al formar una capa semipermeable que regula el intercambio de gases y reduce las pérdidas por transpiración.

En el proceso de maduración se ha encontrado que el quitosano interviene en la reducción de los niveles de etileno y CO<sub>2</sub> en diversos productos hortofrutícolas.

En otros parámetros relacionados con la calidad de los productos hortofrutícolas también se ha evidenciado un efecto positivo al aplicar quitosano, observándose que la pérdida de peso disminuye, aumenta la firmeza de los frutos, y el contenido de sólidos solubles totales tiende a mantenerse o incrementarse.

**Tabla 4.1** Aplicación del Quitosano como recubrimiento en diferentes productos hortofrutícolas

<b>PRODUCTO</b>	<b>FORMA DE APLICACIÓN</b>	<b>OBJETIVO DEL RECUBRIMIENTO DEL QUITOSANO</b>
Guayaba	Recubrimiento de las rodajas con películas formadas a partir de soluciones acuosas de quitosano	Conservación de propiedades en rodajas del fruto
Papaya	Frutas cubiertas con películas de quitosanos formadas a partir de soluciones acuosas 1%	Recubrimiento de frutos para protección de la antracnosis. Se observó inhibición en el crecimiento micelial y en la germinación de esporas.
Mandarina	Fruta introducida en solución acuosa de quitosano y dejada secar	Control del crecimiento de hongos. <i>Penicillium digitatum</i> y <i>Penicillium italicum</i>
Mango	Cajas del fruto protegidas con películas de quitosano.	Conservación de las propiedades del fruto entero por mayor tiempo
Mango	Recubrimiento de las rodajas con películas de quitosano (obtenidas dejando secar al aire soluciones acuosas de quitosano en ácido acético 5%)	Conservación de las propiedades del fruto por mayor tiempo
Manzana	Trozos de fruta recubiertos con películas formadas a partir de soluciones acuosas 1 % de quitosano	Retardo del oscurecimiento en fruto cortado
Tomate	Películas de quitosano obtenidas a partir de soluciones acuosas.	Alargamiento del tiempo de almacenamiento.
Fresa	Frutas rociadas con soluciones 1-2% p/v de quitosano	Inducción de mecanismos de defensa
Melocotón	Película de quitosano obtenida a partir de soluciones acuosas	Alargamiento del tiempo de almacenamiento

Ref.: (Velázquez, C., 2008)

### **4.3 Consideraciones de la fisiología de productos hortofrutícolas a tener en cuenta en la tecnología post-cosecha**

Las frutas y hortalizas son plantas vivas que durante su crecimiento muestran todas las características propias de la vida vegetal como por ejemplo la respiración, transpiración, síntesis y degradación de metabolitos y posiblemente también la fotosíntesis. El enverdecimiento de las papas almacenadas, el crecimiento de la raíz y la aparición de brotes en cebollas y ajos almacenados, son algunas de las manifestaciones de vida fácilmente visibles después de la cosecha. Durante la cosecha, los productos hortofrutícolas se separan de su fuente natural de agua, nutrientes minerales y orgánicos, pero su ciclo de vida continúa; obviamente este estado no puede durar indefinidamente, estando relacionado con el envejecimiento y muerte de los tejidos, lo cual depende de numerosos factores:

- a) Respiración
- b) Transpiración
- c) Efectos de la humedad
- d) Efectos de la temperatura
- e) Madurez
- f) Etileno

#### **a) Respiración**

Las frutas y hortalizas frescas necesitan respirar a fin de obtener la energía suficiente para la mantención de la vida. Respiran absorbiendo oxígeno de la atmósfera y liberando dióxido de carbono, tal como lo hacen el hombre, los animales y otros organismos. Durante la respiración la producción de energía proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros



metabolitos. Una vez cosechado, el producto no puede reemplazar estas reservas que se pierden y la velocidad con que disminuyen será un factor de gran importancia en la duración de la vida de post-cosecha del producto.

La respiración es necesaria para la obtención de energía, pero parte de esa energía produce calor que debe ser disipado de alguna manera, o de lo contrario el producto se calentará, sobreviniendo la degradación de los tejidos y la muerte.

En la etapa de crecimiento este calor es transmitido a la atmósfera, pero después de la cosecha y cuando el producto es empacado en un espacio confinado, la eliminación del calor puede dificultarse. La importancia de la disipación del calor del producto fresco reside en el hecho que la respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad aumenta al incrementar la temperatura. En consecuencia, una vez que el producto comienza a calentarse, se estimula aun más la respiración y el calentamiento y de este modo se vuelve muy difícil de controlar la temperatura del producto.

### **b) Transpiración**

Las frutas y hortalizas frescas se componen principalmente de agua (80% o más) y en la etapa de crecimiento tienen un abastecimiento abundante de agua a través del sistema radicular de la planta. Con la cosecha, este abastecimiento de agua se corta y el producto debe sobrevivir de sus propias reservas. Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado continúa perdiendo agua hacia la atmósfera, tal como lo hacía antes de la cosecha, por un proceso conocido como transpiración.

El efecto neto de la transpiración es una pérdida de agua del producto cosechado, que no puede ser reemplazada. La velocidad con que se pierde ésta será un factor determinante en la vida post-cosecha del producto. La pérdida de agua causa una disminución significativa del peso y a medida que avanza, disminuye la apariencia

y elasticidad del producto perdiendo su turgencia, es decir, se vuelve blando y marchito.

### **c) Efectos de la humedad**

Si queremos prolongar la vida post-cosecha de cualquier producto fresco se deduce que debemos de tratar de controlar los procesos de respiración y transpiración. Como hemos dicho, la transpiración consiste en el movimiento de vapor de agua a través de un gradiente (es decir, de alta a baja concentración). Si la humedad del aire es alta la presión del vapor de agua también será alta. A una temperatura dada la cantidad de vapor de agua que puede contener el aire es limitado. Cuando el aire está 100% saturado, toda agua adicional se condensa.

El aire caliente puede retener más vapor de agua que el aire frío, lo cual explica la condensación que se produce en la superficie exterior de una botella de agua fría. El punto de saturación se designa como Humedad Relativa de 100%; el aire totalmente seco tiene una humedad relativa de 0%.

Si la atmósfera que rodea al producto tiene 50% de Humedad Relativa (H.R.), el vapor de agua pasa del producto al aire circundante ya que su atmósfera interna tiene 100% de H.R. Mientras más seco esté el aire, más rápido pierde agua el producto mediante la transpiración. De este modo si vamos a ejercer un control sobre la transpiración será conveniente mantener el producto en un ambiente con humedad relativa alta, reduciendo de ese modo la pérdida de agua y ayudando a extender la vida post-cosecha.

### **d) Efectos de la temperatura**

La temperatura influye directamente sobre la respiración y si se permite que incremente la temperatura del producto, igualmente incrementará la velocidad de

la respiración, generando una mayor cantidad de calor. Así, manteniendo baja la temperatura, podemos reducir la respiración del producto y ayudar a prolongar su vida post-cosecha.

La temperatura además de la Influencia que ejerce sobre la respiración, también puede causar daño al producto mismo. Si el producto se mantiene a una temperatura superior a los 40 °C, se dañan los tejidos y a los 60°C toda la actividad enzimática se destruye, quedando el producto afectivamente muerto. El daño causado por la alta temperatura se caracteriza por sabores alcohólicos desagradables, generalmente como resultado de reacciones de fermentación y de una degradación de la textura del tejido. Ocurre con frecuencia cuando el producto se almacena amontonado a temperaturas ambientes tropicales.

Bajo temperaturas de refrigeración inadecuadas, el producto fresco se congela a alrededor de -2°C, ocasionando el rompimiento de los tejidos y sabores desagradables al retornar a temperaturas más altas, por lo que el producto generalmente no es comerciable. La mayoría de las frutas tropicales experimentan daño por frío a temperatura entre 5 y 14 °C. Frutas tales como la papaya, el plátano y la piña muestran degradación de tejidos, ennegrecimiento y sabores desagradables si se las mantiene a temperaturas bajas por algún tiempo.

#### **e) Madurez**

Los productos hortofrutícolas sufren un proceso de maduración que es parte esencial de su desarrollo y que conduce eventualmente al envejecimiento y muerte de los tejidos.

La velocidad y naturaleza del proceso de maduración difiere significativamente entre las diversas especies, sus formas de cultivo y las zonas de producción. Las frutas también difieren en sus respuestas a la maduración a diversos ambientes de

post-cosecha, sin embargo, es posible identificar ciertos fenómenos generales en relación al comportamiento de la maduración.

Las frutas pueden dividirse en dos tipos, climatéricas y no climatéricas. En las frutas no climatéricas el proceso de madurez y sazón es un proceso gradual pero continuo. En las frutas climatéricas, el proceso natural de madurez y sazón es iniciado de acuerdo a cambios en la composición hormonal. El inicio de la maduración climatérica es un proceso bien definido, caracterizado por un rápido aumento en la velocidad de la respiración y el desprendimiento de etileno por la fruta en un momento de su desarrollo, conocido como respiración climatérica.

#### **f) Etileno**

El etileno es una hormona natural producida por las frutas. Aún a niveles bajos menores que 1 parte por millón (ppm), el etileno es fisiológicamente activo, ejerciendo gran influencia sobre los procesos de maduración y senescencia de las frutas, influyendo de esta manera en la calidad de las mismas. Asimismo, la formación de la zona de desprendimiento de la fruta del resto de la planta (abscisión), también es regulada por esta sustancia. Lo mencionado evidencia la importancia que tiene el etileno en la fisiología post-cosecha.

No existe relación entre la cantidad de etileno que producen distintas frutas y su capacidad de conservación; sin embargo, la aplicación externa de este gas generalmente promueve el deterioro.

El nivel de etileno en frutas aumenta con la madurez del producto, el daño físico, incidencia de enfermedades y temperaturas altas. El almacenamiento refrigerado y el uso de atmósferas con menos de 8% de O<sub>2</sub> y más de 2% de CO<sub>2</sub>, contribuyen a

mantener bajos niveles de etileno en el ambiente post-cosecha del producto alargando su vida de anaquel.

#### **4.4 Importancia de aplicación de la tecnología post-cosecha (Manual para el mejoramiento del manejo post-cosecha de frutas y hortalizas, 2000)**

Apariencia fresca, textura aceptable, buen sabor y olor, seguridad microbiológica y vida útil suficientemente larga que permita incluir al producto dentro de un sistema de distribución, son algunos de los requisitos para que un producto sea considerado de calidad. Si alguno de estos requisitos no se cumple o se encuentra por debajo de los valores mínimos aceptables para cada parámetro, el producto pierde automáticamente su valor comercial.

La tecnología post-cosecha, aplicada a los productos hortofrutícolas, permite garantizar el cumplimiento de los requisitos antes mencionados mediante la aplicación de tres objetivos principales:

1. Mantener la calidad (apariencia, textura, sabor y valor nutritivo)
2. Proteger o garantizar la seguridad alimentaria
3. Reducir las pérdidas entre la cosecha y el consumo

Por lo tanto extender la vida de los productos hortofrutícolas exige conocer las causas del deterioro de la calidad que acaban inutilizándolo para la venta y explotar este conocimiento para desarrollar tecnologías que permitan minimizar el ritmo de deterioro a un costo asumible.

##### **4.4.1 Importancia de la tecnología post-cosecha (Deterioro de las frutas y hortalizas frescas en el periodo de post-cosecha, FAO, 2000)**

Se estima que a nivel mundial las pérdidas post-cosecha de frutas y hortalizas son del orden de 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo. La

diferencia en la magnitud del daño de ambos escenarios obedece a que en los países desarrollados prevalecen condiciones ambientales de temperatura y humedad menos favorables para la ocurrencia de daños, tienen mayor disponibilidad de recursos tecnológicos y económicos para prevenir las pérdidas post-cosecha y los mercados son más exigentes.

Cualquier producto mal manejado es de baja calidad y de corta vida útil, lo que impide que este alcance mercados exigentes y lejanos, por tanto, se debe analizar la conveniencia de invertir en un mejor manejo post-cosecha, antes de pensar en el incremento de áreas de cultivo, puesto que un aumento de la producción dará origen a un incremento en la proporción de las pérdidas, debido a lo inadecuado del manejo y al mercadeo del volumen adicional.

#### **4.5 Reacciones de pardeamiento enzimático en productos hortofrutícolas (Marchart, S. 2007)**

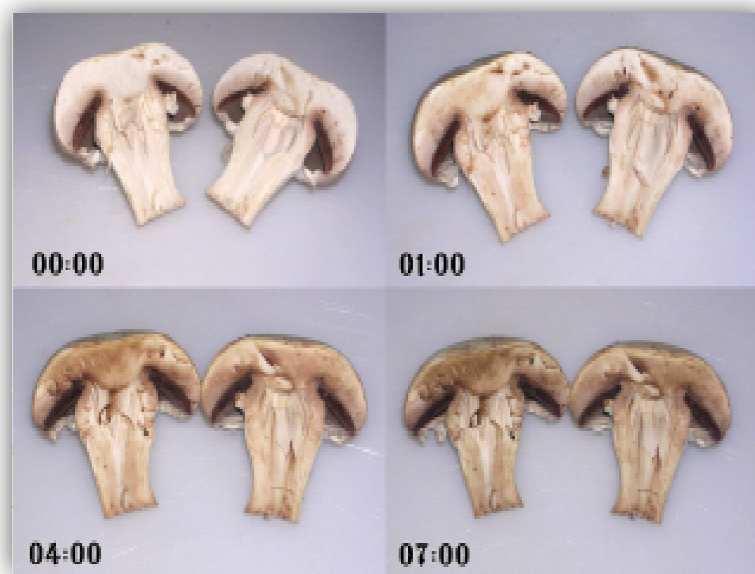
El fenómeno de pardeamiento de frutos y vegetales durante el crecimiento, cosecha, almacenamiento y procesado, es un problema de primera magnitud en la industria alimentaria y se reconoce como una de las principales causas de pérdidas de calidad y valor comercial.

Este pardeamiento produce cambios importantes tanto en la apariencia (colores oscuros) como en las propiedades organolépticas (sabor, textura) de productos hortofrutícolas, y además suele ir asociado al desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional.

Las reacciones de oxidación que provocan el pardeamiento de frutos y vegetales son de origen enzimático y están catalizadas principalmente por la enzima

polifenol oxidasa, siendo su actividad particularmente alta en aquellos productos hortofrutícolas que contienen niveles altos de compuestos polifenólicos.

Las polifenol oxidasas de las frutas y hortalizas oxidan ciertos fenoles introduciendo átomos de oxígeno en su composición. De esta manera los transforman en quinonas, las cuales se polimerizan dando lugar a pigmentos marrones, rojos y negros (Figura 4.1)



**Figura 4.1** Pardeamiento enzimático observado en productos hortofrutícolas en función del tiempo.

Ref.: Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología, (2007).

En los productos hortofrutícolas íntegros, las polifenol oxidasas y los fenoles están en compartimentos celulares separados (en cloroplastos, plástidos y citoplasma las primeras, y en vesículas los segundos) por lo que su color no se ve alterado.

Ahora bien, cuando las frutas están “sobre maduras” o son sometidas a cortes u otras agresiones, las membranas de los compartimentos celulares se destruyen.

Esto permite que las polifenol oxidasas contacten con los fenoles y con el oxígeno atmosférico. La conjunción de estos tres elementos conduce a la formación de las quinonas y a la posterior aparición de los mencionados pigmentos, y el resultado es lo que se denomina pardeamiento enzimático.



## **5.0 DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCION, DESACETILACION DE QUITINA Y CARACTERIZACION DE PELICULAS DE QUITOSANO**

---

### **5.1 Introducción**

Los residuos de las industrias procesadoras de crustáceos son una fuente de recursos ya que sus caparazones contienen proteínas, lípidos, pigmentos y, además, quitina, de la cual se obtiene su principal y funcional derivado el quitosano: un biopolímero que por sus propiedades fisicoquímicas es ampliamente utilizado en la industria.

El objetivo primordial de este capítulo es la extracción de quitina a partir de exoesqueletos de langostino y su posterior desacetilación para obtener quitosano. Siendo importante además, caracterizar el producto obtenido para determinar su posible aplicación dentro de la industria y las propiedades microbiológicas y de permeabilidad que posee como película o recubrimiento.

### **5.2 Acondicionamiento de las muestras**

Los exoesqueletos de los crustáceos fueron proporcionados de forma gratuita por una industria procesadora de Langostino ubicada en la zona industrial de Acajutla. Los exoesqueletos fueron obtenidos directamente de la planta procesadora y colocados en bolsas plásticas para poder ser trasladados al lugar de almacenamiento, durante este traslado la materia prima fue colocada dentro de una hielera a fin de conservar temperaturas bajas, evitando así una posible descomposición y crecimiento de microorganismos.

Los exoesqueletos de langostino se almacenaron en lotes de 4 lb a temperaturas de 4 °C.

Al iniciar la etapa de extracción de quitina, los exoesqueletos se descongelaron dejándolos en agua a temperatura ambiente por un tiempo de 30 minutos, luego

se realizó un lavado con agua a temperatura ambiente para eliminar al máximo restos de carne, posteriormente se procedió a un lavado con agua a 80 °C durante 10 minutos para retirar por completo residuos orgánicos que pudieran interferir en el tratamiento químico.

Una vez lavados los exoesqueletos se colocaron en bandejas de aluminio para ser secados en una estufa durante 36 horas a 80 °C, con el propósito de eliminar toda la humedad y así facilitar la molienda y obtención de harina.

Los exoesqueletos secos se trituraron y molieron en una licuadora convencional y posteriormente se tamizaron utilizando una malla Mesh No. 40. La harina se envasó en recipientes de vidrio y se almacenó a temperatura ambiente hasta la etapa de extracción de quitina.



**Figura 5.1** Secuencia de pasos para el acondicionamiento de las muestras

### 5.3 Extracción de quitina

La quitina se obtuvo por medio de los siguientes pasos:

1. La harina obtenida, se sometió a un proceso de decoloración o despigmentación química. Para la despigmentación se utilizó una relación 1:10 (kg de harina por L de disolvente).

Se pesaron 100 g de harina de langostino y se colocaron en un beaker, luego se adicionó el disolvente (15% éter, 75% acetona y 10% agua) sometiéndose la mezcla a un proceso de agitación continua por un tiempo de 2 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente se procedió a lavar, por filtración, el producto obtenido con agua destilada y finalmente se secó en la estufa eléctrica a 65°C por 2 horas.

El producto decolorado fue pesado, registrándose un dato de 85 g.

2. El producto obtenido en la fase anterior se sometió a desmineralización haciendo uso de un tratamiento químico con Acido Clorhídrico 1.3 M en una relación de 1:10 (kg de sólido por L de solución), durante 3 horas a temperatura ambiente y con agitación constante.

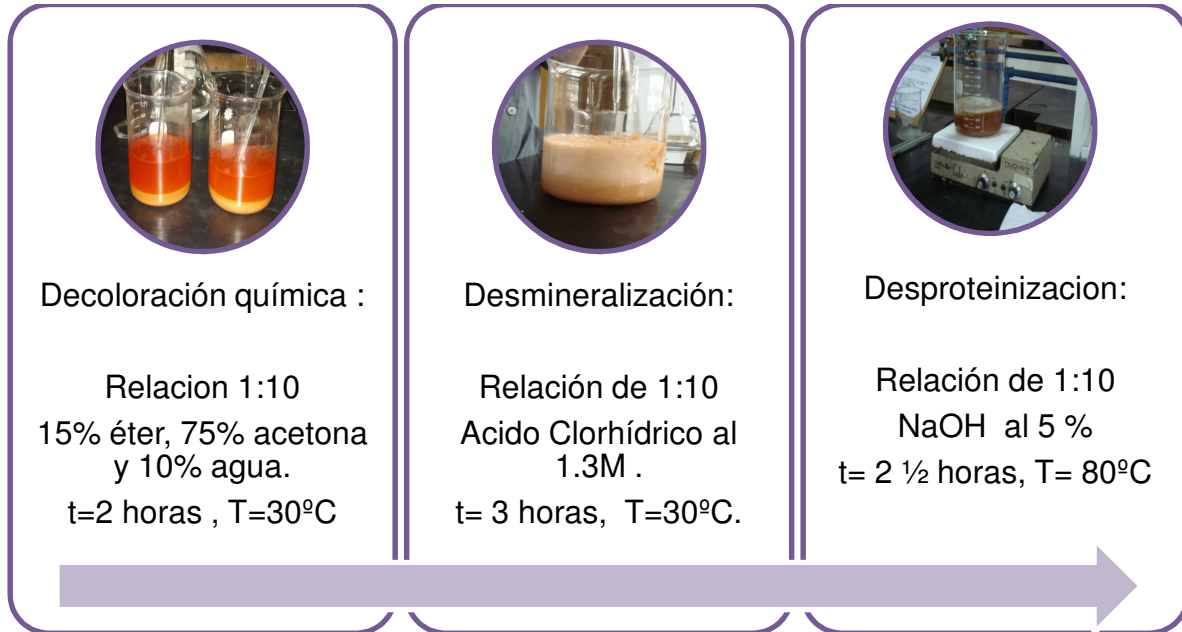
Pasado el tiempo indicado se procedió a filtrar y lavar con agua destilada hasta alcanzar un pH de 7.

