UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

PELÍCULA A BASE DE QUITOSANO CON ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA *(Citrus sinensis)* PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL DE FILETES DE ALBACORA (*Thunnus albacora*)

TRABAJO EXPERIMENTAL

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de
INGENIERA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

AUTOR
NIETO ORELLANA LORENA ESTEFANÍA

TUTOR
PhD. MARTÍNEZ VALENZUELA GUSTAVO

MILAGRO – ECUADOR

2022

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, MARTÍNEZ VALENZUELA GUSTAVO, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: "PELÍCULA A BASE DE QUITOSANO CON ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA *(Citrus sinensis)* PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL DE FILETES DE ALBACORA *(Thunnus albacora)*", realizado por la estudiante NIETO ORELLANA LORENA ESTEFANIA; con cédula de identidad N° 0302116595 de la carrera INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, Unidad Académica Milagro, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Milagro, 12 de abril del 2022

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: "PELÍCULA A BASE DE QUITOSANO CON ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA *(Citrus sinensis)* PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL DE FILETES DE ALBACORA *(Thunnus albacora)*", realizado por la estudiante NIETO ORELLANA LORENA ESTEFANIA, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

_____

PhD. FREDDY GAVILÁNEZ LUNA .
PRESIDENTE

_____ _____

Ing. PABLO NÚÑEZ RODRÍGUEZ, MSc
EXAMINADOR PRINCIPAL

PHD. JOAQUÍN MORÁN BAJAÑA
EXAMINADOR PRINCIPAL

_____

PhD. GUSTAVO MARTÍNEZ VALENZUELA
EXAMINADOR SUPLENTE

Milagro, 12 de abril del 2022

Dedicatoria

Es gratificante escribir día a día las páginas de nuestras vidas. Merecido dedicar momentos de felicidad y amor a aquellos que hacen posible que cada día de lo mejor de mí.

A Dios, sobre todo; por ser mi guía espiritual y apoyo en todo momento; además por otorgarme el privilegio de crecer junto a mis padres quienes son mi pilar fundamental en esta vida.

A mis Padres Silvia Lorena Orellana y Cirilo Napoleón Nieto por todo el amor y esfuerzo que me han dedicado a lo largo de mi carrera estudiantil, por enseñarnos a no rendirnos; fomentarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para cumplir nuestros objetivos.

A mi hermano Napoleón por ser mi fortaleza, apoyo y motor para seguir adelante en cada propósito que me propongo.

A mis abuelitos Estrellita Parra y Jorge Orellana, a mis tíos, tías y primos por ser el regalo más preciado que me han podido regalar.

Gracias por demostrarme que todo es posible y por su apoyo incondicional.

Agradecimiento

A la Universidad Agraria del Ecuador, mi alma máter, por haberme brindado y formado con los mejores conocimientos teórico-prácticos, que perdurarán a lo largo de mi desarrollo como profesional.

A mi Tutor Dr. Gustavo Martínez, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a sus capacidades y experiencia en un marco de confianza fundamental para la elaboración de este proyecto.

A la MSc Nancy Orellana Parra, por su tiempo, consejos y asesoría a lo largo del proceso de titulación.

A toda mi familia por su apoyo a lo largo de mis estudios.

.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo LORENA ESTEFANIA NIETO ORELLANA, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre “PELÍCULA A BASE DE QUITOSANO CON ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA (Citrus sinensis) PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL DE FILETES DE ALBACORA (Thunnus albacora)” para optar el título de INGENIERO AGRÍCOLA CON MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Milagro, 12 de abril del 2022

NIETO ORELLANA LORENA ESTEFANIA
C.I. 0302116595

Índice general

PORTADA 1

APROBACIÓN DEL TUTOR 2

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN 3

Dedicatoria 4

Agradecimiento 5

Autorización de Autoría Intelectual 6

Índice general 7

Índice de tablas 10

Índice de figuras 11

Resumen 13

Abstract 14

1. Introducción 15

1.1 Antecedentes del problema 15

1.2 Planteamiento y formulación del problema 16

1.2.1 Planteamiento del problema 16

1.2.2 Formulación del problema 16

1.3 Justificación de la investigación 17

1.4 Delimitación de la investigación 18

1.5 Objetivo general 19

1.6 Objetivos específicos 19

2. Marco teórico 20

2.1 Estado del arte 20

2.2 Bases teóricas 22

2.2.1 Especie utilizada en el presente estudio 22

2.2.1.1. Albacora (Thunnus albacora) 22

2.2.1.2. Albacora en Ecuador 23

2.2.2 Parámetros de calidad de pescado 23

2.2.2.1 Composición nutricional de filetes de pescado 23

2.2.2.2 Requisitos microbiológicos 23

2.2.3 Películas y recubrimientos 25

2.2.3.1 Propiedades de recubrimientos comestibles 25

2.2.3.2 Parámetros de calidad para películas comestibles 26

2.2.3.3 Aplicaciones de los recubrimientos comestibles 26

2.2.4 Quitosano 26

2.2.4.1 Características del quitosano 26

2.2.4.2 Propiedades del quitosano 27

2.2.4.3 Principales aplicaciones del quitosano 28

2.2.5 Aceite esencial de naranja *(Citrus sinensis)* 29

2.2.5.1 Método de extracción de aceites esenciales 29

2.3. Marco legal 30

3. Materiales y métodos 32

3.1 Enfoque de la investigación 32

3.1.1 Tipo de investigación 32

3.1.2 Diseño de investigación 32

3.2.1 Variables 32

3.2.2 Tratamientos 33

3.2.3 Diseño experimental 33

3.2.4 Recolección de datos 34

3.2.5. Análisis estadístico 45

4. Resultados 46

4.1 Indicadores de calidad microbiológica: Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli.* 46

4.2 Indicadores de calidad físico-químicos: Parámetros físico-químicos del recubrimiento comestible con base en quitosano y aceite esencial de naranja. 48

4.2.1 pH 48

4.2.2 Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) 50

4.3 Tiempo de vida útil inicial de filetes de albacora durante 7, 15 y 21 días de refrigeración a una temperatura de 4ºC. 53

5. Discusión 55

6. Conclusiones 57

7. Recomendaciones 58

8. Bibliografía 59

9. Anexos 71

Índice de tablas

Tabla 1. Tratamientos evaluados 33

Tabla 2. Análisis de varianza para variables cuantitativas. 45

Tabla 3. Bacterias Anaerobias Sulfito-Reductoras. 46

Tabla 4. *Staphylococcus aerus.* 46

Tabla 5. Coliformes Fecales. 47

Tabla 6. *Escherichia Coli*. 47

Tabla 7. Evaluación del pH 48

Tabla 8. Evaluación de BNVT del Factor A (Quitosano) 51

Tabla 9. Evaluación de BNVT del Factor B (aceite esencial de Naranja) 51

Tabla 10. Valor nutricional de la Albacora 71

Tabla 11. Registro de Datos del pH. 72

Tabla 12. Registro de datos de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales. 73

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial de naranja 37

Figura 2. Proceso para obtención del recubrimiento comestible 39

Figura 3. Aplicación del recubrimiento en filetes de pescado albacora. 41

Figura 4. Representación gráfica del pH en Factor A (Quitosano). 49

Figura 5. Representación gráfica del pH en Factor B (Ac. Naranja). 49

Figura 6. Representación gráfica de BNVT en Factor A (Quitosano). 51

Figura 7. Representación gráfica de BNVT en Factor B (Ac. N). 52

Figura 8. Requisitos físico químico para pescados 71

Figura 9. Requisitos microbiológicos para pescados 72

Figura 10. ANOVA de pH 74

Figura 11. ANOVA de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales 75

Figura 12. Recepción del pescado Albacora 76

Figura 13. Eviscerado y descabezado de pescado Albacora 76

Figura 14. Fileteado del pescado 77

Figura 15. Recepción de filetes de Albacora en el laboratorio institucional 77

Figura 16. Esterilización de materiales 78

Figura 17. Pesado de quitosano 78

Figura 18. Medición de glicerina y agua destilada 79

Figura 19. Mezclado y homogenizado del recubrimiento 79

Figura 20. Recubrimientos 80

Figura 21. Sanitizado de los filetes con ácido cítrico 80

Figura 22. Aplicación de recubrimiento 81

Figura 23. Proceso de escurrido 81

Figura 24. Envasado de los filetes 82

Figura 25. Sellado hermético al vacío 82
Figura 26. Almacenado de Filetes de Albacora..... 83
Figura 27. Materiales para elaborar agua peptonada 83
Figura 28. Esterilización de la solución de Agua Peptonada 84
Figura 29. Solución de Agua Peptonada..... 84
Figura 30. Materiales para análisis microbiológicos..... 85
Figura 31. Preparación de muestras 85
Figura 32. Incubación de Muestras 86
Figura 33. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)..... 87
Figura 34. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)..... 88
Figura 35. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)..... 89
Figura 36. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)..... 90

Resumen

Los recubrimientos o películas comestibles son de interés agroindustrial por la capacidad protectora para propiedades físico-químicas, microbiológicas y bromatológicas en buen estado de alimentos en almacenamiento. Este trabajo se planteó como objetivo la evaluación de recubrimientos con base en quitosano con adición de aceite esencial de naranja para alargar la vida útil de filetes de albacora, donde se utilizó un conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para las características microbiológicas y un diseño estadístico completamente al azar con un arreglo factorial A (Concentración de quitosano) x B (Concentración de Aceite esencial de Naranja) aplicando tres repeticiones por tratamiento. Las variables dependientes fueron las características físico-químicas y microbiológicas. El análisis microbiológico reveló que durante los 21 días de almacenamiento se mantuvo una inhibición de crecimiento microbiano de las Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli* en <10 UFC/g. Durante el análisis físico-químico se identificó que la adición de quitosano y aceite esencial de naranja no tienen significancia estadística ($p < 0,05$) en los valores de pH; pero si afectó significativamente ($p < 0,05$) en los valores de las Bases Nitrogenadas Volátiles Totales. El Test de Duncan aplicado a cada factor demuestra que el Quitosano al 3% y el Aceite esencial de Naranja al 1% con 5,39 mgN_2/100g, aportaron las funciones antimicrobiana y antioxidante; cumpliendo con los requisitos establecidos en la NTE INEN 1896:2013, lo que permitió extender la vida útil del producto; convirtiéndose en una alternativa para mantener la calidad de los filetes de albacora.

Palabras clave**:** Aceites esenciales, *Escherichia coli*, quitosano, recubrimientos comestibles, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Edible coatings or films are of agro-industrial interest due to their protective capacity for physical-chemical, microbiological and bromatological properties in good condition of food in storage. This paperwork aimed to evaluate chitosan-based coatings with the addition of orange essential oil to extend the useful life of albacore fillets, where a count of Colony Forming Units (CFU) was used for the microbiological characteristics and a Completely randomized statistical design with a factorial arrangement A (Chitosan concentration) x B (Orange essential oil concentration) applying three repetitions per treatment. The dependent variables were the physical-chemical and microbiological characteristics. The microbiological analysis revealed that during the 21 days of storage, an inhibition of microbial growth of anaerobic sulfite-reducing bacteria, Staphylococcus aureus, fecal coliforms and Escherichia coli was maintained at <10 CFU/g. During the physical-chemical analysis, it was identified that the addition of chitosan and orange essential oil did not have statistical significance ($p < 0.05$) in the pH values; but it was significantly affected ($p < 0.05$) in the values of the Total Volatile Nitrogen Bases. The Duncan Test applied to each factor shows that Chitosan at 3% and Orange essential Oil at 1% with 5.39 mgN_2 /100g provided the antimicrobial and antioxidant functions. This process met the requirements established in the NTE INEN 1896:2013, which allowed to extend the useful life of the product; becoming an alternative to keep the albacore fillets' quality.

Keywords: Essential oils; edible coatings; chitosan; *Staphylococcus aureus; Escherichia coli.*

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

La actividad pesquera de Ecuador se desarrolla a nivel de pesca industrial y también artesanal. En los productos de exportación se identifican diversas presentaciones, tales como: pescado fresco, congelado o refrigerado; siendo el último considerado como producto de mayor incidencia en la variación mensual del Índice de Precios al Productor de Disponibilidad Nacional (IPP-DN) (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2019).

A Ecuador se lo identifica como un país que produce y consume pescado, además la mayor parte de su producción pecuaria, es destinada a la exportación; siendo el pescado en diversas presentaciones, el que lidera la actividad. Se tiene al pescado entero congelado, refrigerado o fresco; a filetes frescos, refrigerados o congelados; a sus derivados como la harina, elaborados y conservas; como los de mayor incidencia en el mercado internacional. (Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones citado por Caicedo, 2016)

Las industrias localizadas en territorio ecuatoriano llegan a procesar atún, 500.000 toneladas al año aproximadamente (Carrión, 2019), esto se debe a que el país cuenta con la segunda flota atunera del Pacífico Oriental más grande. Su producción es enviada al mercado extranjero, que representa un 80% del total de la exportación y el 20% restante se destina para el consumo interno.

Según Jiménez (2016), por medio de los datos registrados del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca del Ecuador (MAGAP) de la producción pesquera del país se posesiona a Manta como sector pesquero de mayor importancia, por la implementación de pesca industrial, y ser una referencia ligada al incremento socio económico del país.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

El pescado es uno de los alimentos más recomendados para el consumo humano y con una tendencia creciente por sus conocidas propiedades nutricionales del producto como su calidad y digestibilidad. Sin embargo, se encuentra dentro del grupo de los comestibles perecederos, y de todos los productos frescos, es uno de los más susceptibles al deterioro.

El pescado se descompone por medio de un proceso natural que inicia a partir de su muerte Caicedo (2016), dando como resultado la desintegración interna, ocasionada por enzimas, reacciones químicas y bacterias, consecuentemente cambian las características organolépticas como sabor, olor, color y textura.

El pescado que se expende en presentación de envasado, después de someterse a la manipulación, es susceptible a que la actividad microbiana limite la vida útil del mismo, es decir, se afecta la composición y la calidad del producto en función de la presencia de microorganismos contaminantes, lo que permite la evaluación y predicción de la vida comercial de la manufactura de esta naturaleza.

Otro factor importante que incide en la vida de anaquel es la oxidación lipídica, esto origina atributos sensoriales desagradables que se asocian a la rancidez, durante el procesado y almacenamiento del pescado graso. La rancidez reduce dramáticamente la vida útil, el período comercial del pescado graso y los productos enriquecidos en lípidos marinos.

1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de la implementación de películas biodegradables con base de quitosano y aceite esencial de naranja *(Citrus sinensis)* sobre la calidad sanitaria y la vida útil de filetes de albacora (*Thunnus albacora)*?

1.3 Justificación de la investigación

Dentro de las dietas alimenticias del ser humano es recomendable el consumo de pescado por su aporte de proteína y propiedades nutricionales favorables para el organismo, es por esto que su consumo en el Ecuador ha incrementado; además, la tecnología se ve inmersa en el sector agroindustrial con el fin de brindar productos inocuos para el consumo. Una de estas técnicas es la implementación de películas conocidas también como recubrimientos en los alimentos como método de conservación.

Los recubrimientos comestibles, se han implementado por su capacidad de mejorar la calidad de los alimentos durante su procesamiento y conservación. La investigación de Begoña (2015), afirma que las películas/recubrimientos comestibles son una barrera selectiva a los gases (O_2,CO_2, etileno), a los procesos oxidativos (pardeamiento enzimático), y al crecimiento microbiológico; así como también reducen la pérdida de agua y aumentan la resistencia mecánica.

El quitosano, entonces se caracteriza por tener la facilidad de modificación sin presentar dificultades, teniendo en cuenta que abarca propiedades que ayudan al control antimicrobiano, mediante la formación de películas que permiten alargar la vida útil y mantener la calidad del producto.

El aceite esencial de naranja es también de origen natural, se obtiene de los residuos de material vegetativo que genera la fruta, por lo tanto rescata sus características organolépticas; es importante destacar que dentro de sus propiedades esenciales sobresale la posibilidad de su consumo, porque no produce toxicidad e inhibe el crecimiento microbiano (Saquinga, 2018) además de ser antioxidante (Borja , 2018), lo que ayuda determinantemente a mantener la innocuidad del producto.