El producto ya neutralizado se secó en la estufa a 65°C por 4 horas, luego de esto se registró su peso, reportándose un valor de 45 g.

3. La harina desmineralizada se colocó en un beaker con una solución de NaOH 5 % (p/v) en una relación de 1:10 (kg de sólido por L de solución) con agitación constante por un tiempo de 2 ½ horas, a una temperatura de 80°C con el fin de eliminar las proteínas presentes.

Por medio de filtración se realizó el lavado del producto obtenido con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad eliminando el exceso de base

utilizada en el proceso. Luego se colocó en la estufa para poder retirar la humedad. El peso obtenido fue de 15 g.



**Figura 5.2** Condiciones del proceso de extracción de quitina a partir de harina de exoesqueletos de langostinos

#### 5.4 Desacetilación de quitina: Obtención de quitosano

Este es un proceso de modificación química de la quitina en el cual las unidades acetilo son sustituidas por grupos amino:

1. Los 15 gramos de quitina obtenidos en la extracción, se colocaron en un beaker y se añadió una solución de NaOH al 50% p/v en una relación de 1:15 (kg de sólido por L de solución), la mezcla se mantuvo en agitación constante por 4 horas, a una temperatura de 90°C.
2. Por medio de la reacción química llevada a cabo en el paso anterior se obtuvo como producto el biopolímero quitosano, el cual se llevó a un pH de 7 con un lavado por filtración con agua destilada, una vez alcanzadas estas

condiciones se colocó en la estufa para eliminar la humedad y registrar su peso seco.

3. El quitosano fue almacenado en recipientes de vidrio bien sellado a temperatura ambiente.

El rendimiento obtenido tras el proceso de extracción fue de 12 g de quitosano por 100 g de harina de exoesqueleto de langostino procesada.



**Figura 5.3** Condiciones de desacetilación de quitina

### 5.5 Caracterización del quitosano

El grado de desacetilación y la determinación del peso molecular son propiedades importantes para caracterizar el quitosano. Las características del quitosano tienen un efecto marcado en las propiedades mecánicas, microbiológicas y de

permeabilidad, de las cuales se puede determinar la aplicación del quitosano dentro de la industria.

### **5.5.1 Determinación del grado de desacetilación del quitosano por Titulación Potenciométrica**

El grado de desacetilación es equivalente al porcentaje de grupos amino ( $\%NH_2$ ) presentes en la cadena polimérica del quitosano y su determinación se llevó a cabo por medio de una titulación potenciométrica.

La determinación del contenido de grupos amino para el quitosano se realizó por triplicado, llevando a cabo el mismo procedimiento para cada una de las muestras:

1. Pesar 0.25 g del quitosano obtenido y depositarlo en un erlenmeyer de 125 mL
2. Agregar 10mL de ácido clorhídrico (HCl) 0.3 M al erlenmeyer, agitar hasta disolver.
3. Titular cada una de las tres muestras potenciométricamente utilizando como titulante hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N (previamente estandarizado) y haciendo uso de un pHmetro, medir el cambio de pH que experimenta cada mezcla al añadir 1 mL del NaOH hasta un volumen igual a 50 mL

Las mediciones se realizaron con un pHmetro marca pH meter GL P22 CRISON.

Los resultados de la titulación potenciométrica de las muestras de quitosano, se observan en la Tabla 5.1:

**Tabla 5.1** Resultados de la titulación potenciométrica y su primera derivada en 3 muestras de quitosano

PRIMERA TITULACION				SEGUNDA TITULACION				TERCERA TITULACION			
w(g) = 0.251		1ª Derivada		w(g) = 0.257		1º Derivada		w(g) = 0.258		1º Derivada	
V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$
0	0.75			0	0.74			0	0.72		
1	0.76	0.5	0.01	1	0.76	0.5	0.02	1	0.73	0.5	0.01
2	0.76	1.5	0.0	2	0.79	1.5	0.03	2	0.76	1.5	0.03
3	0.81	2.5	0.05	3	0.84	2.5	0.05	3	0.82	2.5	0.06
4	0.87	3.5	0.06	4	0.90	3.5	0.06	4	0.89	3.5	0.07
5	0.93	4.5	0.06	5	0.95	4.5	0.05	5	0.95	4.5	0.06
6	1.01	5.5	0.08	6	1.02	5.5	0.07	6	1.02	5.5	0.07
7	1.08	6.5	0.07	7	1.08	6.5	0.06	7	1.10	6.5	0.08
8	1.15	7.5	0.07	8	1.16	7.5	0.08	8	1.18	7.5	0.08
9	1.24	8.5	0.09	9	1.24	8.5	0.08	9	1.26	8.5	0.08
10	1.32	9.5	0.08	10	1.33	9.5	0.09	10	1.34	9.5	0.08
11	1.41	10.5	0.09	11	1.41	10.5	0.08	11	1.44	10.5	0.10
12	1.52	11.5	0.11	12	1.53	11.5	0.12	12	1.54	11.5	0.10
13	1.64	12.5	0.12	13	1.64	12.5	0.11	13	1.67	12.5	0.13
14	1.78	13.5	0.14	14	1.80	13.5	0.16	14	1.84	13.5	0.17
15	2.00	14.5	0.22	15	1.99	14.5	0.19	15	2.02	14.5	0.18
16	2.26	15.5	0.26	16	2.37	15.5	0.38	16	2.39	15.5	0.37

Donde:

w (g): es el peso en gramos de la muestra de quitosano

V (mL): es el volumen de hidróxido de sodio añadido hasta 50 mL

pH: es el pH que experimenta la mezcla por cada mL de base añadida.

V<sub>prom</sub>: es el volumen promedio que se calcula con la fórmula  $\frac{V_1+V_2}{2}$ , hasta 50mL.

$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$  : es el cambio de pH con respecto al volumen, en donde:  $\Delta pH = pH_2 - pH_1$  y

$$\Delta V = V_2 - V_1$$

PRIMERA TITULACION				SEGUNDA TITULACION				TERCERA TITULACION			
w(g) = 0.251		1ª Derivada		w(g) = 0.257		1º Derivada		w(g) = 0.258		1º Derivada	
V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$
17	2.32	16.5	0.06	17	3.33	16.5	0.96	17	<b>3.81</b>	<b>16.5</b>	<b>1.42</b>
18	2.86	17.5	0.54	18	<b>4.7</b>	<b>17.5</b>	<b>1.37</b>	18	5.00	17.5	1.19
19	<b>4.58</b>	<b>18.5</b>	<b>1.72</b>	19	5.19	18.5	0.49	19	5.12	18.5	0.12
20	5.23	19.5	0.65	20	5.42	19.5	0.23	20	5.43	19.5	0.31
21	5.52	20.5	0.29	21	5.65	20.5	0.23	21	5.58	20.5	0.15
22	5.67	21.2	0.15	22	5.81	21.2	0.16	22	5.75	21.2	0.17
23	5.80	22.5	0.13	23	6.02	22.5	0.21	23	5.94	22.5	0.19
24	5.98	23.5	0.18	24	6.18	23.5	0.16	24	6.11	23.5	0.17
25	6.12	24.5	0.14	25	6.28	24.5	0.10	25	6.26	24.5	0.15
26	6.23	25.5	0.11	26	6.40	25.5	0.12	26	6.40	25.5	0.14
27	6.33	26.5	0.10	27	6.46	26.5	0.06	27	6.56	26.5	0.16
28	6.46	27.5	0.13	28	6.61	27.5	0.15	28	6.74	27.5	0.18
29	6.56	28.5	0.10	29	6.92	28.5	0.31	29	7.74	28.5	1.00
30	6.76	29.5	0.20	30	8.54	29.5	1.62	30	<b>9.87</b>	<b>29.5</b>	<b>2.13</b>
31	7.87	30.5	1.11	31	<b>11.25</b>	<b>30.5</b>	<b>2.71</b>	31	11.38	30.5	1.51
32	<b>11.01</b>	<b>31.5</b>	<b>3.14</b>	32	11.67	31.5	0.42	32	11.70	31.5	0.32
33	11.54	32.5	0.53	33	11.86	32.5	0.19	33	11.87	32.5	0.17
34	11.75	33.5	0.21	34	11.96	33.5	0.10	34	11.98	33.5	0.11
35	11.88	34.5	0.13	35	12.05	34.5	0.09	35	12.05	34.5	0.07

Donde:

w (g): es el peso en gramos de la muestra de quitosano

V (mL): es el volumen de hidróxido de sodio añadido hasta 50 mL

pH: es el pH que experimenta la mezcla por cada mL de base añadida.

V<sub>prom</sub>: es el volumen promedio que se calcula con la fórmula  $\frac{V_1+V_2}{2}$ , hasta 50mL.

$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$ : es el cambio de pH con respecto al volumen, en donde:  $\Delta pH = pH_2 - pH_1$  y

$$\Delta V = V_2 - V_1$$



PRIMERA TITULACION				SEGUNDA TITULACION				TERCERA TITULACION			
w(g) = 0.251		1ª Derivada		w(g) = 0.257		1º Derivada		w(g) = 0.258		1º Derivada	
V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$	V(mL)	pH	V <sub>prom</sub>	$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$
36	11.97	35.5	0.09	36	12.11	35.5	0.06	36	12.12	35.5	0.07
37	12.05	36.5	0.08	37	12.17	36.5	0.06	37	12.18	36.5	0.06
38	12.12	37.5	0.07	38	12.22	37.5	0.05	38	12.22	37.5	0.04
39	12.15	38.5	0.03	39	12.26	38.5	0.04	39	12.26	38.5	0.04
40	12.22	39.5	0.07	40	12.29	39.5	0.03	40	12.30	39.5	0.04
41	12.24	40.5	0.02	41	12.33	40.5	0.04	41	12.32	40.5	0.02
42	12.29	41.5	0.05	42	12.35	41.5	0.02	42	12.35	41.5	0.03
43	12.31	42.5	0.02	43	12.38	42.5	0.03	43	12.37	42.5	0.02
44	12.34	43.5	0.03	44	12.41	43.5	0.03	44	12.39	43.5	0.02
45	12.37	44.5	0.03	45	12.43	44.5	0.02	45	12.41	44.5	0.02
46	12.39	45.5	0.02	46	12.45	45.5	0.02	46	12.43	45.5	0.02
47	12.39	46.5	0.0	47	12.47	46.5	0.02	47	12.44	46.5	0.01
48	12.43	47.5	0.04	48	12.48	47.5	0.01	48	12.47	47.5	0.03
49	12.44	48.5	0.01	49	12.50	48.5	0.02	49	12.48	48.5	0.01
50	12.46	49.5	0.02	50	12.51	49.5	0.01	50	12.50	49.5	0.02

Donde:

w (g): es el peso en gramos de la muestra de quitosano

V (mL): es el volumen de hidróxido de sodio añadido hasta 50 mL

pH: es el pH que experimenta la mezcla por cada mL de base añadida.

V<sub>prom</sub>: es el volumen promedio que se calcula con la fórmula  $\frac{V_1+V_2}{2}$ , hasta 50mL.

$\frac{\Delta pH}{\Delta V}$  : es el cambio de pH con respecto al volumen, en donde:  $\Delta pH = pH_2 - pH_1$  y

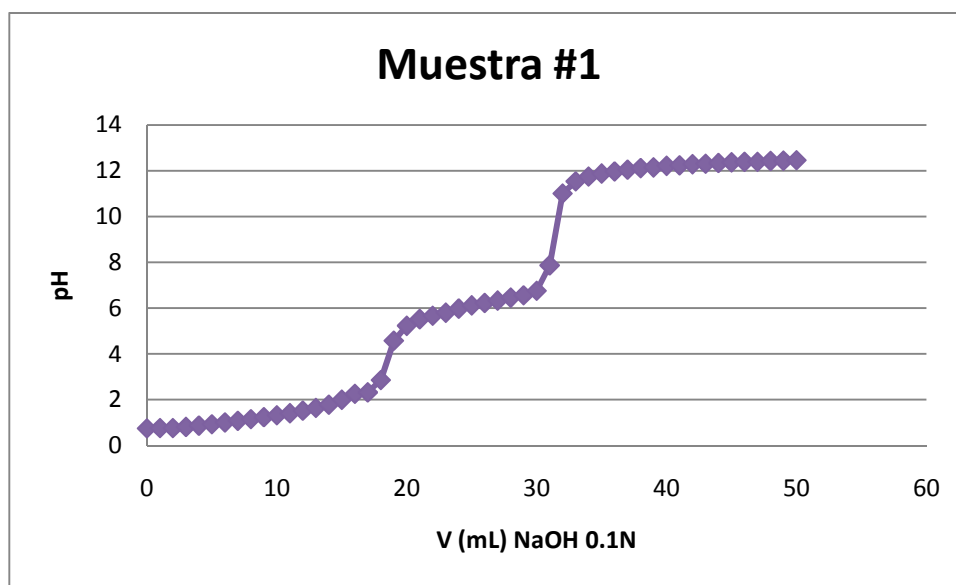
$$\Delta V = V_2 - V_1$$

En la Tabla 5.1 se puede observar que el cambio de pH con respecto al volumen incrementa lentamente hasta un punto en el cual se aprecia un cambio drástico. El volumen promedio en que se da este cambio es un punto de inflexión (punto de

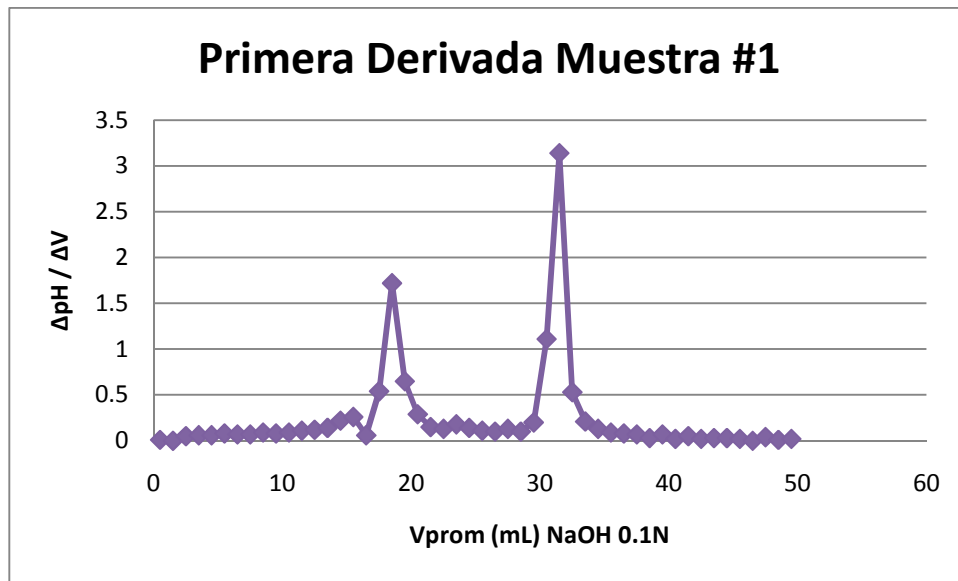
inflexión menor); al continuar adicionando hidróxido de sodio, el cambio de pH tiende a disminuir, hasta que nuevamente se observa otro aumento (punto de inflexión mayor). Dichos puntos de inflexión son los que se utilizan para calcular el grado de desacetilación en cada una de las titulaciones.

Con estos resultados se construyeron los gráficos volumen de hidróxido de sodio ( $V_{\text{NaOH}}$ ) gastado vrs pH de muestra. Dichos gráficos producen una curva de titulación con dos puntos de inflexión, cuyos valores exactos se determinaron según el criterio de la primera derivada.

A continuación se presentan en la Figura 5.4 y Figura 5.5, los gráficos de la titulación potenciométrica y de la primera derivada, respectivamente, para la primera muestra de quitosano; de forma similar se procedió para las muestras 2 y 3.



**Figura 5.4** Gráfico de la titulación potenciométrica en la muestra #1 de quitosano



**Figura 5.5** Primera derivada de la curva de titulación potenciométrica de la muestra #1 de quitosano

En la Figura 5.4, se observa la tendencia de los resultados de la valoración potenciométrica de la muestra de quitosano, en la Figura 5.5, la primera derivada, permite observar claramente los puntos de inflexión que son necesarios para calcular el grado de desacetilación.

**Tabla 5.2** Puntos de inflexión curva de titulación potenciométrica en muestra de quitosano

<b>PUNTOS DE INFLEXION CURVA DE TITULACION POTENCIOMETRICA</b>			
	<b>TITULACION 1</b>	<b>TITULACION 2</b>	<b>TITULACION 3</b>
<b>Punto de inflexión mayor</b>	18.5 mL	17.5 mL	16.5 mL
<b>Punto de inflexión menor</b>	31.5 mL	30.5 mL	29.5 mL

A pesar de que los cambios de pH fueron diferentes en las 3 titulaciones, los puntos de inflexión ocurrieron a un volumen promedio muy cercano con diferencias únicamente de 1mL.

El grado de desacetilación se determina mediante el uso de la ecuación (3.1):

$$\%NH_2 = \frac{16.1 (y - x) * f}{w}$$

Donde:

$y$ : Punto de inflexión mayor en la gráfica de la primera derivada

$x$ : Punto de inflexión menor en la gráfica de la primera derivada

$f$ : Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

$w$ : Peso en gramos de la muestra

16.1: Factor cuyo valor está relacionado con el peso equivalente

Para determinar el grado de desacetilación de la muestra #1 de quitosano, se procedió de la siguiente manera:

Peso de quitosano ( $w$ ) = 0.251 g

Normalidad del hidróxido de sodio ( $f$ ) = 0.1 N

Factor de corrección de NaOH 0.1 N

$$FC = \frac{N_{realNaOH}}{N_{teoricaNaOH}} = \frac{0.1010376 N}{0.1 N} = 1.010376$$

$$y \text{ (mL)} = 31.5 * 1.010376 = 31.83 \text{ mL}$$

$$x \text{ (mL)} = 18.5 * 1.010376 = 18.69 \text{ mL}$$

Sustituyendo los valores anteriores en la ecuación (3.1), se tiene que:

$$\%NH_2 = \frac{16.1 (31.83 \text{ ml} - 18.69 \text{ ml}) * 0.1 N}{0.251 \text{ g}}$$

$$\%NH_2 = 84.28\%$$

Los resultados del grado de desacetilación para cada una de las tres muestras del quitosano se presentan en la Tabla 5.3

**Tabla 5.3** Resultados del grado de desacetilación para las muestras de quitosano

	<b>Primera Titulación</b>	<b>Segunda Titulación</b>	<b>Tercera Titulación</b>
<b>w(g)</b>	0.251 g	0.257 g	0.258 g
<b>x(mL)*</b>	18.69 mL	17.68 mL	16.67 mL
<b>y(mL)*</b>	31.83 mL	30.82 mL	29.81 mL
<b>%NH<sub>2</sub></b>	<b>84.28%</b>	<b>82.32%</b>	<b>81.99%</b>
<b>%NH<sub>2</sub> prom</b>	<b>82.86%</b>		
<b>Desviación estándar</b>	<b>1.24%</b>		
<b>Intervalo de confianza (95%)</b>	<b>82.86%± 2.08697%</b>		
<b>%NH<sub>2</sub>**</b>	<b>70.00%</b>		

\*Los factores de "x" e "y" han sido rectificadas con el factor de corrección del NaOH 0.1N

\*\*Grado de desacetilación de quitosano comercial. Ref.: Díaz, G., (2002)

Los resultados obtenidos en la titulación potenciométrica permiten determinar que el quitosano extraído presenta un elevado grado de desacetilación 82.86%, ya que el porcentaje de grupos amino presente en el quitosano comercial es alrededor de 70%, además, este porcentaje de desacetilación alcanzado es adecuado para la aplicación del quitosano en películas o recubrimientos en donde el grado de desacetilación únicamente debe ser mayor al 65%, según Villamán, M., (2007).