En cuanto a recubrimientos o películas biodegradables comestibles, Briones (2020) los cataloga como una alternativa prometedora para mejorar la calidad de los alimentos durante su procesado y conservación; indica además que gracias a su composición principal de polímeros naturales, se tornan biodegradables, lo que permite la práctica de tecnología amigable con el ambiente, cubrir la demanda potencial de alimentos naturales, saludables, y seguros; obtenidos con un mínimo nivel de procesado.

Por tanto, es crucial ofrecer alternativas innovadoras en la industria alimentaria, especialmente aquellas que fortalecerán el mercado de un producto específico. El recubrimiento con películas naturales, se convierte en una opción saludable con múltiples beneficios para la industrialización.

Esta investigación apunta a ese tipo de práctica, pues se basa en el uso de quitosano y aceite esencial de naranja como recubrimiento de protección para pescado, factor que ofrece ventajas en la vida útil del producto final y permite nuevas oportunidades para negocios en el mercado industrial.

Además pretende ofertar un producto de calidad en cuanto a variables organolépticas: olor, color, sabor y textura durante el periodo de almacenamiento de filetes de albacora.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** La fase experimental del trabajo se llevó a cabo en los Laboratorios de Biotecnología de la Ciudad Universitaria doctor Jacobo Bucaram Ortiz - Universidad Agraria del Ecuador.
- **Tiempo:** La investigación se llevó a cabo en un período de 8 meses
- **Población:** El tema está orientado a productores agroindustriales, y la población en general (a excepción de lactantes).

1.5 Objetivo general

Evaluar películas con base en quitosano con adición de aceite esencial de naranja *(Citrus sinensis)* para alargar la vida útil de filetes de albacora (*Thunnus albacora*).

1.6 Objetivos específicos

- Identificar bacterias anaerobias sultifo-reductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli* como indicadores de calidad para filetes de albacora (*Thunnus albacora*).
- Analizar los parámetros físico-químicos (pH y contenido de bases nitrogenadas volátiles totales) de la película comestible con base en quitosano y aceite esencial de naranja *(Citrus sinensis)*, como indicadores de calidad para filetes de albacora (*Thunnus albacora*).
- Determinar el tiempo de vida útil inicial de filetes de albacora (*Thunnus albacora*) durante 7, 15 y 21 días de refrigeración a una temperatura de 4ºC.

1.7 Hipótesis

La hipótesis de trabajo considerada para esta investigación fue:

La aplicación de aceites esenciales de naranja a una película de quitosano alargará la vida útil de los filetes de pescado Albacora y mantendrá sus características físico-químicas y microbiológicas en buen estado durante un determinado tiempo.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

La evaluación de recubrimientos comestibles (quitosano, meticelulosa y almidón) aplicados a filetes de Lisa (*Mugíl cephalus)* congelada (Chicata, 2015), determinó que el recubrimiento quitosano, es el tratamiento ganador, ya que genera menos exudación en los filetes congelados; también menciona que la aplicación de recubrimiento comestibles se debe aplicar dos veces a los filetes de pescado después de la congelación, ya que presenta mejoras en las características físicas en comparación de su aplicación antes de la congelación.

García (2014), expone importantes resultados en su investigación sobre la aplicación de películas y coberturas de quitosano en la conservación de pescado, como: mejoramiento en la calidad, retardo en oxidación y tiempo de deterioro, y prolongación en su vida útil. Además, argumenta que el quitosano actúa como cobertura protectora, de tal manera que preserva los atributos comerciales y alimenticios del producto final.

La investigación de la combinación del extracto etanólico a partir de la planta del tomate y el recubrimiento comestible con base en quitosano de Montaño (2016), aporta información relevante respecto a la duración de un producto, específicamente se enfoca en el incremento de 10 días aproximadamente de vida en anaquel en filetes de Sierra *(Scomberomorus sierra)*. Fundamenta además que al no presentar cambios en la textura y capacidad de retención de agua entre los tratamientos, se observó incremento en el Log UFC/g; el cual sobrepasa el límite establecido por la NOM-027-SSA1-1993.

El uso de recubrimientos se desarrolla con la finalidad de imitar capas naturales protectoras, la elaboración de un recubrimiento comestible para filetes de Tilapia

Roja (*Oreochromis sp*.) (Mero, 2018), a partir de materiales y productos biodegradables otorgan propiedades de barrera, funcionalidad y estética en el producto; adicional el uso de aceite esencial de romero por sus propiedades antimicrobiana y antioxidante, demostrando no haber alteraciones en su apariencia organoléptica e inhibición en los Mesófilos aerobios y Coliformes fecales, a diferencia de los filetes de tilapia sin recubrimiento.

Martinez (2016), demuestra que la combinación de antioxidantes y antimicrobianos naturales y películas comestibles; el quitosano como película protectora y ácido cítrico o extracto de regaliz como antioxidantes y antimicrobianos en la conservación de filetes de lubina japonesa almacenada a 4ºC durante 12 días, demostraron que puede mejorar la función de la preservación retardando la oxidación de los lípidos y la inhibición del crecimiento microbiano. El ácido cítrico o el extracto de regaliz en combinación con quitosano como conservantes naturales son una buena alternativa para la industria pesquera para mejorar la calidad de pescado en presentación de filetes.

Albertos (2013), especifica que los films que tienen quitosano en su composición presentan inhibición en las zonas aplicadas, presentando 7 log UFC/ml como resultado de las determinaciones de la actividad antimicrobiana. Por otro lado, los resultados obtenidos de los aspectos microbiológicos mediante la presencia de quitosano.

Cánovas (2021), menciona que la incorporación de los aceites esenciales en alta concentración dentro de las formulaciones fueron útiles para retardar el crecimiento microbiano y el pardeamiento, sin embargo afectó los aspectos sensoriales propios del producto. La utilización de recubrimientos a base de quitosano sin aceite

esencial o con aceite esencial dan lugar a mejores valores de firmeza respecto a las muestras control en las que no se utilizó recubrimiento alguno

Según Mittani (2016), determina que el pH en valores ácidos que varían de 6.41 a 6.45 en los cero días de almacenameinto y 6.49 a 6.65 al finalizar los 21 días de almacenamiento, evita que se produzcan compuestos volátiles como son las cetonas, ésteres, aldehídos y sulfuros no azufrados que producen los microoganismos durante su propagación.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Especie utilizada en el presente estudio

2.2.1.1. Albacora (Thunnus albacora)

El atún de aleta amarilla, llamado habitualmente como albacora (Torres , 2018), es una especie altamente migratoria de la familia *Scombridae*; especie epipelágica, que habita en la zona oceánica, relativamente en zonas superficiales (0 - 100 m).

El atún de aleta amarilla tiende a hacer cardúmenes con peces de similar tamaño, incluyendo otras especies de atún o ejemplares de tamaño mayor; comúnmente son vistos con delfines, ballenas y tiburones ballena. Son una especie de consumo frecuente (Acuña, 2018) tanto por sus características bromatológicas, contenido de vitaminas, proteínas y minerales para el consumo humano; como también por su calidad de carne.

El albacora es considerado un atún blanco con forma aerodinámica, con rayas de color iris, con un todo azulado oscuro en su lomo, barriga plateada y de carne blanca; se suele encontrar en aguas tropicales del Océano Atlántico, Pacífico y Mar Mediterráneo (Arteaga, 2016).

2.2.1.2. Albacora en Ecuador

El inicio de la pesca del atún de aleta amarilla en Ecuador tiene su inicio en 1952 presentando su industrialización en el puerto de Manta, producción pesquera de *Thunnus albacora* es 230000 toneladas métricas aproximadamente en la actualidad (Cordova, 2017), en diferentes mercados y puertos que existen a lo largo del perfil costanero del pacífico, además el empaquetado al vacío del filete de albacora mediante procesos de congelación.

El atún blanco, también conocido como Bonito del Norte, pertenece a la familia del atún, gran parte de sus características comparten alto contenido en proteínas y ácidos grasos, además es bueno para la salud cardiovascular (Toaza, 2017).

La industria pesquera ha presentado un desarrollo de producción y exportación en sus últimas décadas (Sornoza, 2017) tanto presentaciones comerciales se sustentan de fresco, congelado y conservas que garantizan la conservación, comercialización y distribución nacional e internacional.

2.2.2 Parámetros de calidad de pescado

2.2.2.1 Composición nutricional de filetes de pescado

El pescado es fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados esenciales, la variación normal de los componentes del filete de pescado es: agua (66-81%), proteína (16-21%), lípidos (0,2-21%), carbohidratos (<0,05%) y cenizas (1,2 – 1,5%) (Martínez, 2020).

2.2.2.2 Requisitos microbiológicos

El análisis de los aspectos microbiológicos permite identificar el grado de contaminación que contiene una muestra, por lo que se convierte en una variable cualitativa con indicadores de inocuidad y calidad sanitaria de un alimento.

2.2.2.2.1 Bacterias anaerobias sulfito-reductoras

Todo anaerobio sulfito-reductor pertenece al grupo bacteriano del género *Clostridium*, son organismos Gram positivo, formadores de esporas que producen la reducción del ion sulfito en sulfuro en presencia de citrato férrico, por lo que, a raíz de su reacción se identifican colonias negras, las que alteran la frescura de un producto. Estas se desarrollan en un ambiente de temperatura óptima de 37ºC con un rango de pH de 7 a 7.4, por lo que, con el tratamiento idóneo pueden ser fácilmente inactivadas (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica [ANMAT], 2014, p. 131).

2.2.2.2.2 Staphylococcus aureus

Parra (2017), menciona la taxonomía de *Staphylococcus aureus*, Clase: Bacilli; Familia: *Staphylococcaceae*; Género:*Staphylococcus*; Especie: *S. aureus* . Es una bacteria patógena que infecta y causa intoxicaciones alimenticias por la ingestión de la enterotoxina B termoestable preformada. Crece en medios de cultivos habituales en condiciones de temperatura de 30ºC a 37ºC, con pH de 7 como máximo, por lo tanto, son resistentes a la desecación y también a algunos desinfectantes.

2.2.2.2.3 Coliformes fecales

Según López (2020), los coliformes fecales tienen origen fecal que pueden llegar a resistir temperaturas de 44.5ºC a 45.5ºC., se encuentran en el suelo, plantas y animales; y es considerado como indicador de calidad.

Los coliformes fecales se encuentran dentro del grupo de los coliformes totales, con la diferencia de que éstos son indol positivo, dentro de ellos se identifica *E. coli* (Salinas, 2019), por lo tanto en la flora intestinal de animales homeotérmicos se facilita la capacidad reproductiva de los mismos.

2.2.2.2.4 Escherichia coli

La taxonomía de la bacteria *E. coli* (Espinel, 2020), indica que pertenece al género *Escherichia,* tribu *Escherichieae* y pertenece a *Enterobacteriaceae.* La temperatura óptima de multiplicación es de 37ºC (Acuña, 2018), pero también se pueden desarrollar en un rango de temperatura que oscila entre 6ºC a 50ºC, se consideran como bacterias resistentes al comprobarse su crecimiento en presencia de Cloruro de Sodio (NaCl) al 6%.

Escherichia coli, se considera una bacteria (Amador, 2013), puede desarrollarse en diversos ambientes aerobios y anaerobios, siendo estos el suelo, el agua y los organismos vivos. *E. coli* está clasificada como un anaerobio facultativo; y se debe tomar en cuenta que puede llegar a causar enfermedades en el ser humano.

2.2.3 Películas y recubrimientos

2.2.3.1 Propiedades de recubrimientos comestibles

La biodegradabilidad es la capacidad de descomposición de un material en contacto con dióxido de carbono, metano, agua y componentes orgánicos o biomasa, cuyo mecanismo predominante es la acción enzimática de microorganismos que se miden por ensayos estandarizados, probados en períodos y condiciones de almacenamiento específicos (Solano, 2018).

Según Moncada (2020), dentro de las propiedades físicas de un recubrimiento comestible se encuentran la transparencia y la luz que son consideradas como propiedades ópticas indispensables en el efecto de valoración del color y aspecto del producto, la solubilidad que ayudará a la conservación al momento de presentar resistencia al agua, y el espesor del recubrimiento como elemento fundamental por su resistencia a la transferencia de masa.

2.2.3.2 Parámetros de calidad para películas comestibles

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es un factor importante que caracteriza a las películas comestibles (García, 2018), de esto depende la conservación de las propiedades de los alimentos, su finalidad es impedir o reducir al mínimo la transferencia de humedad entre la atmósfera circundante y el alimento. Es por ello que, en proceso de permeabilidad se encierra la afinidad entre el agua, el material de película (adsorción / desorción) y la resistencia del movimiento del agua en la matriz polimérica tridimensional, expresada como difusividad efectiva y la humedad relativa del ambiente (Bilbao citado por Delgado, 2018).

Dentro de la propiedades mecánicas se evalúan: la resistencia a la tensión, que es la fuerza requerida para romper la película por estiramiento; la elongación que implica el grado al cual la película puede estirarse antes de romperse; y el módulo de Young que mide la rigidez y la compresibilidad de un material estructural (Porta citado por Escamilla, 2018).

2.2.3.3 Aplicaciones de los recubrimientos comestibles

Dentro de las aplicaciones en la industria alimenticia, los recubrimientos y películas son amplios por su efecto conservante en comestibles, tales como: queso fresco (Escudero, 2019), y mora de castilla (Villegas, 2016), así como también en procesos de postcosecha (González, 2017).

2.2.4 Quitosano

2.2.4.1 Características del quitosano

El quitosano es considerado como un polisacárido lineal obtenido mediante un proceso de deacetilación de la quitina, se caracteriza por ser de acceso de fuentes naturales tales como arácnidos, insectos, crustáceos, moluscos, algas, esporas, levaduras y hongos multicelulares (Piedrahita, 2017).

Éste es un copolímero lineal, el cual “contiene unidades de β-(1–4)-2-acetamido-D-glucosa y β-(1–4)-2-amino-D-glucosa. Se pueden producir diferentes variedades de este biopolímero cambiando los grados de acetilación y alterando los pesos moleculares” (Elsabee citado por Piedrahita, 2017). Debido a su composición Márquez (2017), refiere que es capaz de sufrir diversas reacciones, tales como: esterificación, entrecruzamiento, eterificación, alquilación, copolimerización, entre otras; lo cual aumenta su versatilidad.

Mediante una revisión referente a los polímeros de quita y quitosano, Zargar (2015) manifiesta que el quitosano es idóneo para formar un gran número de puentes de hidrógeno, debido a que sus grupos funcionales hidróxilo y amino pueden formar enlaces con agua y otros compuestos polares, además su cadena polimérica es lineal y actúa como una base débil. Es biodegradable, no tóxico, actúa como un poli electrólito y a su vez es capaz de formar polisales con ácidos tanto orgánicos como inorgánicos; es por ello que el quitosano es un biopolímero catiónico el cual tiene una alta densidad de carga, tanto así que lo convierten en un agente floculante bastante efectivo en su aplicación.

El quitosano es un potente elemento para ser partícipe de formulaciones en cuanto a fabricación de películas plásticas. “Es insoluble en agua a pH neutro, pero en condiciones ligeramente ácidas (pH<5), soluble debido a la protonación de los grupos amino. Este polímero interactúa con las membranas celulares, así mismo aumenta la permeabilidad paracelular de los foros de células” (Martel, 2018), además se caracteriza por su relación positiva con productos para la salud.

2.2.4.2 Propiedades del quitosano

La actividad antimicrobiana está dentro de la propiedades del quitosano, la misma que se ve influenciada por diversos factores como el grado de

desacetilación, peso molecular, tipo de quitosano, y condiciones del medio de aplicación (fuerza iónica, pH, presencia de solutos susceptibles a la reacciones con las interacciones electrostáticas o covalentes, entre otros). La propiedad antimicrobiana aumenta conforme se incrementa el grado de desacetilación y el peso molecular (Aider citado por Montaño, 2016).

El quitosano dentro de su propiedad biológica presenta bioactividad como adhesión, actividad hemostática, estimulación de la cicatrización, actividad inmune, actividad antimicrobiana, bacteriostática y fungistática (Zevallos, 2017).

Una de las propiedades fisicoquímicas del quitosano es ser derivado del N-desacetilado de la quitina. Giraldo (2013), revela que es una amina primaria, y su monómero principal es el 2-amino-2-desoxi-β- D-Glucopiranosa, además el contenido de nitrógeno del quitosano en su estado puro es de un 6,89% aproximadamente. El grupo amino libre en la estructura del quitosano le proporciona un comportamiento básico lo que también le confiere ciertas características fisicoquímicas de gran interés industrial.