### **5.5.2 Determinación del peso molecular por viscosimetría capilar**

Para determinar el peso molecular del quitosano se utilizó un viscosímetro capilar tipo Ubbelohde Cannon Instrument Co. Las muestras de quitosano, tomadas por triplicado, se prepararon por disolución en una mezcla compuesta de ácido acético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) 0.1 M y cloruro de sodio (NaCl) 0.2 M en una relación de 50% v/v

controlando la temperatura de las soluciones a 25 °C; según la siguiente secuencia de pasos:

1. La concentración inicial del polímero, fue de  $1.0 \times 10^{-3}$  g/mL es decir para preparar 500 mL de solución se adicionó 0.5 g de Quitosano.
2. De la solución inicial del polímero se realizaron diluciones añadiendo 1 mL del disolvente (ácido acético 0.1 M - cloruro de sodio 0.2 M al 50% v/v), determinando la concentración de la dilución preparada con la siguiente ecuación:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2 \quad \text{Ec. (5.1)}$$

Donde:

$V_1$ : Volumen de la alícuota de la solución inicial

$C_1$ : Concentración de la solución inicial

$V_2$ : Volúmen de la dilución requerida

$C_2$ : Concentración de la dilución a preparar

Sustituyendo valores en la ecuación (5.1), se tiene que:

$$(8 \text{ ml}) \times \left(1.0 \times 10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{ml}}\right) = (9 \text{ ml}) \times C_2$$

$$C_2 = 8.89 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{ml}}$$

De la misma manera se prepararon diluciones:  $8.89 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ ,  $8.00 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ ,  $6.67 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{ml}}$  y  $5.71 \times 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ .

3. Con ayuda de un cronómetro se procedió a tomar el tiempo de caída para el disolvente puro, el cual se denotó por  $t_o$ .
4. Luego se tomó una alícuota de la solución inicial del polímero de la que se registró el tiempo de caída y de igual manera se procedió con cada una de las diluciones preparadas.

Los tiempos de caída para el disolvente puro y las disoluciones poliméricas fueron determinados por triplicado. Con estos tiempos, se procedió a calcular las viscosidades relativas, específicas y reducidas, para cada concentración de las disoluciones poliméricas.

Para determinar los valores de las viscosidades de cada una de las muestras se procede de la siguiente manera, para la Muestra #1 y la primera concentración  $1.00 \times 10^{-3}$  g/mL se tiene que:

La viscosidad relativa ( $\eta_r$ ) se determina mediante la ecuación (3.4) a partir de los tiempos de caída de la disolución polimérica ( $t$ ) y el tiempo de caída del disolvente ( $t_0$ ):

$$\eta_r = \frac{t}{t_0} \quad \eta_r = \frac{167.89s}{79.25s}$$

$$\eta_r = 2.1185$$

A continuación se calculó la viscosidad específica ( $\eta_{sp}$ ) usando la ecuación (3.5).

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 \quad \eta_{sp} = 2.1185 - 1$$

$$\eta_{sp} = 1.1185$$

Posteriormente se determinaron, mediante la ecuación (3.7), los valores de viscosidad reducida ( $\eta_{red}$ ).

$$\eta_{red} = \frac{\eta_r - 1}{c} \quad \eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c} \quad \eta_{red} = \frac{1.1185}{1.00 \times 10^{-3}} \quad \eta_{red} = 1118.50$$

De igual manera se procede en todos los casos para cada concentración y para cada muestra, resumiéndose dichos resultados en la Tabla 5.4:

**Tabla 5.4** Valores de viscosidades relativa, específica y reducida en muestras de quitosano

<b>Muestra #1</b>				
<b><i>c</i> (g/mL)</b>	<b><i>t</i> (s)</b>	<b><math>\eta_r</math></b>	<b><math>\eta_{sp}</math></b>	<b><math>\eta_{red}</math></b>
1.00x10 <sup>-3</sup>	167.89	2.1185	1.1185	1118.50
8.89x10 <sup>-4</sup>	156.43	1.9739	0.9739	1095.5006
8.00x10 <sup>-4</sup>	147.55	1.8618	0.8618	1077.250
6.67x10 <sup>-4</sup>	134.34	1.6951	0.6951	1042.1289
5.71x10 <sup>-4</sup>	125.48	1.5833	0.5833	1021.5412
<b>Muestra #2</b>				
<b><i>c</i> (g/mL)</b>	<b><i>t</i> (s)</b>	<b><math>\eta_r</math></b>	<b><math>\eta_{sp}</math></b>	<b><math>\eta_{red}</math></b>
1.00x10 <sup>-3</sup>	167.92	2.1189	1.1189	1118.90
8.89x10 <sup>-4</sup>	156.82	1.9788	0.9788	1101.0124
8.00x10 <sup>-4</sup>	147.47	1.8608	0.8608	1076.0
6.67x10 <sup>-4</sup>	134.61	1.6985	0.6985	1047.2264
5.71x10 <sup>-4</sup>	125.63	1.5852	0.5852	1024.8687
<b>Muestra #3</b>				
<b><i>c</i> (g/mL)</b>	<b><i>t</i> (s)</b>	<b><math>\eta_r</math></b>	<b><math>\eta_{sp}</math></b>	<b><math>\eta_{red}</math></b>
1.00x10 <sup>-3</sup>	167.81	2.1175	1.1175	1117.5
8.89x10 <sup>-4</sup>	156.53	1.9751	0.9751	1096.8504
8.00x10 <sup>-4</sup>	147.99	1.8674	0.8674	1084.25
6.67x10 <sup>-4</sup>	134.66	1.6991	0.6991	1048.1259
5.71x10 <sup>-4</sup>	125.55	1.5842	0.5842	1023.1173
<b><i>t<sub>0</sub></i> (s)</b>	79.25			

Donde:

*c* (g/mL): Concentración de las disoluciones poliméricas.

*t* (s): Tiempo de caída de las disoluciones poliméricas en el viscosímetro.



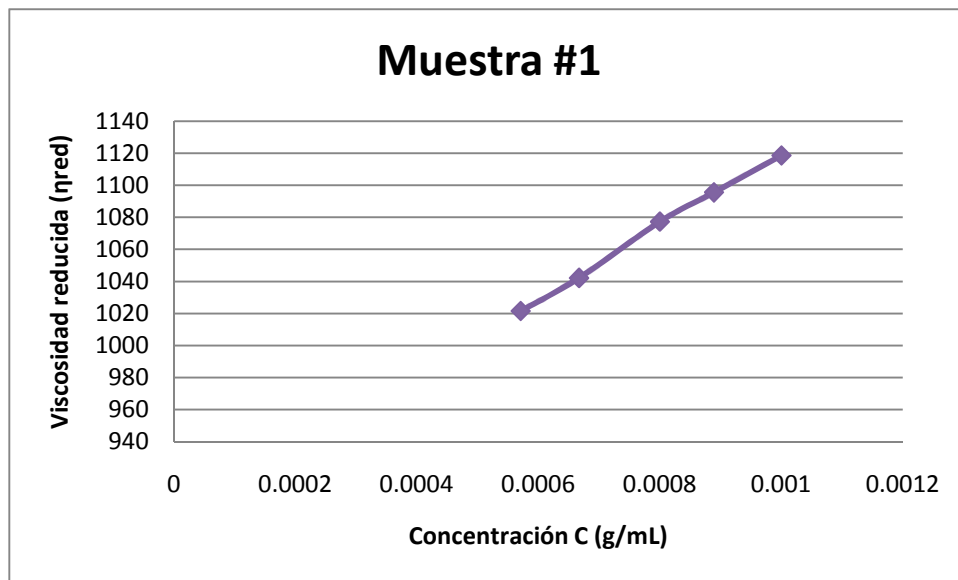
$t_0$  (s): Tiempo de caída del disolvente en el viscosímetro.

$\eta_r$ : Viscosidad relativa de las disoluciones poliméricas respecto al disolvente

$\eta_{sp}$ : Viscosidad específica de las disoluciones poliméricas.

$\eta_{red}$ : Viscosidad reducida de las disoluciones poliméricas.

Con los valores obtenidos se calculó la viscosidad intrínseca, para cada una de las muestras, dicha viscosidad se obtuvo por medio de extrapolación a concentración nula, representando gráficamente la viscosidad reducida ( $\eta_{red}$ ) frente a la concentración del polímero disuelto, este grafico puede observarse en la Figura 5.6.



**Figura 5.6** Representación gráfica para la determinación de la viscosidad intrínseca de la muestra #1

En la figura anterior se puede observar una disminución de la viscosidad reducida a medida que la concentración del quitosano disminuye, lo que indica que se cumple la expresión de Huggins para el polímero en estudio y en las condiciones de trabajo utilizadas.

Para determinar el valor de la viscosidad intrínseca se realizó una regresión lineal

$$y = b + mx \quad \text{Ec. (5.2)}$$

Obteniéndose los siguientes valores para la muestra #1:

$$a = 890.7535 \quad r = 0.9987$$

$$b = 229476.1826 \quad r^2 = 0.9975$$

Sustituyendo estos valores en la ecuación (5.2) y para una concentración  $C=0$ , se tiene que:

$$y = 890.7535 + (223677.6071 * 0)$$

$$y = \eta_{intrinsic} = 890.7535$$

El dato calculado con la ecuación (5.2) representa el valor de viscosidad intrínseca del polímero.

Como se mencionó en el fundamento teórico, la relación empírica de Mark-Houwink puede utilizarse para determinar el peso molecular promedio viscoso de un polímero, a partir de la medida de su viscosidad intrínseca en un disolvente y temperatura dados, para los cuales se conocen los valores de las constantes  $K$  y  $a$  de la ecuación (3.8).

$$[\eta] = K (M_v)^a$$

Según Díaz, G., (2002), para la disolución ácido acético 0.1 M - cloruro de sodio 0.2 M y a una temperatura de 25 °C, los valores de las constantes son:

$$K = 1.81 \times 10^{-3} \quad a = 0.93$$

Por lo tanto, sustituyendo en la ecuación (3.8) y despejando para  $M_v$ , se tiene que:

$$890.7535 = 1.81 \times 10^{-3} (M_v)^{0.93}$$

$$M_v = 1.319820 \times 10^6 \text{ Da}$$

Del mismo modo se procede para el cálculo del peso molecular promedio viscoso de las muestras restantes, los resultados se resumen en la Tabla 5.5:

**Tabla 5.5** Resultados del análisis de peso molecular en las muestras analizadas

	<b>Muestra #1</b>	<b>Muestra #2</b>	<b>Muestra #3</b>
$\eta_{\text{intrínseca}}$	890.7535	897.9251	900.5896
<b>Peso molecular (M<sub>V</sub>)</b>	1.319820x10 <sup>6</sup>	1.331250x10 <sup>6</sup>	1.335498x10 <sup>6</sup>
<b>Promedio (M<sub>V</sub>)</b>	<b>1.328856x10<sup>6</sup> Da</b>		
<b>Desviación estándar (M<sub>V</sub>)</b>	<b>8108.54 Da</b>		
<b>Intervalo de confianza (95%)</b>	<b>1.328856x10<sup>6</sup> Da ± 0.000624 Da</b>		
<b>Peso Molecular (M<sub>V</sub>)*</b>	<b>1x10<sup>5</sup> - 2,5x10<sup>6</sup> Da</b>		

\*Peso molecular promedio viscoso del quitosano comercial. Ref.: Villamán, M., (2007).

De acuerdo a los resultados observados en la determinación del peso molecular por medio de viscosimetría capilar (Tabla 5.5), el quitosano extraído se cataloga como un quitosano de mediano peso molecular, con un valor de 1.328856x10<sup>6</sup> Da, el cual se encuentra dentro del intervalo medio de pesos moleculares para quitosano comercial,(Villamán, M., 2007).

### **5.6 Elaboración de películas de quitosano (Carballo, E., Martínez, E., 2010)**

Se elaboraron películas de quitosano a escala de laboratorio utilizando un método de moldeo por evaporación de disolvente, en moldes elaborados de teflón y haciendo uso de glicerina y aceite de oliva como plastificantes, cada uno al 0.6% para su formulación.

Para la elaboración de las películas es necesario obtener una solución base de quitosano 2% (Solución A) a partir de la cual se prepararon las soluciones

compuestas que contenían cada una un plastificante diferente (Solución B y C) a una misma concentración del 0.6%, logrando así 3 soluciones diferentes:

- Solución quitosano 2% en ácido acético al 1% (Solución A)
- Solución quitosano 2% en ácido acético al 1% + glicerina 0.6% (Solución B)
- Solución quitosano 2% en ácido acético al 1% + aceite de oliva 0.6% (Solución C)

A partir de estas soluciones, se prepararon 12 películas de quitosano por cada plastificante, de acuerdo al siguiente procedimiento:

#### **Preparación de la solución base de Quitosano (Solución A)**

1. Pesar 8g. de Quitosano en un balón volumétrico de 400 mL.
2. Adicionar 200 mL. de solución de ácido acético al 1%.
3. Agitar hasta disolver, si es necesario calentar a 40°C hasta alcanzar la disolución.
4. Aforar con la solución de ácido acético y homogenizar.
5. Rotular y almacenar la solución.

#### **Preparación de la solución de quitosano 2% en ácido acético al 1% + glicerina 0.6% (Solución B)**

1. Medir 0.75 mL de glicerina y adicionarlo a un balón volumétrico de 125 mL
2. Adicionar 100 mL de la solución base de quitosano al 2% (Solución A).
3. Agitar hasta obtener una solución homogénea.
4. Aforar con solución base de quitosano y homogenizar.
5. Rotular y almacenar.

### **Preparación de la solución de quitosano 2% en ácido acético al 1% + aceite de oliva 0.6% (Solución C)**

1. Medir 0.75 mL de aceite de oliva y adicionarlo a un balón volumétrico de 125mL.
2. Adicionar 100 mL de la solución base de quitosano al 2% (Solución A).
3. Agitar hasta obtener una solución homogénea.
4. Aforar con solución base de quitosano y homogenizar.

### **Formación de las películas**

1. Rotular el molde con el tipo de plastificante utilizado.
2. Limpiar el molde con acetona y dejar secar.
3. Medir 8 mL de la solución a utilizar (B ó C)
4. Verter la solución sobre el molde.
5. Homogenizar sobre la superficie.
6. Dejar secar por 96 horas a temperatura ambiente en una superficie plana.  
Si se desea se puede calentar en estufa a 50°C durante 5 horas.
7. Pasado el tiempo indicado, separar la película con una pinza.
8. Identificar y almacenar la película en un recipiente hermético para utilizarla posteriormente.

### **5.7 Caracterización de las películas de quitosano**

El revestimiento que cubre un producto cumple funciones muy importantes, ya que previene el deterioro del alimento y extiende su tiempo de vida media. Esto

implica actuar como una excelente barrera frente a la invasión de agentes físico-químicos y microbiológicos y otorgar protección a la humedad. Para poder verificar estas funciones es necesario evaluar propiedades mecánicas, microbiológicas y de barrera las cuales se presentan a continuación.

### 5.7.1 Medición del espesor

El espesor de una película que pretende ser utilizada en el futuro en la industria alimenticia es una propiedad importante, pues un gran número de sus propiedades son potencialmente dependientes de la misma, por ejemplo; en las películas a base de quitosano el espesor afecta sus propiedades de barrera.

Se midió el espesor a la película en 5 puntos distintos haciendo uso de un micrómetro análogo Teclock modelo SM-112.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 5.6:

**Tabla 5.6** Resultados de la medición de espesor en películas de quitosano

<b>Quitosano 2% + Aceite de Oliva 0.6%</b>		<b>Quitosano 2% + Glicerina 0.6%</b>
<b>Espesor (mm)</b>		<b>Espesor (mm)</b>
0.11		0.12
0.10		0.13
0.10		0.13
0.11		0.12
0.10		0.13
<b>Promedio</b>	<b>0.104</b>	<b>0.126</b>
<b>Desviación</b>	<b>0.005477</b>	<b>0.005477</b>
<b>Intervalo de confianza (95%)</b>	<b>0.104 ± 0.005222</b>	<b>0.126 ± 0.005222</b>

### 5.7.2 Determinación de la permeabilidad al vapor de agua

Para evaluar esta propiedad se utiliza el método ASTM E 96/ E 96M-05. Este método describe dos técnicas: la que emplea desecante y la que utiliza agua. En esta investigación se utilizó la técnica que emplea desecante.

El método consiste en registrar la ganancia de peso de un desecante colocado en un tubo de hemólisis que está recubierto en su parte superior por la película sujeta a evaluación, después de haber sido introducido en una cámara ambiental bajo ciertas condiciones de humedad relativa y temperatura.

A continuación se describe la metodología que se utilizó para determinar la permeabilidad al vapor de agua en películas de quitosano:

1. Rotular tubos de hemólisis de 7.5 cm de altura por 10 mm de diámetro, con el nombre correspondiente para cada película a evaluar (quitosano + glicerina y quitosano + aceite de oliva, ambas por triplicado), a fin de no perder la identidad de las mismas.
2. Colocar en cada tubo cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) previamente desecado a  $200^\circ\text{C}$  y llevado hasta peso constante; llenar hasta 6 mm por debajo del borde, registrar el peso de cloruro de calcio necesario para alcanzar dicho borde.
3. Colocar en cada tubo la película correspondiente y sellar con una banda de hule adecuada.
4. Forrar las partes sobrantes de la película con papel aluminio.
5. Registrar el peso inicial.
6. Los tubo se colocan en la cámara ambiental bajo condiciones de humedad relativa 68%-84% y un intervalo de temperatura de  $28^\circ\text{-}35^\circ\text{C}$ .\*

7. Registrar los pesos de los tubos cada hora.
8. Detener el registro de los pesos cuando el peso del tubo exceda el 10% del peso inicial del desecante o se alcance un peso estacionario.

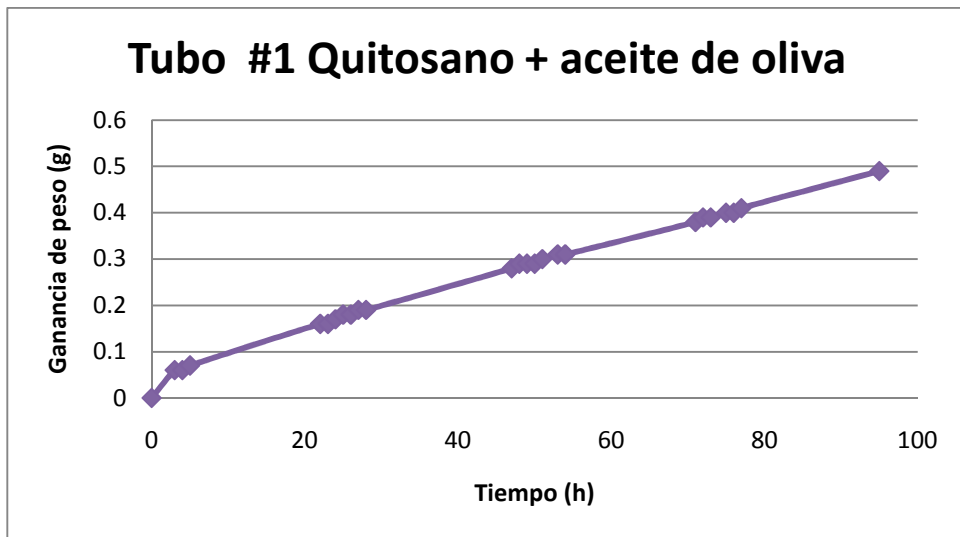
\*Nota: Los intervalos de temperatura y humedad relativa son las condiciones promedio para el territorio salvadoreño según el Servicio Nacional de Estudios Territoriales (SNET). Para mantener las condiciones especificadas se adicionó 1000 mL de solución salina sobresaturada.

Los registros de los pesos para cada tubo de hemólisis son reportados en la Tabla 5.7

Con los datos de la Tabla 5.7 se procedió a realizar una grafica de dispersión, en la cual se representaron los pesos en función del tiempo (tiempo vs. ganancia de peso) y se realizó una regresión lineal para calcular la pendiente de la grafica la cual representa la diferencia de masa a través del tiempo, este valor es necesario para poder calcular el coeficiente de transferencia al vapor de agua de acuerdo a la ecuación 5.4.