2.2.4.3 Principales aplicaciones del quitosano

El quitosano, al presentar grandes variedades de modificación, tiene aptitud para ser aplicado en distintos campos científicos, de los que se cita: Química Analítica (Castellanos , 2018), Biomedicina (Galván , 2017), Cosmetología (Estrella, 2019), en industria para tratamientos de agua (Fuentes, 2008), en agricultura aplicado para el mejoramiento de cultivos (Molina , 2017), conservación de frutos (Kessel , 2018) y ganadería como aditivo de formulaciones (Lárez, 2003). El uso de este polímero es cada vez más extenso, lo que es demostrado por incontables investigaciones relacionadas a él.

2.2.5 Aceite esencial de naranja *(Citrus sinensis)*

Los aceites esenciales son productos obtenidos principalmente de material vegetal y, además de sus propiedades terapéuticas y curativas, se utilizan como materia prima en la fabricación de productos alimenticios, implementos de belleza y productos de mayor valor agregado (Hurtado y Villa , 2016).

El aceite esencial obtenido de la cáscara de la naranja es considerado un ingrediente básico dentro de las industrias de la perfumería, la farmacéutica y de alimentos, por su característica como disolvente, costo accesible y no produce toxicidad al consumirlo (Ramirez, 2017).

Dentro de las principales características de los aceites esenciales se pueden encontrar: volatilidad alta, olor agradable y típico, inflamabilidad, densidad baja, naturales química diversa, toxicidad nula, peso molecular bajo y obtención de diferentes partes de la planta o fruto (Arias, 2019); además de inhibir el crecimiento microbiano y ser un gran antioxidante (Bautista, 2016).

2.2.5.1 Método de extracción de aceites esenciales

2.2.5.1.1. Método de arrastre por vapor

La extracción de aceite por arrastre de vapor se considera como una técnica útil, para separar sustancias volátiles e insolubles en el agua, que se pueden encontrar en la corteza de las materias primas (Obregón, 2018). La aplicación de corriente de vapor da como resultado una purificación de sustancias a temperaturas de ebullición mediante la destilación a temperaturas bajas.

La obtención de aceites esenciales se efectúa mediante la destilación con una efusión de vapor de aire que atraviesa la materia prima, se almacena y separa el aceite tras la técnica de arrastre, para posteriormente pasar a una etapa de enfriamiento y condensación (Casado, 2018).

2.3. Marco legal

ECUADOR PLAN NACIONAL TODA UNA VIDA 2017 – 2021

Objetivo 5: Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria.

5.2 Promover la productividad, competitividad y calidad de los productos nacionales, como también la disponibilidad de servicios conexos y otros insumos, para generar valor agregado y procesos de industrialización en los sectores productivos con enfoque a satisfacer la demanda nacional y de exportación.

5.3 Fomentar el desarrollo industrial nacional mejorando los encadenamientos productivos con participación de todos los actores de la economía.

5.4 Incrementar la productividad y generación de valor agregado creando incentivos diferenciados al sector productivo, para satisfacer la demanda interna, y diversificar la oferta exportable de manera estratégica.

5.6 Promover la investigación, la formación, la capacitación, el desarrollo y la transferencia tecnológica, la innovación y el emprendimiento, la protección de la propiedad intelectual, para impulsar el cambio de la matriz productiva mediante la vinculación entre el sector público, productivo y las universidades.

Objetivo 6: Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural.

6.1 Fomentar el trabajo y el empleo digno con énfasis en zonas rurales, potenciando las capacidades productivas, combatiendo la precarización y fortaleciendo el apoyo focalizado del Estado e impulsando el emprendimiento.

6.3 Impulsar la producción de alimentos suficientes y saludables, así como la existencia y acceso a mercados y sistemas productivos alternativos, que permitan satisfacer la demanda nacional con respeto a las formas de producción local y con pertinencia cultural (Plan Nacional de Desarrollo , 2017, p. 80-84).

NTE INEN 1896:2013 PESCADOS FRESCOS REFRIGERADOS O CONGELADOS DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA.

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el pescado fresco, refrigerado o congelado de producción acuícola que se presenta para el consumo humano.

3. DEFINICIONES

3.1.1 *Pescado fresco refrigerado*. Pescado apto para el consumo humano, con o sin la cabeza, al que puede habérsele quitado completa o parcialmente las vísceras u otros órganos, que no ha recibido ningún tratamiento de conservación fuera del enfriamiento

3.1.3 *Filetes de pescado congelados***.** Lonjas de pescado de la misma especie, apta para el consumo humano de tamaño y forma irregulares que se separan del cuerpo del pescado mediante cortes paralelos a la espina dorsal, así como los trozos en que se cortan dichas lonjas para facilitar el envasado, sometidos a congelación

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El olor, color y sabor deben ser los característicos del producto. No se permiten olores o sabores objetables persistentes e inconfundibles que sean signo de descomposición.

5.1.2 Durante la captura se debe tomar las precauciones necesarias para evitar raspaduras o daño en la piel o heridas en el músculo de los peces; el producto no debe exponerse directamente al sol.
5.1.3 Los pescados frescos refrigerados o congelados, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.
5.1.4 *Requisitos microbiológicos*
5.1.4.1 Los productos deben estar exentos de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas producidas por estos, que puedan ocasionar un peligro para la salud.
5.1.4.2 Los productos deben cumplir con lo indicado en la tabla 2.
(Servicio Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2013, p. 2-3).

LEY ORGÁNICA DEL RÉGIMEN DE LA SOBERANÍA ALIMENTARIA
CAPÍTULO IV
SANIDAD E INOCUIDAD ALIMENTARIA

Artículo 24. Finalidad de la sanidad.- La sanidad e inocuidad alimentarias tienen por objeto promover una adecuada nutrición y protección de la salud de las personas; y prevenir, eliminar o reducir la incidencia de enfermedades que se puedan causar o agravar por el consumo de alimentos contaminados.
Artículo 25. Sanidad animal y vegetal.- El Estado prevendrá y controlará la introducción y ocurrencia de enfermedades de animales y vegetales; asimismo promoverá prácticas y tecnologías de producción, industrialización, conservación y comercialización que permitan alcanzar y afianzar la inocuidad de los productos. Para lo cual, el Estado mantendrá campañas de erradicación de plagas y enfermedades en animales y cultivos, fomentando el uso de productos veterinarios y fitosanitarios amigables con el medio ambiente. Los animales que se destinen a la alimentación humana serán reproducidos, alimentados, criados, transportados y faenados en condiciones que preserven su bienestar y la sanidad del alimento (Ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria [LORSA], 2010, p. 8).

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, se elaboró una película de origen natural biodegradable implementando quitosano y aceite esencial de naranja para filetes de pescado, y se evaluaron los parámetros microbiológicos y físico-químicos del producto final. También se implementaron revisiones bibliográficas de bancos de información con la finalidad de conocer los parámetros físico-químicos y microbiológicos establecidos para determinar la calidad de filetes de pescado; así mismo fundamentar los beneficios de la implementación de quitosano y aceites esenciales en el periodo de vida útil de los productos finales.

3.1.2 Diseño de investigación

Se aplicó un recubrimiento de origen natural implementando quitosano y aceite esencial de naranja para filetes de pescado albacora, en este caso se utilizó un método de mezclas para analizar aspectos físico-químicos como el pH y bases nitrogenadas volátiles, además aspectos microbiológicos donde se verificó la presencia de bacterias anaerobias sultifo-reductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli*, como indicadores de calidad del pescado, los cuales permitan extender la vida útil de los filetes de pescado en almacenamiento a una temperatura de 4ºC.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variables independientes

- Concentración de quitosano.
- Porcentaje de aceite esencial de naranja.

3.2.1.2. Variable dependiente

- Características físico-químicas (pH y contenido de bases nitrogenadas volátiles totales).
- Características microbiológicas (bacterias anaerobias sultifo-reductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli*).

3.2.2 Tratamientos

En función del planteamiento de este estudio, los tratamientos a evaluarse se obtuvieron de un arreglo factorial 2x3, del cual el factor A estuvo representado por la concentración de quitosano y el factor B por la concentración de aceite esencial de naranja, con base en pruebas experimentales realizadas previamente. En este sentido, se tuvieron 6 tratamientos, los cuales se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos evaluados

N°	Factor A	Factor B	Combinaciones
	Concentración de quitosano	Concentración de aceite esencial de naranja	
1	1%	0%	a1b1
2	1%	0,5%	a1b2
3	1%	1%	a1b3
4	3%	0%	a2b1
5	3%	0,5%	a2b2
6	3%	1%	a2b3

Nieto, 2022

3.2.3 Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño de distribución completamente al azar (DCA). Con respecto a las características físico-químicas se evaluaron las diferentes concentraciones de pH y bases nitrogenadas volátiles de los

tratamientos; y para las características microbiológicas se evaluó la presencia de bacterias anaerobias sultifo-reductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli* mediante un conteo de Unidades formadoras de colonia (UFC).

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1. Recursos

Recursos humanos

- Investigadora
- Tutor

Recursos bibliográficos

- Libros
- Sitios web
- Tesis
- Revistas científicas

Recursos físicos

- Computadora
- Impresora
- Papelería de oficina
- Laboratorio

Recursos institucionales

- Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Agraria del Ecuador

Recursos materiales

Los recursos materiales que se utilizaron durante el trabajo experimental se describen a continuación como materia prima, equipos y materiales del proceso:

Materia prima e insumos

- Filetes de pescado Albacora

- Espectrofotómetro
- Quitosano (Adquirido comercialmente)
- Ácido acético
- Ácido cítrico
- Agua purificada
- Aceite esencial de naranja
- Glicerol
- Peptona
- Placas Petrifilm de 3M

Materiales y equipos de proceso

- Jarra plástica
- Cajas Petri
- Mallas plásticas
- Bandejas de aluminio
- Cuchillos
- Tabla de picar
- Mesa de fileteo y ollas de acero inoxidable
- pHmetro digital (pH 100)
- Agitador térmico
- Balanza digital (Capacidad de 200 gr)
- Refrigeradora
- Termómetro (Capacidad de -50°C a + 300°C)
- Matraz
- Vaso de precipitación
- Esterilizador

- Cámara de flujo
- Mechero a gas
- Incubadora
- Pipeta
- Tubo de ensayo
- Gradilla metálica
- Pinzas

3.2.4.2. Métodos y técnicas

Método analítico, pues la información recopilada se sometió a un análisis exploratorio, determinando así las propiedades físico-químicas y aspectos microbiológicos adecuados. Y en cuanto a las técnicas se tienen: investigación bibliográfica, entrevistas y cuestionarios, de los que se obtuvieron información de diversas fuentes, que a más de antecedente sirvieron de guía de la presente indagación para corroboración de hipótesis planteada.

Para cada etapa de la elaboración del producto final se elaboraron diagramas de flujo que sirven como guía para su ejecución, los mismos que se detallan a continuación:

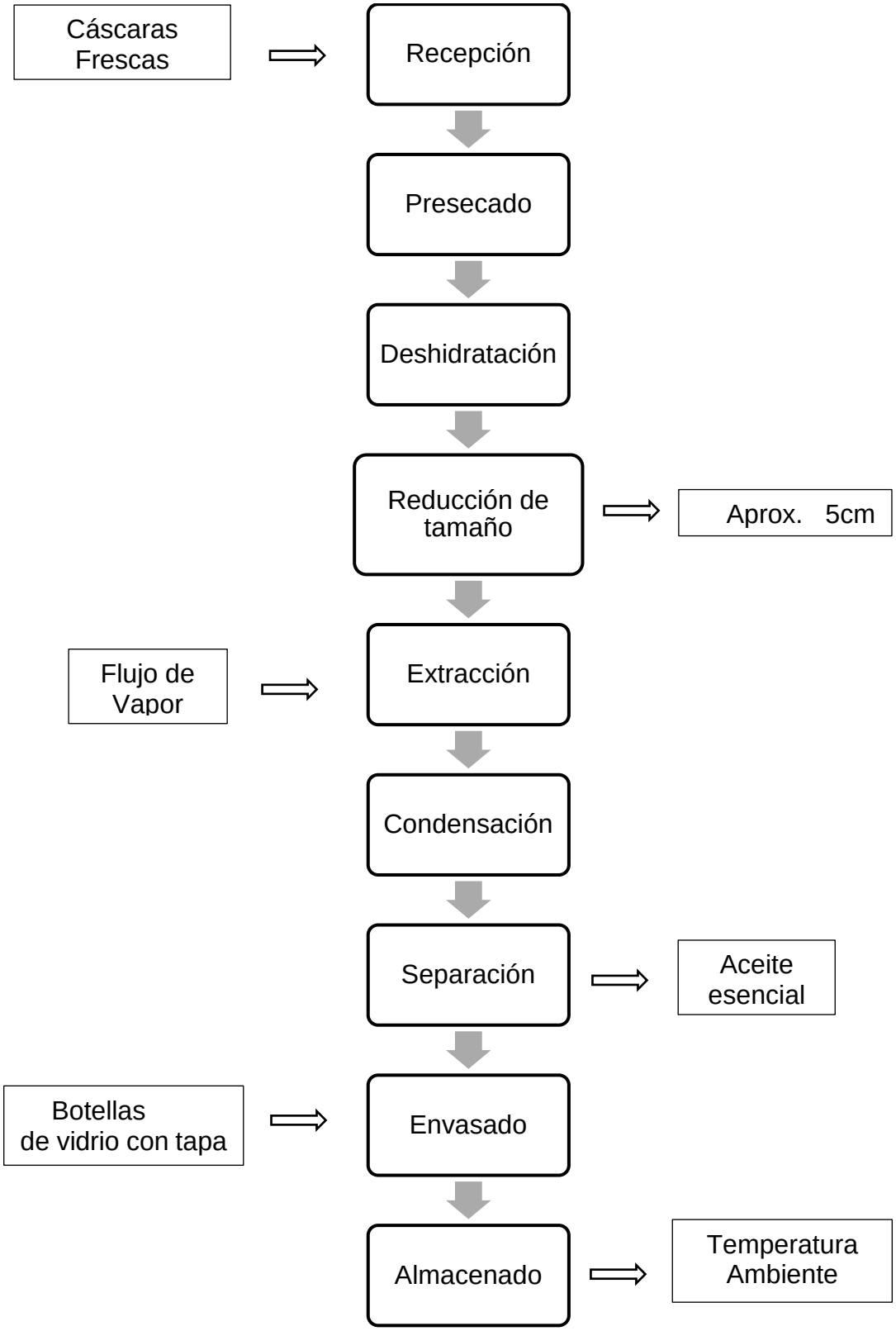


Figura 1. Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial de naranja
Nieto, 2022

3.2.4.2.1. Descripción del proceso de obtención de aceite esencial de naranja (Citrus sinensis).

- **Recepción**

Se receptó las cáscaras de naranja que se encuentren en óptimas condiciones como materia prima.

- **Presecado**

Se dejó secar hasta obtener un nivel de humedad entre 30 a 45%.

- **Deshidratación**

Consistió en secar las cáscaras de naranja por medio de aire caliente a una temperatura promedio de 60ºC, por un periodo controlado de tiempo.

- **Reducción de tamaño**

Se procedió a cortar las cáscaras en porciones pequeñas en un tamaño promedio entre 5 a 10 cm, para que la densidad de carga aumente y facilitar la posterior extracción.

- **Extracción**

Se sometió la materia prima al proceso de destilación por arrastre de vapor, donde consistió en separar las sustancias volátiles y sustancias insolubles en el agua. El proceso se realizó a una presión constante, durante una temperatura de ebullición.

- **Condensación y separación**

Se separó el aceite esencial, debido a que el agua y el aceite formaron dos fases y facilitó la extracción del mismo.

- **Envasado**

Se envasó en botellas de vidrio con tapa hermética.

- **Almacenado**

Se almacenó en los frascos de vidrio a temperatura ambiente.