En la Figura 5.5 se muestra la grafica de tiempo vs. ganancia de peso para el tubo #1 película de quitosano + aceite de oliva





**Figura 5.7** Grafica de tiempo vs. ganancia de peso para película de quitosano 2% + aceite de oliva 0.6%

**Tabla 5.7** Registro y aumento de pesos para prueba de permeabilidad al vapor de agua en películas de quitosano

Tiempo (h)	Quitosano 2% + Aceite de Oliva 0.6%						Quitosano 2% + Glicerina 0.6%					
	Mx 1 (g)	Aumento (g)	Mx 2 (g)	Aumento (g)	Mx 3	Aumento (g)	Mx 1 (g)	Aumento (g)	Mx 2 (g)	Aumento (g)	Mx 3 (g)	Aumento (g)
0	8,76	0,00	8,55	0,00	8,53	0,00	8,60	0,00	8,70	0,00	8,85	0,00
3	8,82	0,06	8,57	0,02	8,55	0,02	8,62	0,02	8,73	0,03	8,87	0,02
4	8,82	0,06	8,57	0,02	8,55	0,02	8,62	0,02	8,73	0,03	8,87	0,02
5	8,83	0,07	8,58	0,03	8,55	0,02	8,62	0,02	8,74	0,04	8,88	0,03
22	8,92	0,16	8,68	0,13	8,61	0,08	8,71	0,11	8,86	0,16	8,98	0,13
23	8,92	0,16	8,68	0,13	8,62	0,09	8,71	0,11	8,86	0,16	8,98	0,13
24	8,93	0,17	8,69	0,14	8,63	0,10	8,72	0,12	8,87	0,17	9,00	0,15
25	8,94	0,18	8,69	0,14	8,63	0,10	8,72	0,12	8,87	0,17	9,00	0,15
26	8,94	0,18	8,70	0,15	8,63	0,10	8,73	0,13	8,88	0,18	9,00	0,15
27	8,95	0,19	8,71	0,16	8,64	0,11	8,74	0,14	8,89	0,19	9,01	0,16
28	8,95	0,19	8,71	0,16	8,64	0,11	8,74	0,14	8,90	0,20	9,01	0,16
47	9,04	0,28	8,79	0,24	8,71	0,18	8,82	0,22	9,00	0,30	9,10	0,25
48	9,05	0,29	8,80	0,25	8,71	0,18	8,83	0,23	9,01	0,31	9,11	0,26
49	9,05	0,29	8,80	0,25	8,71	0,18	8,83	0,23	9,01	0,31	9,12	0,27
50	9,05	0,29	8,80	0,25	8,72	0,19	8,83	0,23	9,02	0,32	9,12	0,27
51	9,06	0,30	8,81	0,26	8,72	0,19	8,84	0,24	9,03	0,33	9,13	0,28
53	9,07	0,31	8,81	0,26	8,73	0,20	8,85	0,25	9,04	0,34	9,13	0,28
54	9,07	0,31	8,82	0,27	8,73	0,20	8,85	0,25	9,04	0,34	9,14	0,29
71	9,14	0,38	8,89	0,34	8,78	0,25	8,92	0,32	9,13	0,43	9,21	0,36
72	9,15	0,39	8,89	0,34	8,78	0,25	8,92	0,32	9,14	0,44	9,22	0,37
73	9,15	0,39	8,90	0,35	8,79	0,26	8,93	0,33	9,14	0,44	9,22	0,37
75	9,16	0,40	8,90	0,35	8,79	0,26	8,93	0,33	9,15	0,45	9,23	0,38
76	9,16	0,40	8,90	0,35	8,80	0,27	8,94	0,34	-	-	9,23	0,38
77	9,17	0,41	8,90	0,35	8,80	0,27	8,94	0,34	-	-	9,23	0,38
95	9,25	0,49	8,97	0,42	8,85	0,32	9,01	0,41	-	-	9,31	0,46

Continuación Tabla 5.7

Tiempo (h)	Quitosano 2% + Aceite de Oliva 0.6%						Quitosano 2% + Glicerina 0.6%					
	Mx 1 (g)	Aumento (g)	Mx 2 (g)	Aumento (g)	Mx 3 (g)	Aumento (g)	Mx 1 (g)	Aumento (g)	Mx 2 (g)	Aumento (g)	Mx 3 (g)	Aumento (g)
96	-	-	8,97	0,42	8,85	0,32	9,01	0,41	-	-	-	-
97	-	-	8,97	0,42	8,86	0,33	9,01	0,41	-	-	-	-
98	-	-	8,98	0,43	8,86	0,33	9,02	0,42	-	-	-	-
99	-	-	8,99	0,44	8,87	0,34	9,03	0,43	-	-	-	-
100	-	-	8,99	0,44	8,87	0,34	9,03	0,43	-	-	-	-
166	-	-	<b>9.28</b>	<b>0.73</b>	<b>9.10</b>	<b>0.57</b>	<b>9.33</b>	<b>0.73</b>	-	-	-	-

Se realizó una regresión lineal para la Figura 5.7 según la siguiente ecuación:

$$y = mx + b \quad \text{Ec. (5.3)}$$

Obteniéndose los siguientes resultados:

$$r^2 = 0.9906 \quad m = 0.00477778 \frac{g}{h}$$

El valor de esta pendiente es necesario para determinar el Índice de transferencia al vapor de agua según la ecuación (5.4)

$$WVT = \frac{dm}{dt} * \frac{1}{A} \quad \text{Ec. (5.4)}$$

Donde:

$WVT$ : Índice de transferencia al vapor de agua o coeficiente de transmisión de vapor de agua ( $\frac{g}{hm^2}$ )

$\frac{dm}{dt}$ : Diferencia de masa a través del tiempo ( $\frac{g}{h}$ )

$A$ : Área de la película expuesta ( $m^2$ )

$$WVT = 0.00477778 \frac{g}{h} * \frac{1}{7.8538 \times 10^{-5} m^2}$$

$$WVT = 60.8340 \frac{g}{hm^2}$$

Una vez conocido el valor del Índice de transferencia al vapor de agua ( $WVT$ ) se procedió a determinar la permeanza mediante la Ecuación (5.5), la cual resulta de dividir  $WVT$  entre la presión de vapor del agua a una temperatura dada y la diferencia de las humedades relativas:

$$permeanza = \frac{WVT}{S(R_1 - R_2)} \quad \text{Ec. (5.5)}$$

Donde:

$S$ : Presión de vapor de saturación del agua a la temperatura experimental, Pa.

$R_1$ : Humedad relativa de la cámara, en fracción.

$R_2$ : Humedad relativa interna del tubo de prueba, en fracción.

El valor de S se obtuvo para una temperatura promedio entre las temperaturas de trabajo dentro de la cámara, dichos valores se obtuvieron leyendo e interpolando del apéndice A.2-9 del libro Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias de Geankoplis, reportándose un valor de  $S = 4564.2 \text{ Pa}$ . (Anexo 5.1).

Para el valor de  $R_1$  se utilizó un promedio de las condiciones de humedad de trabajo, reportadas por el medidor de humedad dentro de la cámara igual a 0.75  $R_2$  fue igual a cero ya que el tubo contenía un desecante llevado a 0 de humedad

$$Permeanza = \frac{60.8340 \frac{g}{hm^2}}{4564.2Pa (0.75 - 0)}$$

$$Permeanza = 0.0178 \frac{g}{hPam^2}$$

Finalmente, el valor de la permeanza multiplicado por el espesor de la película proporciona el valor de la permeabilidad al vapor de agua ( $WVP$ ), según la ecuación (5.6)

$$WVP = permeanza * espesor \quad \text{Ec. (5.6)}$$

Donde:

$WVP$ : Permeabilidad al vapor de agua,  $\frac{gmm}{Pahm^2}$

$$WVP = 0.0178 \frac{g}{hPam^2} * 0.104mm$$

$$0.001851 \frac{g * mm}{h * Pa * m^2}$$

Del mismo modo se procede para el cálculo de la permeabilidad al vapor de agua en las restantes películas de quitosano 2 %+ aceite de oliva 0.6% y quitosano 2% + glicerina 0.6%, dichos resultados se resumen en la Tabla 5.8:

**Tabla 5.8** Resultados de la determinación de permeabilidad al vapor de agua en películas de quitosano

	Quitosano 2%+ aceite de oliva 0.6%			Quitosano 2% + glicerina 0.6%		
	Tubo #1	Tubo #2	Tubo #3	Tubo #1	Tubo #2	Tubo #3
<b>Pendiente</b> ( $\frac{g}{h}$ )	0.0048	0.0042	0.0033	0.0043	0.0059	0.0049
<b>WVT</b> ( $\frac{g}{hm^2}$ )	60.8340	53.4773	42.0179	54.7506	75.1229	62.3902
<b>Permeanza</b> ( $\frac{g}{hPam^2}$ )	0.0178	0.0156	0.0123	0.0160	0.0219	0.0182
<b>Espesor</b>	0.104	0.104	0.104	0.126	0.126	0.126
<b>WVP</b> ( $\frac{gmm}{hPam^2}$ )	0.001851	0.001622	0.001279	0.002016	0.002759	0.002293
<b>WVP promedio</b> ( $\frac{gmm}{hPam^2}$ )	<b>0.001584</b>			<b>0.002356</b>		
<b>Desviación</b> ( $\frac{gmm}{hPam^2}$ )	<b>0.0002879</b>			<b>0.0003755</b>		
<b>Intervalo de confianza (95%)</b> ( $\frac{gmm}{hPam^2}$ )	<b>0.001584 ± 0.00048534</b>			<b>0.002356 ± 0.00063302</b>		

En la tabla 5.9, se observan los valores de permeabilidad al vapor de agua para películas comestibles y poliméricas a fin de analizar la funcionalidad de las películas elaboradas a base de quitosano.

**Tabla 5.9** Permeabilidad al vapor de agua de películas comestibles y poliméricas

<b>Film</b>	<b>WVT</b> $\left(\frac{g}{m s Pa}\right)$
Cloruro de polivinilideno	$0.7-2.4 \times 10^{-13}$
Polietileno de alta densidad	$2.4 \times 10^{-13}$
Polietileno de baja densidad	$7.3 - 9.7 \times 10^{-13}$
Etilen-vinil acetato	$2.4-4.9 \times 10^{-13}$
Poliéster	$1.2-1.5 \times 10^{-12}$
Celofán	$7.7-8.4 \times 10^{-11}$
Acetato de celulosa	$0.5-1.6 \times 10^{-11}$
Almidón de alta amilosa	$2.0-10 \times 10^{-10}$
Gluten de trigo	$1.4-4.6 \times 10^{-9}$
Aislado de proteína de soja	$1.6-4.4 \times 10^{-9}$

Ref. Bertuzzi, M., Armada, M., (2002)

De acuerdo a los resultados del ensayo de permeabilidad al vapor de agua para las películas de quitosano (Quitosano 2%+ aceite de oliva 0.6% =  $4.4 \times 10^{-10} \frac{g}{m s Pa}$  y Quitosano 2% + glicerina 0.6% =  $6.54 \times 10^{-10} \frac{g}{m s Pa}$ , con unidades consistentes a la tabla 5.9) puede observarse que el uso del quitosano como material alternativo de películas flexibles, presenta propiedades funcionales similares a las películas existentes.

### 5.7.3 Análisis microbiológico de las películas de quitosano

El quitosano es un biopolímero con actividad antimicrobiana y antifúngica; por tanto, su uso en forma de película o recubrimiento constituye una alternativa para la conservación de frutas y hortalizas es por esta razón que se desarrolló un análisis microbiológico a la película elaborada a base de quitosano, para conocer la carga microbiana y fúngica que la película podría aportar.

Teniendo como referencia la Norma Salvadoreña NSR 83.60.02:10 aplicada a películas de polietileno de baja densidad, que está en contacto con alimentos, se realizó un recuento de mesófilos, hongos y levaduras a las películas de quitosano de los cuales se reportaron los siguientes resultados:

**Tabla 5.10** Análisis microbiológico en películas de quitosano

<b>Análisis microbiológico</b>	<b>Límites permisibles NSR 83.60.02:10</b>	<b>*Quitosano 2%+ Aceite de Oliva 0.6%</b>	<b>*Quitosano 2% + Glicerina 0.6%</b>
Recuento total de bacterias mesófilas	Máximo 10 UFC/mL	1 UFC/mL	1 UFC/mL
Recuento de hongos y levaduras	No mayor 10 UFC/mL	2 UFC/mL	0 UFC/mL

\* El análisis microbiológico fue desarrollado por el Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador, (Ver anexo 5.2)

De acuerdo a los resultados obtenidos, ambas películas están dentro del rango permisible de aceptación y reflejan datos cercanos al límite inferior establecido por la norma.



## 6.0 DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE UNA ALTERNATIVA DE USO DEL QUITOSANO COMO RECUBRIMIENTO EN UN ALIMENTO

---

### 6.1 Introducción

Los alimentos, tanto en forma natural como procesada, presentan un color, apariencia y características bien definidas, mediante el cual el consumidor los identifica, cualquier cambio que se observe puede ocasionar que el producto sea rechazado.

Las películas y recubrimientos ofrecen la posibilidad de minimizar los efectos como oscurecimiento, deshidratación, aumento de vida útil, entre otros parámetros de calidad.

Las películas de quitosano son resistentes, duraderas y flexibles, con propiedades mecánicas similares a polímeros comerciales. Estas películas se emplean, junto con otros elementos, en recubrimientos para frutas, retrasando el envejecimiento, disminuyendo la oxidación, las pérdidas por transpiración y protegiendo frente al ataque de hongos.

### 6.2 Materiales y métodos

La fresa (*Fragaria ananassa*) es una fruta no climatérica nativa de las regiones templadas, con una zona apta para producción entre los 1300 y 2000 msnm. y una temperatura óptima de 14°C en promedio.

Entre los índices de calidad que se verifican en esta fruta se encuentran: apariencia (color, tamaño, ausencia de defectos), firmeza, sabor, sólidos solubles, acidez titulable y valor nutricional.

A partir del momento de la cosecha, se presentan procesos de gran importancia: seleccionar la fruta, empacarla, transportarla y almacenarla adecuadamente. Una fresa cosechada en plena maduración y mantenida a temperatura ambiente, se

deteriora un 80% en solo ocho horas. La fresa posee, por lo tanto, una vida post-cosecha muy corta.

La mayoría de las veces la pérdida de calidad de la fresa se debe a su actividad metabólica tan alta y a su sensibilidad al deterioro por hongos, por lo tanto el objetivo de este capítulo fue determinar el efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de quitosano en la calidad y vida útil de la fresa conservadas en refrigeración.

Para esta etapa de la investigación se utilizaron fresas frescas, las cuales se obtuvieron en un puesto de frutas de un mercado del área metropolitana. Las fresas se seleccionaron de manera uniforme por madurez, tamaño, libres de pudrición y defectos físicos. Posteriormente, fueron lavadas con una solución clorada (200 ppm) durante 5 minutos y secadas a temperatura ambiente.

Para recubrir las fresas se prepararon dos soluciones:

- a) Quitosano al 2% más glicerina 0.6% y
- b) Quitosano al 2% más aceite de oliva 0.6%, tal como fue descrito en el desarrollo experimental de la elaboración de películas de quitosano.

El recubrimiento de las fresas se hizo por inmersión, es decir, las fresas se sumergieron en la solución de quitosano por 2 minutos y se dejaron secar a temperatura ambiente por 10 minutos, haciendo uso de pinzas (desinfectadas previamente) para lograr un recubrimiento total del fruto.

Una vez secas las fresas se envasaron en charolas de polietileno y posteriormente se almacenaron por 12 días a temperatura de refrigeración de 4 °C.

Esta etapa del proceso se realizó para cada una de las soluciones preparadas.

Durante el mismo tiempo y a las mismas condiciones se almacenaron charolas de fresas testigo (sin recubrimiento), que sirvieron como parámetro de comparación respecto a las frutas recubiertas con quitosano.



**Figura 6.1** Secuencia de pasos para la aplicación del recubrimiento en fresas

Se envasaron 27 charolas de fresas, 9 para cada tipo de recubrimiento y 9 para las fresas testigo, de esta manera se obtuvo una cantidad representativa de datos para ser analizados mediante un diseño bifactorial con replica (ver anexo 6.1).

Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de las frutas frescas en el primer día de ser obtenidas. Estas propiedades fisicoquímicas fueron los mismos atributos de calidad evaluados durante el experimento:

- Sólidos solubles
- Pérdida de peso
- pH
- Acidez titulable
- Análisis organoléptico (color, textura, aroma, sabor y aceptación de la fruta),
- Análisis microbiológico: (recuento de hongos, levaduras, bacterias aeróbicas mesófilas.)

Los parámetros de calidad, antes mencionados, se evaluaron al primer día (muestras de fresas en general), al quinto día (fresa testigo y fresas recubiertas) y finalmente al doceavo día (fresa testigo y fresas recubiertas). (Ver tabla 6.1)

**Tabla 6.1** Resumen de condiciones y parámetros de evaluación para la investigación

<b>FRESAS ALMACENADAS A TEMPERATURA DE REFRIGERACION T = 4°C</b>			
	<b>DIA 1</b>	<b>DIA 5</b>	<b>DIA 12</b>
<b>9 BANDEJAS FRESAS SR</b>	Sólidos solubles, acidez titulable, pH, pérdida de peso, análisis microbiológico	Sólidos solubles, acidez titulable, pH, pérdida de peso, análisis microbiológico	Sólidos solubles, acidez titulable, pH, pérdida de peso, análisis microbiológico
<b>9 BANDEJAS FRESAS RQ+A</b>	Sin análisis		
<b>9 BANDEJAS FRESAS RQ+G</b>			

Fresas SR: Fresas sin recubrimiento

Fresas RQ+A: Fresas recubiertas con quitosano 2% más aceite de oliva 0.6%

Fresas RQ+G: Fresas recubiertas con quitosano 2% más glicerina 0.6%

### **6.3 Evaluación de parámetros de calidad**

#### **6.3.1 Sólidos solubles**

El contenido de sólidos solubles se determina con el índice de refracción. El índice de refracción y los grados °Brix son suficientes para determinar el contenido de sólidos solubles en el producto (SST).

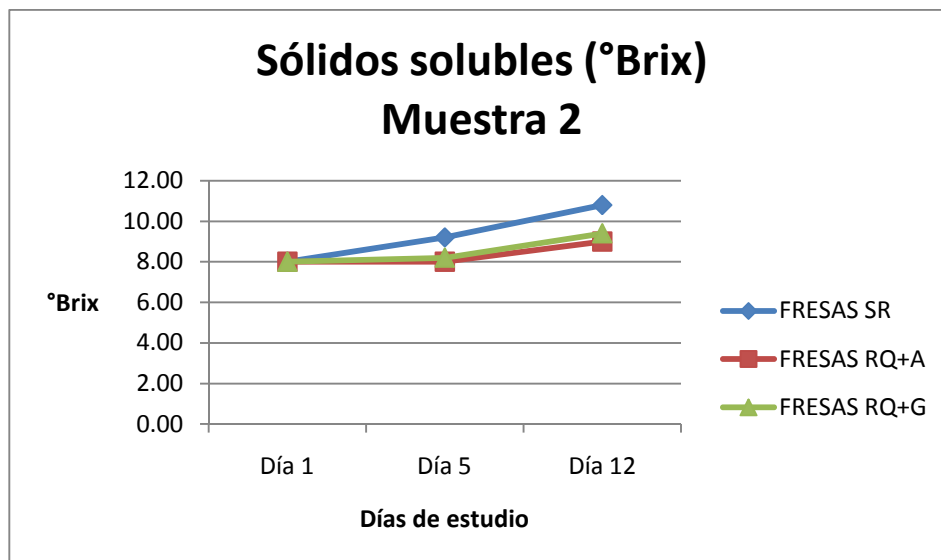
Se utilizó un refractómetro manual el cual cuantifica de manera directa el porcentaje del contenido de sólidos solubles expresados como grados °Brix.

En la Tabla 6.2 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de los sólidos solubles para las fresas en estudio:

**Tabla 6.2** Resultados de la determinación de sólidos solubles de fresas en estudio

<b>DETERMINACION DE SOLIDOS SOLUBLES EN FRESAS (°Brix)</b>							
	<b>FRESAS SR</b>			<b>FRESAS RQ+A</b>		<b>FRESAS RQ+G</b>	
<b>Muestra</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 12</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 12</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 12</b>
<b>1</b>	7.20	8.00	9.80	7.40	8.60	7.80	9.00
<b>2</b>	8.00	9.20	10.80	8.00	9.00	8.20	9.40
<b>3</b>	7.60	8.40	10.20	7.80	9.20	8.00	9.20
<b>4</b>	7.20	7.80	10.00	7.20	9.00	7.40	8.80
<b>5</b>	7.80	8.80	10.60	8.00	9.40	8.40	9.80
<b>6</b>	7.40	8.20	10.40	7.80	9.20	8.00	9.40
<b>7</b>	8.00	7.80	9.80	7.60	9.20	7.80	9.20
<b>8</b>	7.60	8.80	10.60	7.80	9.40	8.40	9.60
<b>9</b>	7.00	8.20	10.00	7.00	9.00	8.00	9.80

En la Figura 6.2 se observa una comparación gráfica para los resultados de la determinación de sólidos solubles, donde se aprecia que los °Brix para las tres muestras en estudio presentan una tendencia al aumento en función del tiempo, esto como consecuencia de la maduración y senescencia del producto.



**Figura 6.2** Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de  $^{\circ}$ Brix en las tres muestras de fresas

Resulta notable destacar que la fresa testigo fue la que presentó mayor contenido de SST después de los 12 días; mientras que en las fresas con recubrimiento de quitosano mas glicerina y quitosano mas aceite de oliva, los  $^{\circ}$ Brix aumentaron en una menor proporción debido a que el recubrimiento aplicado permite una menor formación de sólidos en la matriz del alimento.

En la Tabla 6.3, se muestran los resultados del análisis estadístico para el diseño de experimento de sólidos solubles:

**Tabla 6.3** Análisis de varianza para la determinación de sólidos solubles en fresas ( $^{\circ}$ Brix)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Recubrimiento	8.1304	2	4.0652	31.3153	0.0000	3.1907
Día	33.6067	1	33.6067	258.8816	0.0000	4.0427
Interacción	0.6933	2	0.3467	2.6705	0.0795	3.1907
Dentro del grupo	6.2311	48	0.1298			
<b>Total</b>	<b>48.6615</b>	<b>53</b>				

El análisis multifactorial de la varianza refleja la contribución de cada factor por separado (recubrimiento y día) sobre la determinación de sólidos solubles así como la posible influencia debido a la interacción de los parámetros en conjunto.

Los valores de la probabilidad, mostrados en la Tabla 6.3, comprueban la importancia estadística de los factores evaluados por separado, dado que para el factor Recubrimiento  $F$  crítico refleja un valor inferior  $F$  experimental, de igual manera para el factor día siendo el  $F$  crítico de 4.0427, esto es menor al  $F$  experimental = 258.8816.

Para la interacción entre ambos factores ya que el valor  $F$  crítico supera al  $F$  experimental, bajo un nivel de significancia de 0.05 lo que indica que no existe un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados de los sólidos solubles.

Con estos resultados se puede asumir que las cubiertas de quitosano fueron capaces de retardar la maduración y senescencia de las fresas, este hecho estaría relacionado con el papel protector del recubrimiento frente al intercambio gaseoso con el ambiente, ralentizando el metabolismo y los procesos de síntesis de compuestos azucarados en las fresas.

### **6.3.2 Pérdida de peso (Humedad)**

El contenido de humedad es un factor de calidad en la conservación de algunos productos ya que afecta la estabilidad del mismo.

Para cuantificar la pérdida de peso debido a la humedad, se desarrolló la siguiente metodología:

1. Seleccionar la muestra que consistirá en una sola fresa que esté presente desde el inicio hasta el final del tiempo de almacenamiento definido para evaluar la fruta.
2. Registrar el peso inicial en el día cero que se aplique el recubrimiento.



3. Para determinar la pérdida de peso (expresado en porcentaje) se aplicó la siguiente ecuación :

$$PFS = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad \text{Ec. (6.1)}$$

Donde:

$PFS$ : Pérdida fisiológica de peso.

$P_i$ : Peso inicial de la muestra.

$P_f$ : Peso final de la muestra.

Por ejemplo, para la muestra uno de fresa recubierta con quitosano 2% + Aceite de oliva 0.6% para el día 5, se tiene:

$$PFS = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$
$$PFS = \frac{23.784. g - 23.479 g}{23.784 g} \times 100$$

$$PFS = 1.299\%$$

De igual manera se determinó la pérdida de peso en porcentaje para cada una de las muestras, tanto para el día 5 como el día 12, cuyos resultados se detallan en la Tabla 6.4.

4. Las pérdidas de peso durante el almacenamiento se expresan como porcentaje respecto al peso inicial de la fruta.

En la Tabla 6.4 se presentan los registros de la pérdida de peso para las diferentes muestras evaluadas.

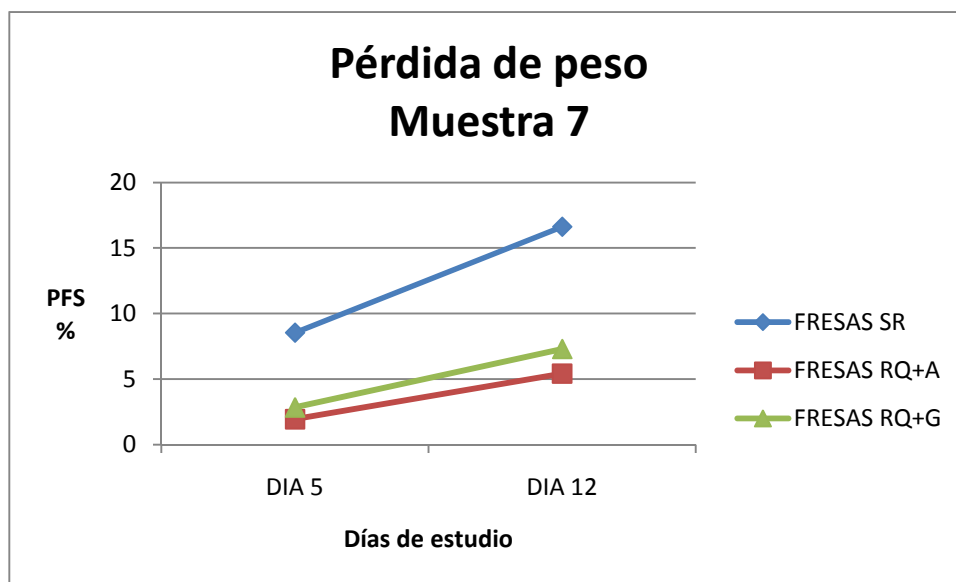
**Tabla 6.4** Resultados de pérdida de peso en muestras de fresas

DETERMINACION DE LA PERDIDA DE PESO EN FRESAS															
Muestra	FRESAS SR					FRESAS RQ+A					FRESAS RQ+G				
	Pi	Día 5	PFS Día 5	Día 12	PFS Día 12	Pi	Día 5	PFS Día 5	Día 12	PFS Día 12	Pi	Día 5	PFS Día 5	Día 12	PFS Día 12
1	37,501	33,963	10.417	32,593	15.058	23,784	23,479	1.299	22,467	5.862	23,487	22.746	3.258	21,693	8.270
2	27,651	25,452	8.640	24,148	14.506	15,496	15,197	1.967	14,657	5.724	15,964	15.536	2.755	14,678	8.761
3	23,567	21,782	8.195	20,170	16.842	35,746	35,036	2.026	34,037	5.021	21,674	20.968	3.367	20,153	7.547
4	39,300	35,735	9.976	34,392	14.271	38,800	38,310	1.279	36,274	6.964	24,000	23.512	2.076	22,426	7.019
5	24,900	23,052	8.017	21,554	15.524	28,900	28,396	1.775	27,165	6.387	28,400	27.365	3.782	26,440	7.413
6	19,457	18,015	8.004	16,692	16.565	33,574	32,976	1.813	32,016	4.866	33,481	32.780	2.138	30,867	8.469
7	23,478	21,630	8.544	20,132	16.620	17,986	17,645	1.933	17,063	5.409	26,784	26.045	2.837	24,963	7.295
8	29,301	27,364	7.079	25,586	14.520	36,974	36,452	1.432	35,187	5.079	18,493	17.768	4.080	16,838	9.829
9	33,546	30,994	8.234	28,957	15.848	26,784	26,197	2.241	25,475	5.138	19,467	18.746	3.846	17,987	8.228

Pi: Peso Inicial (día 1)

PFS: Perdida fisiológica de peso expresada en porcentaje (100%).

En la Figura 6.3 se observa una comparación gráfica para los resultados obtenidos en la determinación de pérdida de peso en fresas, se puede apreciar que, para las tres muestras de fresas, la pérdida de peso aumentó con respecto al tiempo de almacenamiento.



**Figura 6.3** Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de pérdida de peso en las tres muestras de fresas

También se observa que los valores más altos de pérdida de peso, respecto al peso inicial de la fresa, corresponden a las frutas testigo y los menores valores corresponden a las fresas recubiertas con quitosano 2% mas aceite de oliva 0.6%.

En la Tabla 6.5 se presentan los resultados del análisis estadístico para el diseño de experimento de pérdida de peso de fresas:

**Tabla 6.5** Análisis de varianza para la determinación de pérdida de peso en fresas

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Recubrimiento	691.3392	2	345.6696	522.1200	0.0000	3.1907
Día	373.5389	1	373.5389	564.2154	0.0000	4.0427
Interacción	22.3053	2	11.1527	16.8456	0.0000	3.1907
Dentro del grupo	31.7784	48	0.6621			
<b>Total</b>	1118.9619	53				

El análisis de varianza demostró que el factor recubrimiento así como el factor día tienen un efecto estadísticamente significativo en la determinación de la pérdida de peso en fresas, lo cual puede corroborarse ya que en ambos factores su valor F crítico es inferior al F experimental los cuales corresponden a un nivel de confianza del 95%.

Por tanto, los tratamientos de quitosano utilizados formaron una barrera en la superficie del fruto que disminuyó el gradiente de difusión del vapor de agua entre la fresa y el medioambiente, evitando así la pérdida de peso. Es importante hacer énfasis que el espesor y la permeabilidad de la película o recubrimiento así como la temperatura y la humedad relativa son factores importantes ya que afectan el proceso de transpiración y el intercambio de gases entre la fruta y el medio ambiente.

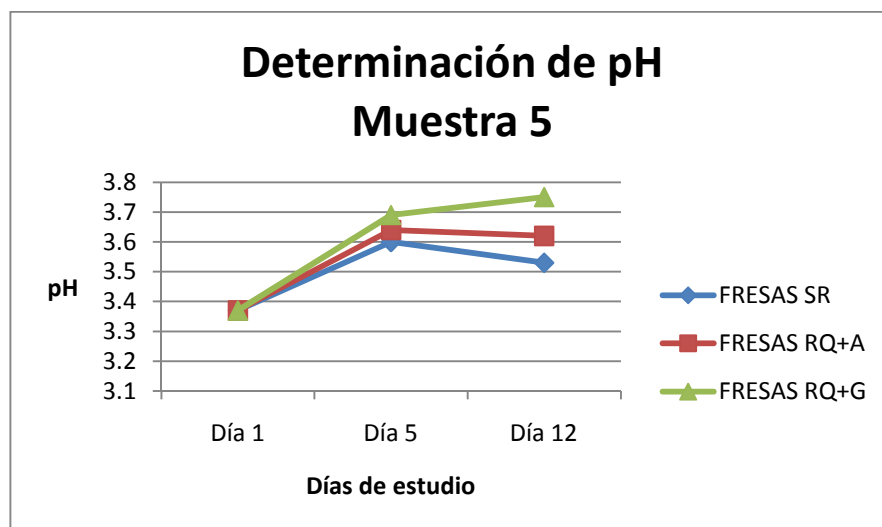
### **6.3.3 Determinación de pH**

Las mediciones se realizaron con un pHmetro marca pH meter GL P22 CRISON, repostándose los resultados obtenidos en la tabla 6.6:

**Tabla 6.6** Resultados de la determinación de pH en fresas

DETERMINACION DE PH EN FRESAS							
Muestra	FRESAS SR			FRESAS RQ+A		FRESAS RQ+G	
	Día 1	Día 5	Día 12	Día 5	Día 12	Día 5	Día 12
1	3.36	3.37	3.55	3.48	3.51	3.51	3.66
2	3.35	3.35	3.51	3.55	3.56	3.52	3.55
3	3.36	3.35	3.44	3.62	3.60	3.53	3.68
4	3.40	3.31	3.45	3.64	3.71	3.5	3.71
5	3.37	3.60	3.53	3.64	3.62	3.69	3.75
6	3.32	3.48	3.50	3.57	3.55	3.53	3.71
7	3.33	3.37	3.53	3.62	3.72	3.61	3.65
8	3.35	3.41	3.42	3.57	3.65	3.52	3.58
9	3.34	3.39	3.48	3.64	3.71	3.53	3.59

En la Figura 6.4 se observa una comparación gráfica para los resultados obtenidos en la determinación de pH en fresas, los registros de pH para las fresas presentaron una variación entre 3.31 a 3.71 durante el periodo de almacenamiento tanto para las fresas recubiertas con quitosano como para las fresas testigo, demostrando que la fruta se mantuvo estable y que no se encontraron diferencias significativas con respecto a los valores de pH.



**Figura 6.4** Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de pH en las tres muestras de fresas

La Tabla 6.7 muestra los resultados del análisis estadístico para el diseño de experimento de pH de fresas:

**Tabla 6.7** Análisis de varianza para la determinación de pH en fresas

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Recubrimiento	0.3014	2.0000	0.1507	33.4451	0.0000	3.1907
Día	0.0756	1.0000	0.0756	16.7711	0.0002	4.0427
Interacción	0.0123	2.0000	0.0062	1.3679	0.2644	3.1907
Dentro del grupo	0.2163	48.0000	0.0045			
<b>Total</b>	<b>0.6055</b>	<b>53.0000</b>				

El estudio simultáneo del factor tiempo así como el factor recubrimiento tiene un efecto estadístico significativo sobre los resultados en la determinación de pH, lo cual puede evidenciarse por los resultados de F experimental los cuales son mayores a los valores de F crítico, evaluados para el 0.05 de significancia, además La interacción entre ambos factores no es significativa ya que F crítico= 3.1907, esto es mayor, comparado con el valor F experimental= 1.3679.

### 6.3.4 Acidez titulable

Para el caso de las fresas, la acidez titulable es expresada como porcentaje de ácido cítrico y de acuerdo a la ecuación (6.2) se tiene que:

1 mL de NaOH 0.1N es equivalente a 0.0064 g de ácido cítrico, por lo tanto:

$$\% \text{Acido Citrico} = \frac{V_{\text{NaOH gastado}} * 0.0064}{V_{\text{muestra}}} * 100\% \quad \text{Ec. (6.2)}$$

Donde:

$V_{NaOH\ gastado}$ : Volumen en mL de NaOH gastado en la titulación

0.0064: factor de relación para el ácido cítrico

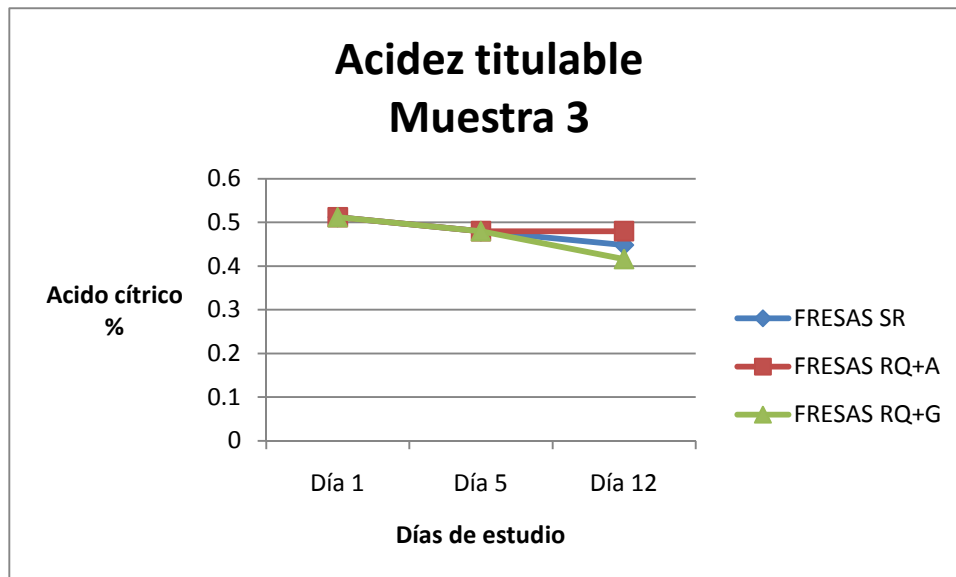
$V_{muestra}$ : Volumen en mL de alícuota tomada

En la Tabla 6.8 los valores de porcentaje de acidez registrados para la titulación potenciométrica para cada muestra de fresas:

**Tabla 6.8** Resultados de porcentaje de acidez en fresas

<b>PORCENTAJE DE ACIDEZ TITULABLE</b>							
<b>Muestra</b>	<b>FRESAS SR</b>			<b>FRESAS RQ+A</b>		<b>FRESAS RQ+G</b>	
	Día 1	Día 5	Día 12	Día 5	Día 12	Día 5	Día 12
<b>1</b>	0.608	0.576	0.512	0.544	0.512	0.480	0.448
<b>2</b>	0.576	0.544	0.480	0.512	0.480	0.448	0.416
<b>3</b>	0.512	0.480	0.448	0.480	0.480	0.480	0.416
<b>4</b>	0.576	0.544	0.512	0.544	0.512	0.480	0.448
<b>5</b>	0.480	0.448	0.416	0.480	0.480	0.448	0.480
<b>6</b>	0.608	0.544	0.512	0.480	0.512	0.416	0.384
<b>7</b>	0.544	0.512	0.480	0.480	0.544	0.416	0.416
<b>8</b>	0.512	0.480	0.448	0.512	0.480	0.448	0.416
<b>9</b>	0.576	0.512	0.480	0.480	0.512	0.448	0.416

Como puede observarse en la Figura 6.5, la acidez titulable disminuyó durante el periodo de almacenamiento para todas las muestras de fresas, esto en respuesta de que los ácidos orgánicos son utilizados como fuente de energía para la actividad celular durante la maduración de los frutos.



**Figura 6.5** Gráfico comparativo para los resultados de la determinación de acidez titulable en las tres muestras de fresas

En la Tabla 6.9 los resultados del análisis estadístico para el diseño de experimento de porcentaje de acidez en fresas:

**Tabla 6.9** Análisis de varianza para el porcentaje de acidez en fresas

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Recubrimiento	0.0428	2.0000	0.0214	23.5208	0.0000	3.1907
Día	0.0061	1.0000	0.0061	6.7500	0.0124	4.0427
Interacción	0.0035	2.0000	0.0018	1.9375	0.1552	3.1907
Dentro del grupo	0.0437	48.0000	0.0009			
<b>Total</b>	<b>0.0962</b>	<b>53.0000</b>				

El efecto principal del tipo de recubrimiento así como del día son significativos dado que los valores de F crítico, para un nivel de significancia de 0.05, se encuentran por debajo del valor F experimental por tanto el efecto es estadísticamente significativo en acidez para un 95.0% de confianza.



La interacción entre factores no es significativa para la evaluación del porcentaje de acidez, debido a su valor F crítico= 3.1907 sobrepasa al valor F experimental.

### 6.3.5 Análisis organoléptico

El análisis sensorial es una herramienta de suma utilidad, dado que permite encontrar los atributos de valor importantes para los consumidores, que sería muy difícil de medir de otra manera, utilizando aquellos parámetros de calidad que pueden percibir nuestros sentidos.

El análisis organoléptico se realizó evaluando cinco criterios de aceptabilidad en diez panelistas. Los criterios evaluados fueron: textura, color, aroma, sabor y aceptación. Las pruebas se realizaron para las fresas testigo y las fresas recubiertas con quitosano, siguiendo una prueba de aceptación escalonada, es decir fresas evaluadas para el día 1, día 5 y día 12. Ver anexo 6.3.

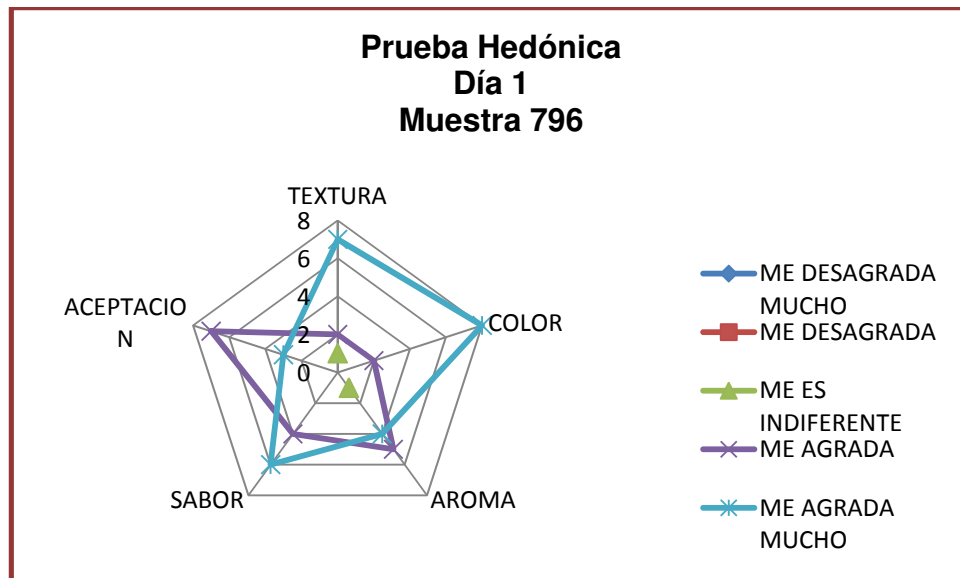
Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de las fresas para el día 1 son las siguientes:

**Tabla 6.10** Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 1

ATRIBUTO	CODIGO DE MUESTRA	PUNTUACION				
		1	2	3	4	5
TEXTURA	796			1	2	7
COLOR	796				2	8
AROMA	796			1	5	4
SABOR	796				4	6
ACEPTACION	796				7	3

796: Fresa sin recubrimiento (Testigo)

La Figura 6.6 muestra un gráfico radial para los resultados obtenidos tras el análisis organoléptico de las fresas en el día 1 de estudio.