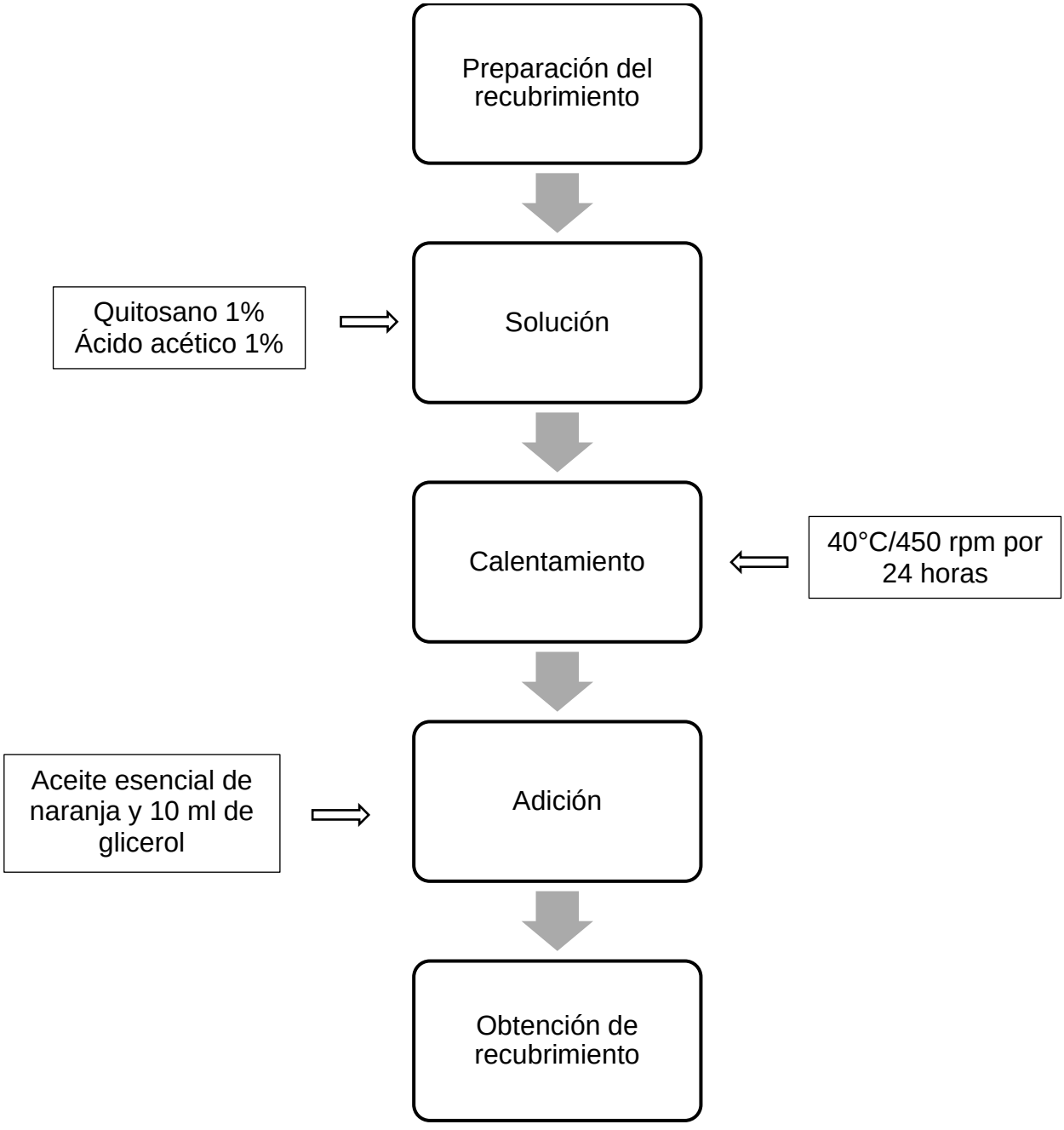


Figura 2. Proceso para obtención del recubrimiento comestible
Nieto, 2022

3.2.4.2.2. Descripción del proceso de elaboración de la película (Quitosano y Aceite esencial de naranja).

- **Solución**

Se preparó 1 litro de solución con quitosano al 1% p/v, en 1% v/v de ácido acético.

- **Calentamiento**

Se sometió a calentamiento en una placa por un periodo de tiempo de 24 horas, a una temperatura de 40 ºC/450 rpm, con el fin de facilitar la solubilización de la solución.

- **Adición**

Se incorporó glicerol en una porción de 10 ml, además se añadió el aceite esencial de naranja; se agitó constantemente durante 2 horas aproximadamente.

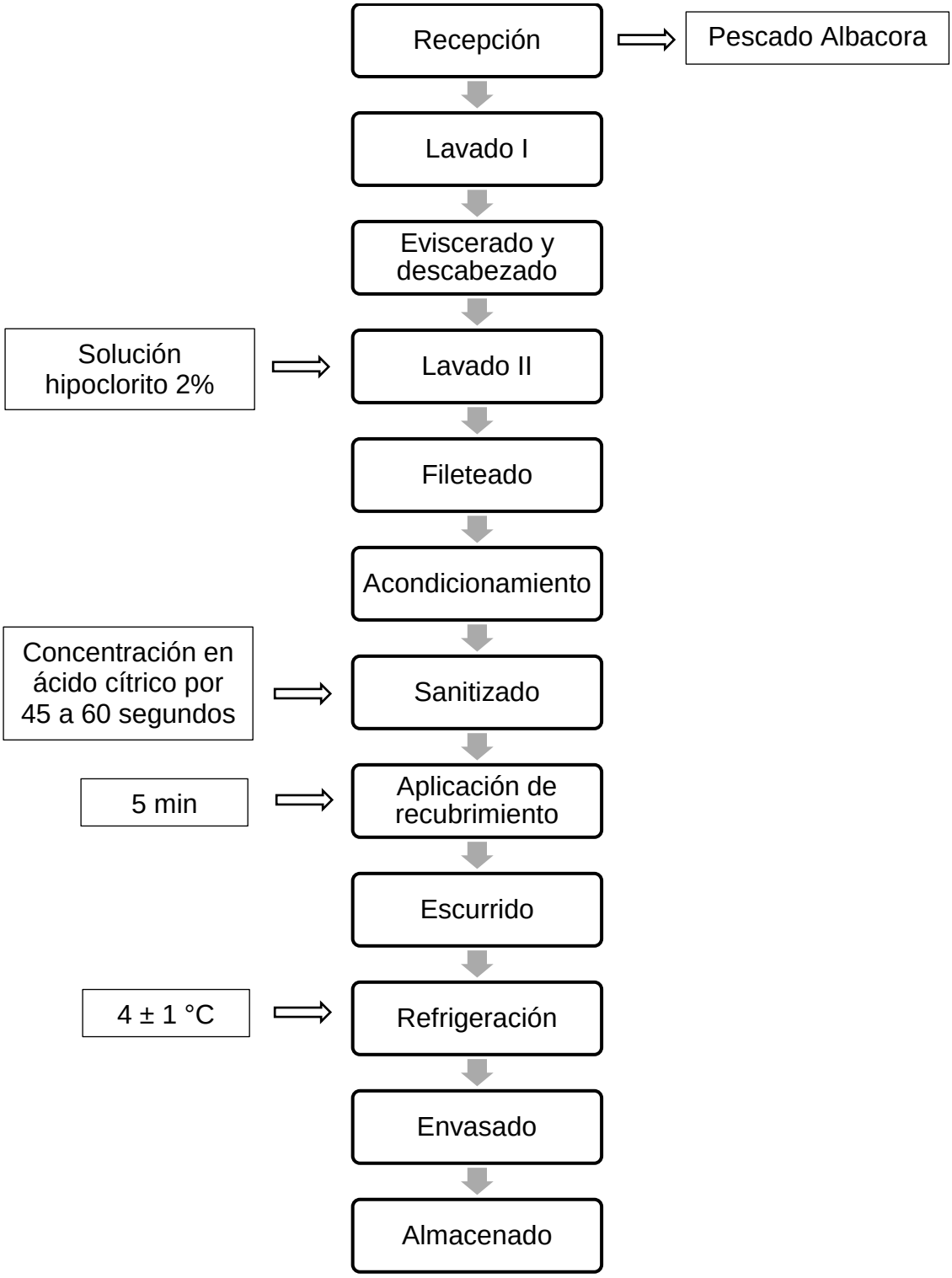


Figura 3. Aplicación del recubrimiento en filetes de pescado albacora.
Nieto, 2022

3.2.4.2.3. Descripción de la aplicación de la película con base de quitosano y aceite esencial de naranja (Citrus sinensis), en filetes de pescado de albacora (Thunnus albacara).