**Figura 6.6** Gráfico radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 1

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de las fresas para el día 5 se muestran en la Tabla 6.11:

**Tabla 6.11** Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 5

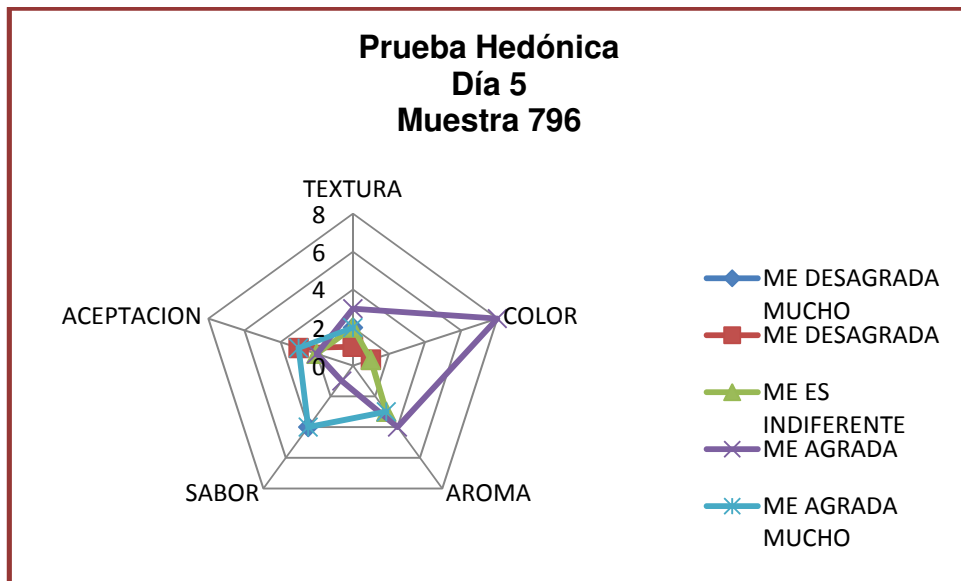
ATRIBUTO	CODIGO DE MUESTRA	PUNTUACION				
		1	2	3	4	5
TEXTURA	796	2	1	2	3	2
	181	1	2	2	3	2
	547		2	3	2	3
COLOR	796		1	1	8	
	181		2	3	1	4
	547			2	4	4
AROMA	796			3	4	3
	181	2	3		2	3
	547		2	3	2	3
SABOR	796	4			1	4
	181			2	4	4
	547		2		4	4
ACEPTACION	796		3	2	2	3
	181		1	4	2	3
	547		1		5	4

796: Fresa sin recubrimiento

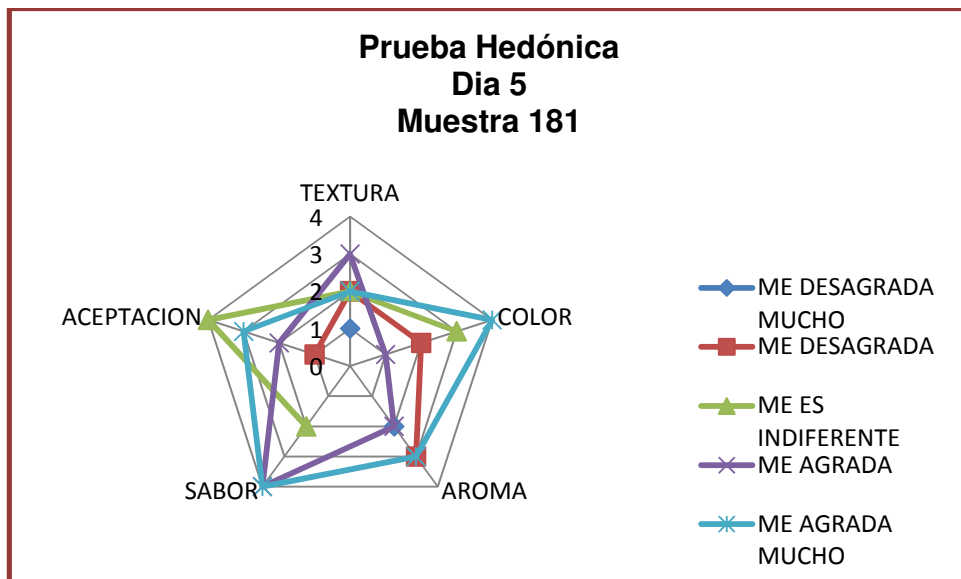
181: Fresa recubierta con quitosano 2% + aceite de oliva 0.6%

547: Fresa recubierta con quitosano 2% + glicerina 0.6%

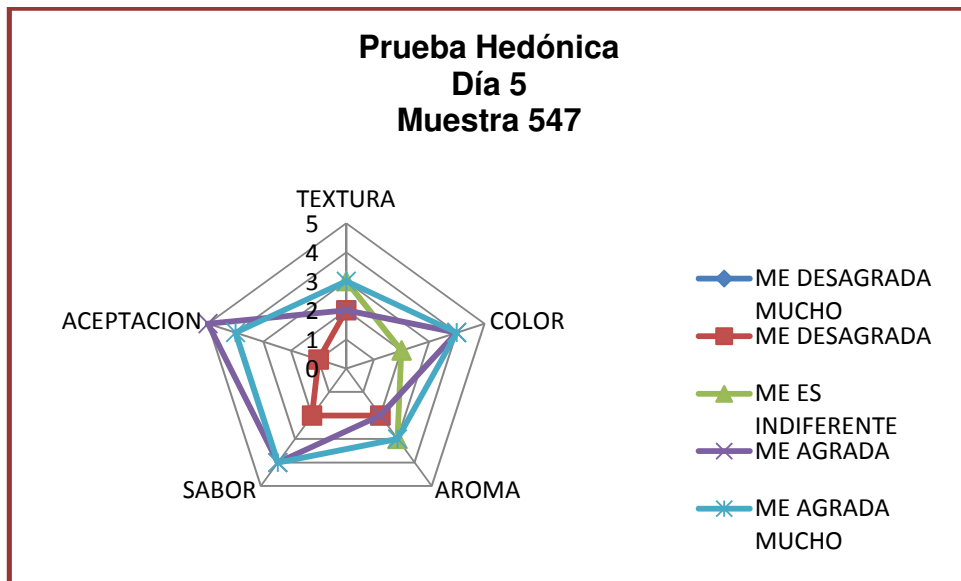
En la Figura 6.7, Figura 6.8 y figura 6.9 se muestran los resultados del análisis organoléptico de las fresas para el día 5, mediante una comparación gráfica por cada tipo de muestra tratada:



**Figura 6.7** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 5



**Figura 6.8** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+aceite de oliva, día 5



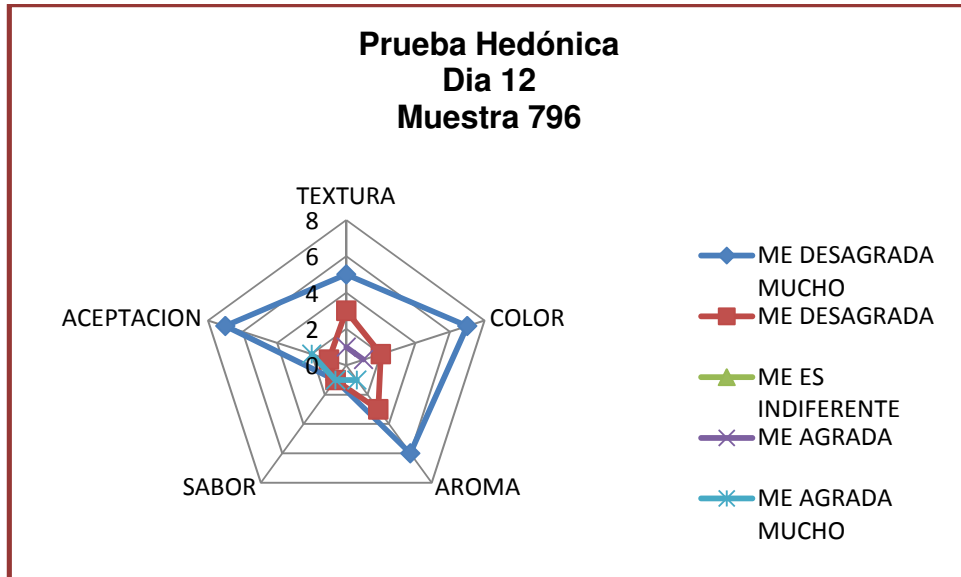
**Figura 6.9** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+glicerina, día 5

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de las fresas para el día 12 se muestran en la Tabla 6.12:

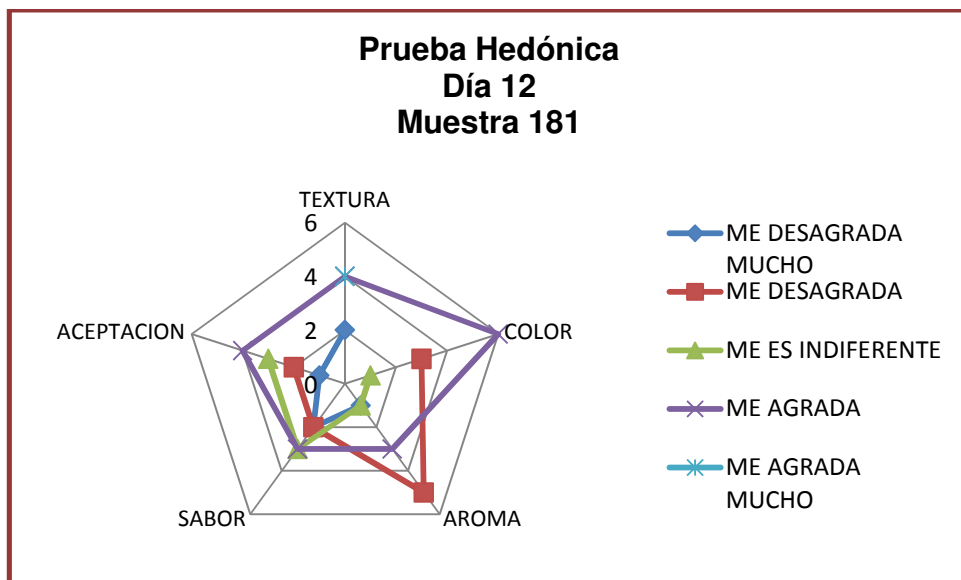
**Tabla 6.12** Resultados obtenidos en análisis organoléptico de fresas día 12

ATRIBUTO	CODIGO DE MUESTRA	PUNTUACION				
		1	2	3	4	5
TEXTURA	796	5	3		1	
	181	2			4	4
	547	1	3	3	3	
COLOR	796	7	2		1	
	181		3	1	6	
	547		4	5	1	
AROMA	796	6	3			1
	181	1	5	1	3	
	547	2	6	1		
SABOR	796	1	1			1
	181	2	2	3	3	
	547	2	4	4		
ACEPTACION	796	7	1			2
	181	1	2	3	4	
	547	1	2	7		

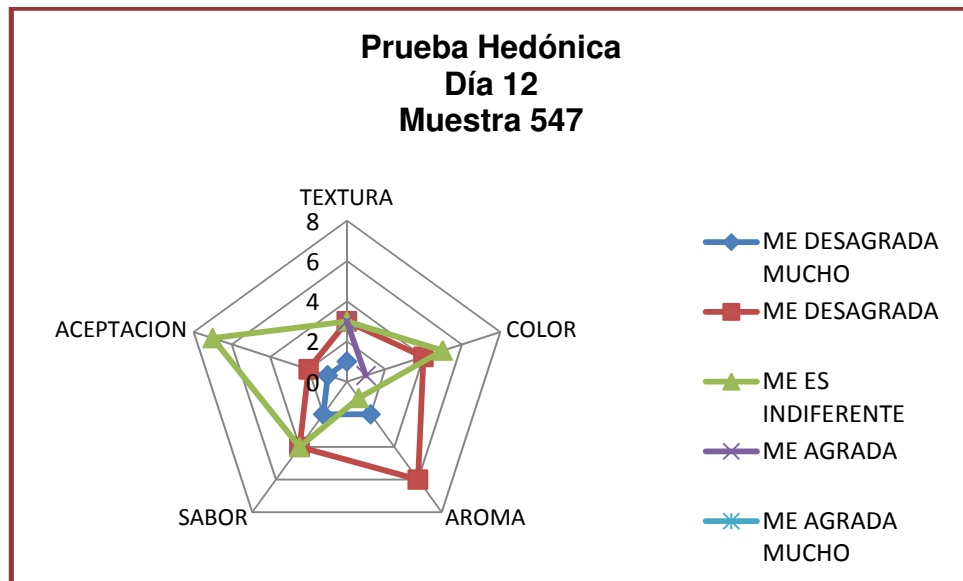
En la Figura 6.10, Figura 6.11 y Figura 6.12, se muestran los resultados del análisis organoléptico de las fresas para el día 12, mediante una comparación gráfica para cada tipo de muestra tratada:



**Figura 6.10** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa sin recubrimiento, día 12



**Figura 6.11** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+aceite de oliva, día 12



**Figura 6.12** Gráfico de radial para prueba hedónica en fresa recubierta con quitosano+glicerina, día 12

De acuerdo a la opinión de los panelistas, tanto las fresas recubiertas y las fresas testigo que tenían doce días de almacenamiento presentaban una puntuación baja de los parámetros evaluados, siendo más destacadas las observaciones para la fresa testigo, evaluadas como: “me desagrada” y “me desagrada mucho”, es decir que al doceavo día, las fresas habían perdido las características organolépticas deseables, mientras que las fresas tratadas con ambos recubrimientos y con cinco días de almacenamiento, aun conservaban buenas características y aceptación.

Para las fresas recubiertas con quitosano, se procedió a determinar el tiempo en el cual las fresas aun conservaban propiedades organolépticas deseables, esto se realizó evaluando diariamente las muestras de fresas después del quinto día, ya que estas aun presentaban una buena aceptación.

En las Figuras 6.13, Figura 6.14 y Figura 6.15, se muestra una secuencia de fotografías para las fresas en estudio, donde se observan los cambios de dichas frutas con respecto a los días de almacenamiento.



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 1



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 5



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 6



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 7



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 8



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 9



Fresas recubiertas con quitosano mas aceite de oliva dia 12

**Figura 6.13** Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas recubiertas con quitosano más aceite de oliva





Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 1



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 5



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 6



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 7



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 8



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 9



Fresas recubiertas con quitosano mas glicerina dia 12

**Figura 6.14** Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas recubiertas con quitosano más glicerina



**Figura 6.15** Secuencia de los cambios observados durante el almacenamiento de las fresas sin recubrimiento.

Se determinó que las fresas recubiertas con quitosano, para ambos tipos de plastificante aceite de oliva y glicerina conservaron sus propiedades organolépticas hasta el día nueve, mientras que las fresas testigo perdían la aceptabilidad durante el sexto día de almacenamiento.

### **6.3.6 Análisis microbiológico**

Los microorganismos requieren de ciertas condiciones para su multiplicación y es su rápida multiplicación quien, a menudo, es la causa de los problemas en la seguridad de los alimentos.

Los microorganismos pueden utilizar azúcares, alcoholes y aminoácidos como fuente de energía para su rápido crecimiento. Algunos microorganismos son capaces de emplear la energía de carbohidratos complejos, como almidones y celulosa, al tener posibilidad de degradar estos compuestos hasta azúcares sencillos.

Es un hecho comúnmente observado que, en general, las frutas se alteran por la acción de mohos y levaduras debido a la capacidad de estos organismos de crecer a pH inferior a 3.5, cifra que constituye un valor considerablemente por debajo del exigido por las bacterias productoras de intoxicaciones alimenticias o alteraciones en los alimentos.

Para evaluar el efecto de los recubrimientos de quitosano sobre las características microbiológicas de las fresas, se realizó un recuento de Hongos y Levaduras y un recuento total de bacterias aeróbicas mesófilas a las muestras en estudio en el día 5 y 12, dichas pruebas microbiológicas fueron desarrolladas por el Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) ver anexo 6. 3, reportándose los siguientes resultados:

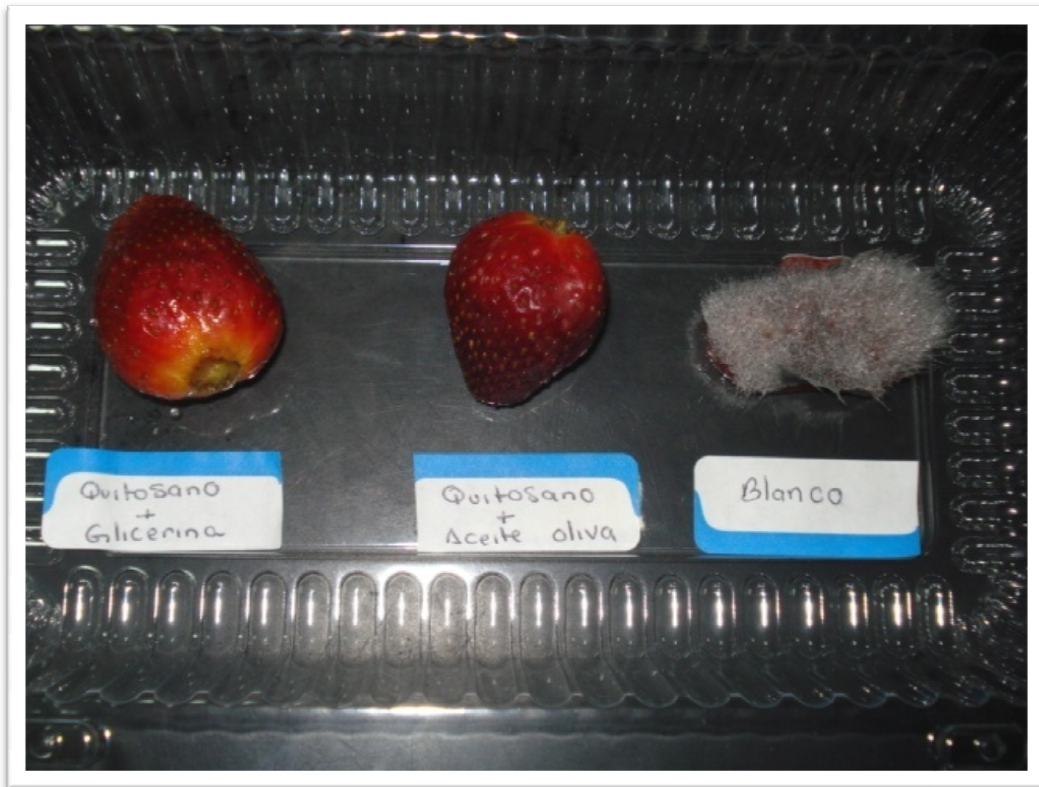
**Tabla 6.13** Resultados del análisis microbiológico en fresas

MUESTRA	DIA 1		DIA 5		DIA 12	
	Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	Detección de Hongos y Levaduras	Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	Detección de Hongos y Levaduras	Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	Detección de Hongos y Levaduras*
Fresas sin recubrimiento (Blanco)	23600 UFC/mL	100 UFC/mL	20,000 UFC/mL	160,000 UFC/mL	4,250 UFC/mL	650,000 UFC/mL
Fresas con recubrimiento Quitosano 2% + Aceite de Oliva 0.6%	23600 UFC/mL	100 UFC/MI	10 UFC/mL	4,000 UFC/mL	2,500 UFC/mL	650,000 UFC/mL
Fresas con recubrimiento Quitosano 2% + Glicerina 0.6%	23600 UFC/mL	100 UFC/mL	10 UFC/mL	4,000 UFC/mL	93 UFC/mL	650,000 UFC/mL

\*El recuento de hongos y levaduras para el día 12 refleja un mismo valor obedeciendo las reglas de conteo estándar, asignando un valor máximo debido a la alta presencia de colonias en las placas de recuento

De acuerdo a lo anterior se puede confirmar que el uso de recubrimientos a base de quitosano 2%, inhibe de manera considerable el crecimiento de microorganismos tales como bacterias mesófilas así como hongos y levaduras.

En la Figura 6.16 se muestra una fotografía comparativa de fresas recubiertas con quitosano y fresa sin recubrimiento almacenadas 12 días a las mismas condiciones de refrigeración, observándose un notable crecimiento de hongos en las fresas que no fueron sometidas a un tratamiento con quitosano



**Figura 6.16** Imagen comparativa de las fresas con y sin recubrimiento de quitosano después de 12 días de almacenamiento en refrigeración

## CONCLUSIONES

---

- En El Salvador, hasta finales del año 2009, el procesado de la industria de Langostino generaba alrededor de 5, 646,000 kg de residuos por año, por lo cual se propone la creación de una nueva actividad a partir del uso de dichos residuos en la obtención de compuestos de alto valor agregado a partir de la quitina y su derivado funcional el quitosano, ya que durante los últimos años ha aumentado el interés por el uso de dichos polímeros en las distintas ramas de la industria.
- El grado de desacetilación del quitosano obtenido es de 82.86% y su peso molecular de  $1.328856 \times 10^6$  Da, esto demuestra que los parámetros temperatura, concentración de reactivos y tiempos de reacción para la extracción y desacetilación de quitina, aplicadas en este trabajo, son las adecuadas para obtener un polímero que cumple con los estándares de un quitosano comercial.
- El diseño bifactorial con replica permitió concluir que los factores tipo de recubrimiento aplicado a las fresas y días de almacenamiento tienen un efecto estadísticamente significativo sobre las características fisicoquímicas evaluadas ( $^{\circ}$ Brix, Pérdida de peso, Acidez titulable y pH) con 95% de nivel de confianza.
- La aplicación de los recubrimientos a base de quitosano supuso un retraso en el crecimiento de hongos y levaduras en las fresas tratadas, por lo que el uso de dicho polímero promete ser una nueva alternativa de conservación de los productos hortofrutícolas después de su cosecha.

- La prueba hedónica reflejó que las fresas tratadas con recubrimiento a base de quitosano tuvieron una aceptabilidad mayor que las fresas sin recubrimiento, de acuerdo a los criterios sensoriales evaluados por panelistas, siendo las fresas recubiertas con quitosano más glicerina las que mejor conservaron sus características organolépticas al final del estudio, lo que permite considerar a la presente propuesta de revestimiento como apropiada para una aplicación durante el almacenaje y posterior comercialización de dichos productos.

## RECOMENDACIONES

---

- Promover en el sector industrial la extracción de quitina y obtención de quitosano a partir de los desechos del procesamiento de crustáceos, aumentando de esta manera el valor de los recursos naturales existentes en El Salvador.
- Realizar investigaciones encaminadas en determinar el uso del quitosano como polímero funcional en diferentes ámbitos industriales.
- Profundizar en los diferentes aspectos básicos que contribuyen a explicar el efecto de la aplicación de este biopolímero en las frutas y hortalizas.
- Evaluar la aplicación de quitosano como recubrimientos en otros tipos de alimentos.
- Determinar el efecto que conlleva la variación de la concentración de quitosano y plastificantes en la formulación del recubrimiento para determinar cómo estos parámetros afectan las características fisicoquímicas del alimento en estudio.
- En conjunto con la aplicación de técnicas de conservación postcosecha es importante que los agricultores adopten Buenas Prácticas de Manipulación de tal forma que garanticen la calidad e inocuidad de los productos hortofrutícolas.



## REFERENCIAS

### Bibliográficas:

1. Agulló, E., Mato, R. (2004). “Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones”. Perú: Pontificia universidad Católica del Perú.
2. Bósquez, E., (2003). “Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco de limón persa (Citrus latifolia Tanaka)”. México D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
3. Carballo, E., Martínez, E., (2010). “Determinación de la permeabilidad al vapor de agua por el método ASTM E96/E96M-05 en películas de quitosano”. Trabajo de Graduación. El Salvador: Universidad de El Salvador.
4. Cárdenas, J., Orellana, L., (2005). “Abundancia y distribución de Langostino Chileno Pleuroncodes planipes en la costa de El Salvador en el Océano Pacífico”. Trabajo de Graduación. El Salvador: Universidad de El Salvador.
5. Caprile, D., (2006). “Obtención y utilización de quitina y quitosano a partir de desechos de crustáceos”. Bahía Blanca España.
6. Díaz, G., (2002). “Caracterización de quitina y quitosano obtenidos a partir de exoesqueletos de camarón”. Trabajo de Graduación. El Salvador: Universidad de El Salvador.

7. El Salvador. Ministerio de Economía. (2008). "Balanza de pagos del Banco Central de Reserva".
8. El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería (2006). "Centro para el Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA)".
9. Gestí, S., (2004). "Estudio estructural de poliésteres derivados de 1,4-butanodiol ó 1,6-hexanodiol y ácidos dicarboxílicos alifáticos". España: Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona.
10. González, J., Salazar, J., (2007). "Evaluación del stock de langostino (Pleuroncodes planipes) en El Salvador, año 2007". El Salvador: Centro de Desarrollo Pesquero y Acuicultura Ministerio de Agricultura.
11. Hart, F., Fisher H. (1991). "Análisis modernos de los alimentos". New York: Editorial Springer-Verlag.
12. Hernández, A., Bautista S., Velázquez, M. (2005). "Potencial del quitosano en enfermedades post-cosecha". México: Sociedad Mexicana de Fitopatología.
13. Lárez, C., (2008). "Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica". Venezuela: Universidad de los Andes.
14. Maldonado, S. (2005). "Nuevos tratamientos de lana con enzimas". Barcelona: Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales de Barcelona.

15. Marchart, S. (2007). "Pardeamiento enzimático del fruto de níspero (*Eriobotrya japonica* cv. Algeri): enzimología y fisiología de la polifenol oxidasa". España: Universidad de Alicante.
16. Montgomery Douglas C. (1991). "Diseño y Análisis de Experimentos". México: Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V., 1º edición.
17. Palma, S., Arana, P., (2007). "Aspectos reproductivos del langostino colorado frente a la costa de Concepción Chile". Chile: Universidad Católica de Valparaíso.
18. Roblejo, L. (2009). "Evaluación de la aplicación de coberturas de quitosana en la conservación de tomates". La Habana: Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos.
19. Tapia, C., Soto, D., Albuquerque, C. (2009). "Efecto antifúngico de quitosano de alto peso molecular en cepas de *Cándida* sp aisladas de muestras clínicas". Chile: Revista chilena de infectología.
20. Velázquez, C. (2008). "Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica". Venezuela: Universidad de los Andes Mérida.
21. Villamán, M., (2007). "Elaboración y caracterización de films comestibles basadas en mezclas entre proteínas de quinoa y quitosano". Santiago de Chile: Universidad de Chile.

Electrónicas:

22. FAO (2000).

[http://www.infoagro.com/frutas/deterioro\\_poscosecha\\_frutas\\_hortalizas.htm](http://www.infoagro.com/frutas/deterioro_poscosecha_frutas_hortalizas.htm).  
“Deterioro de las frutas y hortalizas frescas en el periodo de post-cosecha”.  
Fecha de consulta; 28 de marzo de 2010.

23. FAO (2000).

<http://www.fao.org/docrep/x5055S/x5055S02.htm#1.%20Las%20frutas%20y%20hortalizas%20frescas%20como%20productos%20pericibles>. “Manual para el mejoramiento del manejo post-cosecha de frutas y hortalizas”.  
Fecha de consulta; 28 de marzo de 2010.

24. FAO (2000).

<http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ac304s/ac304s00.htm#toc>. “Técnicas de manejo post-cosecha a pequeña escala”. Fecha de consulta; 27 de marzo de 2010.

25. Garde, J. (2009).

<http://www.guiaenvase.com/bases/guiaenvase.nsf>  
Guía técnica a inia de envases y embalaje. Materiales flexibles (films). 15 de Marzo de 2010.

26. Pelayo, C.(2002)

<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Espanol/Fresa.shtml>  
Indicadores básicos del manejo postcosecha de fresas. Fecha de consulta 07 de Julio 2010.

ANEXOS

**Anexos 5.1 Valores de presión de vapor de saturación del agua. Apéndice A.2-2 del libro Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias de Geankoplis**

**A.2-8 Capacidad calorífica del hielo**

Temperatura		$c_p$		Temperatura		$c_p$	
$^{\circ}F$	K	$btu/lb_m \cdot ^{\circ}F$	$kJ/kg \cdot K$	$^{\circ}F$	K	$btu/lb_m \cdot ^{\circ}F$	$kJ/kg \cdot K$
32	273.15	0.500	2.093	-10	249.85	0.461	1.930
20	266.45	0.490	2.052	-20	244.25	0.452	1.892
10	260.95	0.481	2.014	-30	238.75	0.442	1.850
0	255.35	0.472	1.976	-40	233.15	0.433	1.813

Referencia: Adaptado de ASHRAE, *Handbook of Fundamentals*, Nueva York: ASHRAE, 1972.

**A.2-9 Propiedades del vapor saturado y del agua (tablas de vapor), Unidades SI**

Temperatura ( $^{\circ}C$ )	Presión de vapor (kPa)	Volumen específico ( $m^3/kg$ )		Entalpía (kJ/kg)		Entropía (kJ/kg $\cdot$ K)	
		Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado
0.01	0.6113	0.0010002	206.136	0.00	2 501.4	0.0000	9.1562
3	0.7577	0.0010001	168.132	12.57	2 506.9	0.0457	9.0773
6	0.9349	0.0010001	137.734	25.20	2 512.4	0.0912	9.0003
9	1.1477	0.0010003	113.386	37.80	2 517.9	0.1362	8.9253
12	1.4022	0.0010005	93.784	50.41	2 523.4	0.1806	8.8524
15	1.7051	0.0010009	77.926	62.99	2 528.9	0.2245	8.7814
18	2.0640	0.0010014	65.038	75.58	2 534.4	0.2679	8.7123
21	2.487	0.0010020	54.514	88.14	2 539.9	0.3109	8.6450
24	2.985	0.0010027	45.883	100.70	2 545.4	0.3534	8.5794
25	3.169	0.0010029	43.360	104.89	2 547.2	0.3674	8.5580
27	3.567	0.0010035	38.774	113.25	2 550.8	0.3954	8.5156
30	4.246	0.0010043	32.894	125.79	2 556.3	0.4369	8.4533
33	5.034	0.0010053	28.011	138.33	2 561.7	0.4781	8.3927
36	5.947	0.0010063	23.940	150.86	2 567.1	0.5188	8.3336
40	7.384	0.0010078	19.523	167.57	2 574.3	0.5725	8.2570
45	9.593	0.0010099	15.258	188.45	2 583.2	0.6387	8.1648
50	12.349	0.0010121	12.032	209.33	2 592.1	0.7038	8.0763
55	15.758	0.0010146	9.568	230.23	2 600.9	0.7679	7.9913
60	19.940	0.0010172	7.671	251.13	2 609.6	0.8312	7.9096
65	25.03	0.0010199	6.197	272.06	2 618.3	0.8935	7.8310
70	31.19	0.0010228	5.042	292.98	2 626.8	0.9549	7.7553
75	38.58	0.0010259	4.131	313.93	2 635.3	1.0155	7.6824
80	47.39	0.0010291	3.407	334.91	2 643.7	1.0753	7.6122
85	57.83	0.0010325	2.828	355.90	2 651.9	1.1343	7.5445
90	70.14	0.0010360	2.361	376.92	2 660.1	1.1925	7.4791
95	84.55	0.0010397	1.9819	397.96	2 668.1	1.2500	7.4159
100	101.35	0.0010435	1.6729	419.04	2 676.1	1.3069	7.3549

A.2-9 (Continuación)

Tempe- ratura (°C)	Presión de vapor (kPa)	Volumen específico (m <sup>3</sup> /kg)		Entalpía (kJ/kg)		Entropía (kJ/kg · K)	
		Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado
105	120.82	0.0010475	1.4194	440.15	2 683.8	1.3630	7.2958
110	143.27	0.0010516	1.2102	461.30	2 691.5	1.4185	7.2387
115	169.06	0.0010559	1.0366	482.48	2 699.0	1.4734	7.1833
120	198.53	0.0010603	0.8919	503.71	2 706.3	1.5276	7.1296
125	232.1	0.0010649	0.7706	524.99	2 713.5	1.5813	7.0775
130	270.1	0.0010697	0.6685	546.31	2 720.5	1.6344	7.0269
135	313.0	0.0010746	0.5822	567.69	2 727.3	1.6870	6.9777
140	316.3	0.0010797	0.5089	589.13	2 733.9	1.7391	6.9299
145	415.4	0.0010850	0.4463	610.63	2 740.3	1.7907	6.8833
150	475.8	0.0010905	0.3928	632.20	2 746.5	1.8418	6.8379
155	543.1	0.0010961	0.3468	653.84	2 752.4	1.8925	6.7935
160	617.8	0.0011020	0.3071	675.55	2 758.1	1.9427	6.7502
165	700.5	0.0011080	0.2727	697.34	2 763.5	1.9925	6.7078
170	791.7	0.0011143	0.2428	719.21	2 768.7	2.0419	6.6663
175	892.0	0.0011207	0.2168	741.17	2 773.6	2.0909	6.6256
180	1 002.1	0.0011274	0.19405	763.22	2 778.2	2.1396	6.5857
190	1 254.4	0.0011414	0.15654	807.62	2 786.4	2.2359	6.5079
200	1 553.8	0.0011565	0.12736	852.45	2 793.2	2.3309	6.4323
225	2 548	0.0011992	0.07849	966.78	2 803.3	2.5639	6.2503
250	3 973	0.0012512	0.05013	1 085.36	2 801.5	2.7927	6.0730
275	5 942	0.0013168	0.03279	1 210.07	2 785.0	3.0208	5.8938
300	8 581	0.0010436	0.02167	1 344.0	2 749.0	3.2534	5.7045

Referencia: Resumido de J. H. Keenan, F. G. Keyes, P. G. Hill y J. G. Moore, *Steam Tables-Metric Units*. Nueva York: John Wiley & Sons, Inc., 1969. Reimpreso con autorización de los editores.

A.2-9 Propiedades del vapor saturado y del agua (tablas de vapor), unidades del Sistema Inglés

Tempe- ratura (°F)	Presión de vapor (lb/pulg <sup>2</sup> abs)	Volumen específico (pie <sup>3</sup> /lb <sub>m</sub> )		Entalpía (btu/lb <sub>m</sub> )		Entropía (btu/lb <sub>m</sub> · °F)	
		Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado	Líquido	Vapor saturado
32.02	0.08866	0.016022	3 302	0.00	1 075.4	0.000	2.1869
35	0.09992	0.016021	2 948	3.00	1 076.7	0.00607	2.1764
40	0.12166	0.016020	2 445	8.02	1 078.9	0.01617	2.1592
45	0.14748	0.016021	2 037	13.04	1 081.1	0.02618	2.1423
50	0.17803	0.016024	1 704.2	18.06	1 083.3	0.03607	2.1259
55	0.21400	0.016029	1 431.4	23.07	1 085.5	0.04586	2.1099

(Continúa)

## Anexos 5.2 Resultados de análisis microbiológico en películas de quitosano



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN.SALUD.UES@hotmail.com  
redillos@navegante.com.sv

### INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre de la Muestra: Película para envoltura de alimentos Código AL-172

Muestreador: José Luís Vásquez

Solicitante: Mirna Beatriz Vidal Fecha de emisión: 16-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Película elaborada a base de Quitosano 2%, Acido Acético 1% y Glicerina 0.6 %  
De color café oscuro.

Recepción:

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	1 UFC / mL	
Determinación de Hongos y levaduras	0 UFC / mL	
<b>OBSERVACIONES:</b> Especificaciones basadas en la Norma CONACYT		



Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIOLOGA

Fecha de análisis: 12-07-2010





**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
reedillos@navegante.com.sv

**INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**

Nombre de la Muestra:  Película para envoltura de alimentos  Código  AL-171

Muestrador:  José Luís Vásquez

Solicitante:  Mirna Beatriz Vidal  Fecha de emisión:  16-07-2010

Método:  Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción:  Película elaborada a base de Quitosano 2%, Acido Acético 1% y Aceite de oliva  
0.6 %

De color café oscuro.

Recepción:  05-07-2010

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	1 UFC / mL	
Determinación de Hongos y levaduras	2 UFC / mL	
<b>OBSERVACIONES:</b> Especificaciones basadas en la Norma CONACYT		



Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIÓLOGA

Fecha de análisis:  12-07-2010

### Anexo 5.3 Estimación del intervalo de confianza de la media (Berenson, M. & Levine, D. 1993)

Si la media de la población ( $\mu$ ) es desconocida, es probable que la desviación estándar ( $\sigma$ ) real o de la población sea conocida. Por tanto se necesita obtener una estimación del intervalo de confianza de  $\mu$  con el uso de los estadísticos muestrales  $\bar{X}$  y  $S$ .

La distribución que se ha desarrollado para aplicarla a esta situación es la distribución  $t$  de Student.

Esta distribución  $t$  es una distribución simétrica que es similar a la distribución normal, aunque tiene más área en las colas y menos en el centro que la distribución normal.

El intervalo de confianza para la media con  $\sigma$  desconocida, se expresa como sigue:

$$\bar{X} \pm t_{n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$
$$P \left[ \bar{X} - t_{n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{X} + t_{n-1} \frac{S}{\sqrt{n}} \right] = 1 - \alpha$$

Donde:

$\bar{X}$ : Media muestral \*

$t_{n-1}$ : Estadístico  $t$  Student el valor critico para los grados de libertad apropiados ( $n - 1$ ), se puede obtener con las tablas de distribución apropiadas

$S$ : Desviación estándar muestral \*\*

$n$ : Tamaño de la muestra

$n - 1$ : Grados de libertad

$1 - \alpha$ : Nivel de confianza

El nivel de confianza  $1 - \alpha$  indica el valor de área que quedara en la cola de la distribución.

\* Para poder determinar la media muestral  $\bar{X}$

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Donde:

$\bar{X}$ : Media aritmética de la muestra

$n$ : Tamaño de la muestra

$X_i$ :  $i$ ésima observación de la variable aleatoria  $X$

$\sum_{i=1}^n$  : Suma de todos los valores de 1 a  $n$

\*\* La desviación estándar de una muestra  $S$  se calcula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Donde:

$\bar{X}$ : Media aritmética de la muestra

$n$ : Tamaño de la muestra

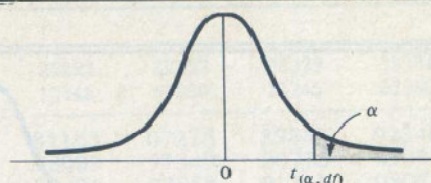
$X_i$ :  $i$ ésima observación de la variable aleatoria  $X$

$\sum_{i=1}^n$  : Sumatorio de la diferencia alrededor de la media de todos los valores de 1  
a  $n$

$n - 1$ : Grados de libertad

Tabla E-3. Valores críticos de  $t$

Para un número particular de grados de libertad, la entrada representa el valor crítico de  $t$  correspondiente a un área especificada para la cola superior.



Grados de libertad	Áreas de cola superior					
	.25	.10	.05	.025	.01	.005
1	1.0000	3.0777	6.3138	12.7062	31.8207	63.6574
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9646	9.9248
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8409
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7764	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0322
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9980	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5177	2.8314
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7969
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500
31	0.6825	1.3095	1.6955	2.0395	2.4528	2.7440
32	0.6822	1.3086	1.6939	2.0369	2.4487	2.7385
33	0.6820	1.3077	1.6924	2.0345	2.4448	2.7333
34	0.6818	1.3070	1.6909	2.0322	2.4411	2.7284
35	0.6816	1.3062	1.6896	2.0301	2.4377	2.7238
36	0.6814	1.3055	1.6883	2.0281	2.4345	2.7195
37	0.6812	1.3049	1.6871	2.0262	2.4314	2.7154
38	0.6810	1.3042	1.6860	2.0244	2.4286	2.7116
39	0.6808	1.3036	1.6849	2.0227	2.4258	2.7079
40	0.6807	1.3031	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045
41	0.6805	1.3025	1.6829	2.0195	2.4208	2.7012
42	0.6804	1.3020	1.6820	2.0181	2.4185	2.6981
43	0.6802	1.3016	1.6811	2.0167	2.4163	2.6951
44	0.6801	1.3011	1.6802	2.0154	2.4141	2.6923
45	0.6800	1.3006	1.6794	2.0141	2.4121	2.6896

Tabla E-3. (Continuación)

Grados de libertad	Áreas de cola superior					
	.25	.10	.05	.025	.01	.005
91	0.6772	1.2909	1.6618	1.9864	2.3680	2.6309
92	0.6772	1.2908	1.6616	1.9861	2.3676	2.6303
93	0.6771	1.2907	1.6614	1.9858	2.3671	2.6297
94	0.6771	1.2906	1.6612	1.9855	2.3667	2.6291
95	0.6771	1.2905	1.6611	1.9853	2.3662	2.6286
96	0.6771	1.2904	1.6609	1.9850	2.3658	2.6280
97	0.6770	1.2903	1.6607	1.9847	2.3654	2.6275
98	0.6770	1.2902	1.6606	1.9845	2.3650	2.6269
99	0.6770	1.2902	1.6604	1.9842	2.3646	2.6264
100	0.6770	1.2901	1.6602	1.9840	2.3642	2.6259
102	0.6769	1.2899	1.6599	1.9835	2.3635	2.6249
104	0.6769	1.2897	1.6596	1.9830	2.3627	2.6239
106	0.6768	1.2896	1.6594	1.9826	2.3620	2.6230
108	0.6768	1.2894	1.6591	1.9822	2.3614	2.6221
110	0.6767	1.2893	1.6588	1.9818	2.3607	2.6213
112	0.6767	1.2892	1.6586	1.9814	2.3601	2.6204
114	0.6766	1.2890	1.6583	1.9810	2.3595	2.6196
116	0.6766	1.2889	1.6581	1.9806	2.3589	2.6189
118	0.6766	1.2888	1.6579	1.9803	2.3584	2.6181
120	0.6765	1.2886	1.6577	1.9799	2.3578	2.6174
122	0.6765	1.2885	1.6574	1.9796	2.3573	2.6167
124	0.6765	1.2884	1.6572	1.9793	2.3568	2.6161
126	0.6764	1.2883	1.6570	1.9790	2.3563	2.6154
128	0.6764	1.2882	1.6568	1.9787	2.3558	2.6148
130	0.6764	1.2881	1.6567	1.9784	2.3554	2.6142
132	0.6764	1.2880	1.6565	1.9781	2.3549	2.6136
134	0.6763	1.2879	1.6563	1.9778	2.3545	2.6130
136	0.6763	1.2878	1.6561	1.9776	2.3541	2.6125
138	0.6763	1.2877	1.6560	1.9773	2.3537	2.6119
140	0.6762	1.2876	1.6558	1.9771	2.3533	2.6114
142	0.6762	1.2875	1.6557	1.9768	2.3529	2.6109
144	0.6762	1.2875	1.6555	1.9766	2.3525	2.6104
146	0.6762	1.2874	1.6554	1.9763	2.3522	2.6099
148	0.6762	1.2873	1.6552	1.9761	2.3518	2.6095
150	0.6761	1.2872	1.6551	1.9759	2.3515	2.6090
∞	0.6745	1.2816	1.6449	1.9600	2.3263	2.5758

FUENTE: Donald B. Owen, *Handbook of Statistical Tables*, © 1962, Addison-Wesley, Reading, Massachusetts. Extractada de la tabla 2-1. Reimpresa con permiso del U.S. Department of Energy.

## Anexo 6.1 Diseño factorial de dos factores (Montgomery Douglas C. ,1991)

Los tipos más sencillos de diseño factoriales implican solo dos factores o conjuntos de tratamientos. Hay  $a$  niveles del factor A y  $b$  niveles del factor B, dispuestos en un diseño factorial; esto es, cada repetición o réplica del experimento contiene todas las combinaciones de tratamiento  $ab$ . En general hay  $n$  repeticiones.

Este diseño es un ejemplo específico del caso general de un diseño con dos factores (bifactorial). Para pasar al caso general, sea  $y_{ijk}$  la respuesta observada cuando el factor A se encuentra en el  $i$ -ésimo nivel ( $i=1,2,\dots, n$ ). En general los datos se observarán como en la Tabla 1. El orden en el cual se toman las  $abn$  observaciones es aleatorio, de modo que éste es un diseño completamente aleatorizado

**Tabla 1.** Disposición general para un diseño bifactorial

		Factor B			
		1	2	.....	b
Factor A	1	$Y_{111}, Y_{112}, \dots$ $Y_{11n}$	$Y_{121}, Y_{122}, \dots$ $Y_{12n}$		$Y_{1b1}, Y_{1b2}, \dots$ $Y_{1bn}$
	2	$Y_{211}, Y_{212}, \dots$ $Y_{21n}$	$Y_{221}, Y_{222}, \dots$ $Y_{22n}$		$Y_{2b1}, Y_{2b2}, \dots$ $Y_{2bn}$
	.				
	a	$Y_{a11}, Y_{a12}, \dots$ $Y_{a1n}$	$Y_{a21}, Y_{a22}, \dots$ $Y_{a2n}$		$Y_{ab1}, Y_{ab2}, \dots$ $Y_{abn}$

Las observaciones pueden describirse mediante el modelo estadístico lineal:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \begin{cases} i = 1, 2, \dots, a \\ j = 1, 2, \dots, b \\ k = 1, 2, \dots, n \end{cases} \quad \text{Ec. (1)}$$

En donde  $\mu$  es el efecto medio general,  $\tau_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor renglón A,  $\beta_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo nivel del factor columna B,  $(\tau\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción entre  $\tau_i$  y  $\beta_j$  y  $\varepsilon_{ijk}$  es el componente del error aleatorio. Inicialmente se supone que ambos factores son fijos y que los efectos de tratamiento se definen como desviaciones de la media general, por lo tanto  $\sum_{i=1}^a \tau_i = 0$  y  $\sum_{j=1}^b \beta_j = 0$ . Se supone que los efectos de interacción son fijos y que se definen de manera que  $\sum_{i=1}^a (\tau\beta)_{ij} = 0$ . Hay un total de  $abn$  observaciones porque se realizan  $n$  réplicas.

En un diseño factorial de dos factores, tanto los factores(o tratamientos) de renglón como de columna tienen la misma importancia. Específicamente el interés consiste en probar hipótesis acerca de la igualdad de los efectos de tratamiento de renglón, es decir,

$$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$$

$$H_1 : \text{al menos una } \tau_i \neq 0$$

Y de igualdad de los efectos de tratamiento de columna

$$H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_b = 0$$

$$H_1 : \text{al menos una } \beta_i \neq 0$$

También es interesante determinar si los tratamientos de renglón y columna interaccionan. En otras palabras, resulta conveniente probar

$$H_0 : (\tau\beta)_{ij} = 0$$

$$H_1 : \text{al menos una } (\tau\beta)_{ij} \neq 0$$

A continuación, se muestra cómo pueden probarse estas hipótesis usando un análisis de variancia bifactorial o bidireccional (de dos factores o en dos sentidos).

### **Análisis Estadístico del Modelo de Efectos fijos**

Sea  $y_{i..}$  el total de las observaciones bajo el  $i$ -ésimo nivel del factor A,  $y_{.j.}$  el total de las observaciones bajo el  $j$ -ésimo nivel del factor B,  $y_{ij.}$  el total de las observaciones de la  $ij$ -ésima celda, e  $y_{...}$  el total general de todas las observaciones. Se definen  $\overline{y_{i..}}$ ,  $\overline{y_{.j.}}$ ,  $\overline{y_{ij.}}$  y  $\overline{y_{...}}$  como los promedios de renglón, columna, celda y general, respectivamente. Matemáticamente

$$y_{i..} = \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk} \qquad \overline{y_{i..}} = \frac{y_{i..}}{bn} \qquad i = 1, 2, \dots, a$$

$$y_{.j.} = \sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^n y_{ijk} \qquad \overline{y_{.j.}} = \frac{y_{.j.}}{an} \qquad j = 1, 2, \dots, b \qquad \text{Ec. (2)}$$

$$y_{ij.} = \sum_{k=1}^n y_{ijk} \qquad \overline{y_{ij.}} = \frac{y_{ij.}}{n} \qquad i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$



$$y_{...} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk} \quad \bar{y}_{...} = \frac{y_{...}}{abn}$$

La suma total de cuadrados corregida puede expresarse mediante

$$\begin{aligned} & \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y}_{...})^2 = \\ & \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n [ (\bar{y}_{i..} - \bar{y}_{...}) + (\bar{y}_{.j.} - \bar{y}_{...}) + (\bar{y}_{ij.} - \bar{y}_{i..} - \bar{y}_{.j.} + \bar{y}_{...}) + (y_{ijk} - \bar{y}_{ij.}) ]^2 \\ & = bn \sum_{i=1}^a (\bar{y}_{i..} - \bar{y}_{...})^2 + an \sum_{j=1}^b (\bar{y}_{.j.} - \bar{y}_{...})^2 \quad \text{Ec. (3)} \\ & + n \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{y}_{ij.} - \bar{y}_{i..} - \bar{y}_{.j.} + \bar{y}_{...})^2 \\ & + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y}_{ij.})^2 \end{aligned}$$

porque los seis productos cruzados del segundo miembro de la ecuación son igual a cero. Se observa que la suma total de cuadrados se ha descompuesto en una suma de cuadrados debida a los renglones o al factor A ( $SS_A$ ), en una suma de cuadrados debida a las columnas o al factor B ( $SS_B$ ), en una suma de cuadrados debida a la interacción entre A y B ( $SS_{AB}$ ), y en una suma de cuadrados debida al error ( $SS_E$ ). Analizando el último término del miembro derecho de la ecuación 3 es posible observar que es necesario tener al menos dos réplicas ( $n \geq 2$ ) para poder obtener la suma de cuadrados del error.

Simbólicamente la ecuación 3 puede expresarse mediante:

$$SS_T = SS_A + SS_B + SS_{AB} + SS_E \quad \text{Ec. (4)}$$

Los grados de libertad asociados a cada suma de cuadrados son

<b>Efecto</b>	<b>Grados de libertad</b>
A	$a-1$
B	$b-1$
Interacción AB	$(a-1)(b-1)$
Error	$ab(n-1)$
<b>Total</b>	$abn-1$

Esta descomposición del total de  $abn-1$  grados de libertad para las sumas de cuadrados se puede justificar como sigue: Los efectos principales de A y B tienen  $a$  y  $b$  niveles, respectivamente, por lo tanto, tienen  $a-1$  y  $b-1$  grados de libertad como se muestra. Los grados de libertad de la interacción simplemente corresponden a los grados de libertad de cada celda (los cuales son iguales a  $ab-1$ ) menos los grados de libertad de los dos efectos principales A y B; en otras palabras,  $ab-1-(a-1)-(b-1) = (a-1)(b-1)$ . Dentro de cada una de las  $ab$  celdas hay  $n-1$  grados de libertad entre las  $n$  réplicas, por lo tanto, hay  $ab(n-1)$  grados de libertad del error. Se observa que la suma de los grados de libertad de los términos del miembro derecho de la ecuación 4 es igual al total de los grados de libertad.

Cada suma de cuadrados dividida entre sus grados de libertad produce una media de cuadrados. Los valores esperados de las medias de cuadrados son

$$E(MS_A) = E\left(\frac{SS_A}{a-1}\right) = \sigma^2 + \frac{bn \sum_{i=1}^a \tau_i^2}{a-1}$$

$$E(MS_B) = E\left(\frac{SS_B}{b-1}\right) = \sigma^2 + \frac{an \sum_{j=1}^b \beta_j^2}{b-1}$$

$$E(MS_{AB}) = E\left(\frac{SS_{AB}}{(a-1)(b-1)}\right) = \sigma^2 + \frac{n \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\tau\beta)_{ij}^2}{(a-1)(b-1)}$$

$$E(MS_E) = E\left(\frac{SS_E}{ab(n-1)}\right) = \sigma^2$$

Hay que notar, que si las hipótesis nulas, las cuales consisten en proponer que no hay efectos de tratamiento de renglón, columna e interacción, son verdaderas, entonces  $MS_A$ ,  $MS_B$ ,  $MS_{AB}$  y  $MS_E$  son estimadores de  $\sigma^2$ . Sin embargo, si por ejemplo existen diferencias entre los tratamientos de renglón, entonces  $MS_A$  será mayor que  $MS_E$ . En forma similar, si hay efectos de tratamiento de columna o interacción, las medias de cuadrados correspondientes serán mayores que  $MS_E$ . Por lo tanto, para probar el significado de ambos efectos principales, así como de su interacción, simplemente deben dividirse las medias de cuadrados correspondientes entre la media de cuadrados del error. Valores grandes de estas razones implican que los datos no concuerdan con las hipótesis nulas.

Si se considera que el modelo (ecuación 1) es adecuado y que los términos del error  $\varepsilon_{ijk}$  son independientes con distribuciones normales con variancia constante  $\sigma^2$ , entonces las razones de las medias de cuadrados  $MS_A/MS_E$ ,  $MS_B/MS_E$ , y  $MS_{AB}/MS_E$  tienen distribución F con  $a-1$ ,  $b-1$  y  $(a-1)(b-1)$  grados de libertad en el numerador, respectivamente, y  $ab(n-1)$  grados de libertad en el denominador. Las regiones críticas corresponden al extremo superior de la distribución F. Usualmente la prueba se presenta en una tabla de análisis de variancia como la que aparece en la Tabla E-2.

Es posible obtener las fórmulas para calcular las sumas de cuadrados de la ecuación 3. La suma total de cuadrados se calcula en forma usual mediante:

$$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - \frac{y^2}{abn} \quad \text{Ec. (5)}$$

La suma de cuadrados para los efectos principales son

$$SS_A = \sum_{i=1}^a \frac{y_{i..}^2}{bn} - \frac{y^2}{abn} \quad \text{Ec. (6)}$$

$$SS_B = \sum_{j=1}^b \frac{y_{.j.}^2}{an} - \frac{y^2}{abn} \quad \text{Ec. (7)}$$

Es conveniente obtener  $SS_{AB}$  en dos etapas. Primero se calcula la suma de cuadrados entre los totales de la ab celdas, conocidas como la suma de cuadrados debido a los subtotales.

$$SS_{subtotales} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{y_{ij.}^2}{n} - \frac{y^2}{abn}$$

**Tabla 2.** Tabla de análisis de variancia para el modelo bifactorial de efectos fijos

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Media de cuadrados</b>	<b>F<sub>0</sub></b>
Tratamiento A	$SS_A$	$a - 1$	$MS_A = \frac{SS_A}{a - 1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
Tratamiento B	$SS_B$	$b - 1$	$MS_B = \frac{SS_B}{b - 1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
Interacción	$SS_{AB}$	$(a - 1)(b - 1)$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a - 1)(b - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
Error	$SS_E$	$ab(n - 1)$	$MS_E = \frac{SS_E}{ab(n - 1)}$	
Total	$SS_T$	$abn - 1$		

Esta suma de cuadrados contiene a la  $SS_A$  y  $SS_B$ . Por lo tanto, la segunda etapa consiste en calcular  $SS_{AB}$  mediante:

$$SS_{AB} = SS_{subtotales} - SS_A - SS_B \quad \text{Ec. (8)}$$

La  $SS_E$  se calcula por diferencia:

$$SS_E = SS_T - SS_{AB} - SS_A - SS_B \quad \text{Ec. (9)}$$

O bien,  $SS_E = SS_T - SS_{subtotales}$

## **Anexo 6.2 Prueba hedónica a fresas**

Las pruebas hedónicas tienen como propósito el obtener apreciaciones subjetivas de los participantes ante el producto evaluado, este tipo de prueba pretende conocer cuánto le gusta o disgusta un alimento a sus consumidores reales o potenciales.

El panel debe estar constituido de personas no entrenadas a las cuales se presentan 3 muestras de fresas, las muestras tendrán un código asignado para su identificación y de la misma manera se hará por cada lote de muestras correspondiente a los días de interés que desean evaluarse (día uno, cinco y doce).

Los códigos asignados se presentan a continuación:

<b>CODIGO</b>	<b>MUESTRA</b>
796	TESTIGO / FRESA SIN RECUBRIMIENTO
181	QUITOSANO 2% + ACEITE DE OLIVA 0.6%
547	QUITOSANO 2% + GLICERINA 0.6%

### PRUEBA HEDONICA DE FRESAS

**OBJETIVO:** Determinar el grado de aceptación que tiene el público ante el producto.

**INDICACIONES:** Observe y deguste las muestras de FRESA que se le presentan y de una puntuación, MARCANDO CON UNA X EN LA CASILLA, según sea su opinión y de acuerdo a la siguiente escala:

ME DESAGRADA MUCHO      **1**                      ME ES INDIFERENTE      **3**  
ME DESAGRADA                      **2**                      ME AGRADA                      **4**  
ME AGRADA MUCHO      **5**

**Nota:** Beba una pequeña cantidad de agua entre cada degustación.

ATRIBUTO	CODIGO DE MUESTRA	PUNTUACION				
		1	2	3	4	5
TEXTURA	796					
	181					
	547					
COLOR	796					
	181					
	547					
AROMA	796					
	181					
	547					
SABOR	796					
	181					
	547					
ACEPTACION	796					
	181					
	547					

## Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día uno)



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Teléfono No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
redillos@navegante.com.sv

### INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas frescas Código AL-179

Muestreador: José Luis Vásquez


Solicitante: Mirna Beatriz Vidal Fecha de emisión: 13-08-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas contenidas en una caja plástica transparente (blanco comparativo)

Recepción: 09-08-2010

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	23600 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	100 UFC / mL	

  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIOLOGA



Fecha de análisis: 09-08-2010



## Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día cinco)



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
cedillos@navegante.com.sv

### INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas Código AL-175

Muestreador: Mirna Beatriz Vidal

Solicitante: José Luis Vásquez Fecha de emisión: 27-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas contenidas en una caja plástica transparente (blanco comparativo)

Recepción:

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	20,000 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	160,000 UFC / mL	



  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIÓLOGA

Fecha de análisis: 19-07-2010



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
cedillos@navegante.com.sv

**INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas Código AL-173

Muestreador: Mirna Beatriz Vidal

Solicitante: José Luis Vásquez Fecha de emisión: \_\_\_\_\_

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas recubiertas con película elaborada a base de Quitosano 2%, Ácido Acético 1% y Aceite de oliva 0.6%, de color café oscuro, contenidos en una caja plástica transparente.

Recepción:

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	10 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	4000 UFC / mL	

  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIÓLOGA



Fecha de análisis: 19-07-2010



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
reedillos@navegante.com.sv

**INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas Código AL-174

Muestrador: Mirna Beatriz Vidal

Solicitante: José Luis Vásquez Fecha de emisión: 27-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas recubiertas con película elaborada a base de Quitosano 2%, Ácido Acético 1% y Glicerina al 0.6%, de color café oscuro, contenidos en una caja plástica transparente.

Recepción:

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	10 UFC / mL	
Determinación de Hongos y Levaduras	4000 UFC / mL	



  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIOLOGA

Fecha de análisis: 19-07-2010

## Anexo 6.3 Resultados análisis microbiológico a fresas (Día doce)



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD  
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO

**CENSAUD**

162 Años  
Al servicio de la  
Educación Superior salvadoreña

Ciudad Universitaria  
Final 25 Avenida Norte  
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 225-8826 y 225-8434  
Correo: CEN\_SALUD\_UES@hotmail.com  
roedillos@navegante.com.sv

### INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas (Segundo análisis) Código AL-178

Muestreador: José Luis Vásquez

Solicitante: Mirna Beatriz Vidal Fecha de emisión: 30-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas contenidas en una caja plástica transparente (blanco comparativo)

Recepción: 25-07-2010

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	4250 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	650000 UFC / mL	



  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIÓLOGA

Fecha de análisis: 25-07-2010



**INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas (Segundo análisis) Código AL-177

Muestreador: José Luis Vásquez

Solicitante: Mirna Beatriz Vidal Fecha de emisión: 30-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)


Fresas recubiertas con película elaborada a base de Quitosano 2%, Ácido Acético 1% y Aceite de oliva al 0.6%, de color café oscuro, contenidos en una caja plástica transparente.

Descripción: \_\_\_\_\_

Recepción: 25-07-2010

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	2500 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	650000 UFC / mL	



  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIOLOGA

Fecha de análisis: 25-07-2010



### INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre de la Muestra: Análisis microbiológico de fresas (Segundo análisis) Código AL-176

Muestreador: José Luis Vásquez

Solicitante: Mirna Beatriz Vidal Fecha de emisión: 30-07-2010

Método: Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Descripción: Fresas recubiertas con película elaborada a base de Quitosano 2%, Ácido Acético 1% y Glicerina al 0.6%, de color café oscuro, contenidos en una caja plástica transparente.

Recepción: 25-07-2010

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
Recuento Total de Bacterias Aeróbicas Mesófilas	93 UFC / mL	
Detección de Hongos y Levaduras	650000 UFC / mL	



  
Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos  
QUÍMICA – MICROBIÓLOGA

Fecha de análisis: 28-07-2010