- **Recepción**

El pescado albacora *(Thunnus albacara),* se sometió a análisis de su aspecto organoléptico, esencialmente que esté óptimo para el consumo; se conservó en hielo para impedir la degradación de la materia prima a una temperatura de 10ºC, en una hielera plástica.

- **Lavado I**

El pescado se lavó con agua potable, con el propósito de disminuir presencia de carga microbiana y eliminar mucus y materias extrañas presentes.

- **Eviscerado y descabezado**

Se procedió al eviscerado por medio de una incisión ventral con la ayuda de un cuchillo hasta llegar a la abertura anal, esto se realizó para mayor facilidad de paso a la cavidad abdominal para una separación de las vísceras. De la misma manera, al momento de realizar el descabezado se aplicó una incisión recta y perpendicular en la espina dorsal.

- **Lavado II**

Se utilizó para el segundo lavado agua potable para desechar residuos de vísceras, sangre y escamas que puedan quedar de la etapa anterior, se mantuvo a una temperatura controlada por debajo de los 10ºC.

- **Fileteado**

Se realizó el proceso de faenado, posteriormente con la ayuda de cuchillos se aplicó el fileteado para obtener una separación de piel, músculo y espinazo.

- **Acondicionamiento**

Se descartó manchas o restos adheridos al filete para obtener uno totalmente limpio; se ejecutó este proceso en el menor tiempo posible.

- **Sanitizado**

Los filetes de pescado de albacora se sumergieron en la solución de ácido cítrico, durante un periodo de tiempo de 45 a 60 segundos a -5ºC de temperatura, para impedir que se dé una contaminación de cualquier tipo.

- **Aplicación de recubrimiento**

En 1 kg de filetes de albacora se empleó el recubrimiento por medio del método de inmersión durante un reposo de 5 min.

- **Escurrido**

Los filetes sumergidos en el recubrimiento se ubicaron en mallas para la eliminación de exceso del producto.

- **Refrigeración**

Luego del escurrido los filetes quedaron preservados a una temperatura de refrigeración de 4 ± 1 °C, posteriormente se verificaron las variables de estudio establecidas anteriormente.

- **Envasado**

Los filetes de albacora anteriormente refrigerados se dosificaron en bolsas de polietileno con densidades diferentes y con la ayuda de una selladora de impulso se sellaron las mismas.

- **Almacenado**

Las bolsas selladas se almacenaron a una temperatura de refrigeración.

3.2.4.2.4. Variables Cuantitativas

Contenido de bases nitrogenadas

El contenido de bases nitrogenadas volátiles se realizará a los 7, 15 y 21 días de refrigeración. El producto drenado pasó dos veces por el desmenuzador mecánico y luego se mezcló adecuadamente, hasta obtener una muestra homogénea.

Procedimiento

- Recepción de muestra preparada de 5 a 10 g.
- Se transfirió al balón de destilación.
- Luego se agregó 300 ml de agua destilada, 1 a 2 g de óxido de magnesio y unas gotas de alcohol octílitico para evitar la formación de espuma.
- Se conectó el balón al condensador y se destilará por un tiempo aproximado de 25 min.
- La salida del condensador estuvo sumergido en 50 ml de solución de ácido sulfúrico 0.1 N contenido en el Erlenmeyer de 250 ml, donde se añadió unas gotas de rojo metilo como indicador.
- Al finalizar la destilación se comprobó con papel indicador; además se procedió a titular el exceso de ácido contenido en el matraz Erlenmeyer con solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

Se debe realizar el mismo procedimiento en blanco con todos los reactivos, como se indica anteriormente.

Presencia de Bacterias y Vida útil

El análisis microbiológico, se realizó a todas las muestras, en el laboratorio externo SEIDLABORATORY y en el laboratorio de la universidad, basándose en las especificaciones de la Norma INEN 1893: 2013.

3.2.5. Análisis estadístico

La valoración estadística de los datos que se obtuvieron en este estudio se realizó a través de análisis de varianza (ANOVA) con el fin de detectar diferencias significativas, tanto a nivel de factores como en la interacción entre ellos. Además, como prueba de comparación de medias se ha previsto la utilización del test de Duncan. Estos análisis se realizon al 5% de error tipo I ($p < 0.05$), utilizando la versión estudiantil de software Infostat. Los modelos de ANOVA para las variables cuantitativas se indican en la tabla 2. Es importante indicar que en cada variable se verifican los supuestos de normalidad e igualdad de varianzas, previa la aplicación de las pruebas estadísticas.

Tabla 2. Análisis de varianza para variables cuantitativas.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	17
Factor A	1
Factor B	2
Interacción (A x B)	2
Error experimental	12

Nieto, 2022

4. Resultados

4.1 Indicadores de calidad microbiológica: Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli.*

El conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de las diferentes formulaciones del recubrimiento comestible en los filetes de albacora durante los 21 días de almacenamiento a una temperatura de refrigeración de 4ºC, se muestra en las Tablas 3, 4, 5 y 6.

Tabla 3. Bacterias Anaerobias Sulfito-Reductoras.

Tratamiento	CRECIMIENTO BACTERIANO (UFC/g) BACTERIAS ANAEROBIAS SULFITO-REDUCTORAS		
	7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T3: 1%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T4: 3%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T6: 3%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10

UFC/g: Unidad Formadora de Colonias por gramo; Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de naranja.

Nieto, 2022

Tabla 4. *Staphylococcus aerus.*

Tratamiento	CRECIMIENTO BACTERIANO (UFC/g) *STAPHYLOCOCCUS AEREUS*		
	7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T3: 1%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T4: 3%Q + 0% AN	< 10	< 10	< 10
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T6: 3%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10

UFC/g: Unidad Formadora de Colonias por gramo; Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de naranja.

Nieto, 2022

Tabla 5. Coliformes Fecales.

Tratamiento	CRECIMIENTO BACTERIANO (UFC/g) COLIFORMES FECALES		
	7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T3: 1%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T4: 3%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T6: 3%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10

UFC/g: Unidad Formadora de Colonias por gramo; Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de naranja.

Nieto, 2022

Tabla 6. *Escherichia Coli*.

Tratamiento	CRECIMIENTO BACTERIANO (UFC/g) E. COLI		
	7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T3: 1%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T4: 3%Q + 0% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	< 10	< 10	< 10
T6: 3%Q + 1% Ac. N	< 10	< 10	< 10

UFC/g: Unidad Formadora de Colonias por gramo; Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de naranja.

Nieto, 2022

Las características microbiológicas de los tratamientos se evaluaron por medio de la presencia de Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales *y Escherichia coli*, mediante un conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), como indicadores de calidad para los filetes de albacora, los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos fueron <10 en los tres periodos de tiempo; por lo tanto cumplen con el rango permitido por la Norma NTE INEN 1896:2013.

Todos los recubrimientos manifestaron efectos inhibitorios contra el crecimiento masivo de Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli*. El efecto antimicrobiano que presentan los recubrimientos se debe a la presencia de Quitosano dentro de las formulaciones de los tratamientos, esta propiedad va en aumento conforme incrementa el grado de desacetilación; por otro lado, la adición de Aceite esencial de Naranja fortalece la inhibición del crecimiento microbiano y además funciona como antioxidante para resguardar las características físico-químicas y bromatológicas de los filetes de pescado.

4.2 Indicadores de calidad físico-químicos: Parámetros físico-químicos del recubrimiento comestible con base en quitosano y aceite esencial de naranja.

4.2.1 pH

El efecto del pH en las distintas formulaciones de recubrimiento biodegradable comestible en filetes de albacora, durante 21 días de almacenamiento a una temperatura de refrigeración de 4ºC, se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Evaluación del pH

Nº	Factor A (Quitosano)	Factor B (Aceite esencial de Naranja)	pH
1	a1: 1% Q	b1: 0% Ac. N	6,70 a
2	a1: 1% Q	b2: 0,5% Ac.N	6,52 c
3	a1: 1% Q	b3: 1% Ac. N	6,59 b
4	a2: 3% Q	b1: 0% Ac. N	6,55 bc
5	a2: 3% Q	b2: 0,5% Ac.N	6,58 b
6	a2: 3% Q	b3: 1% Ac. N	6,53 c
	CV (%)		0,71

Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de naranja; CV: Coeficiente de Variación.
Nieto, 2022

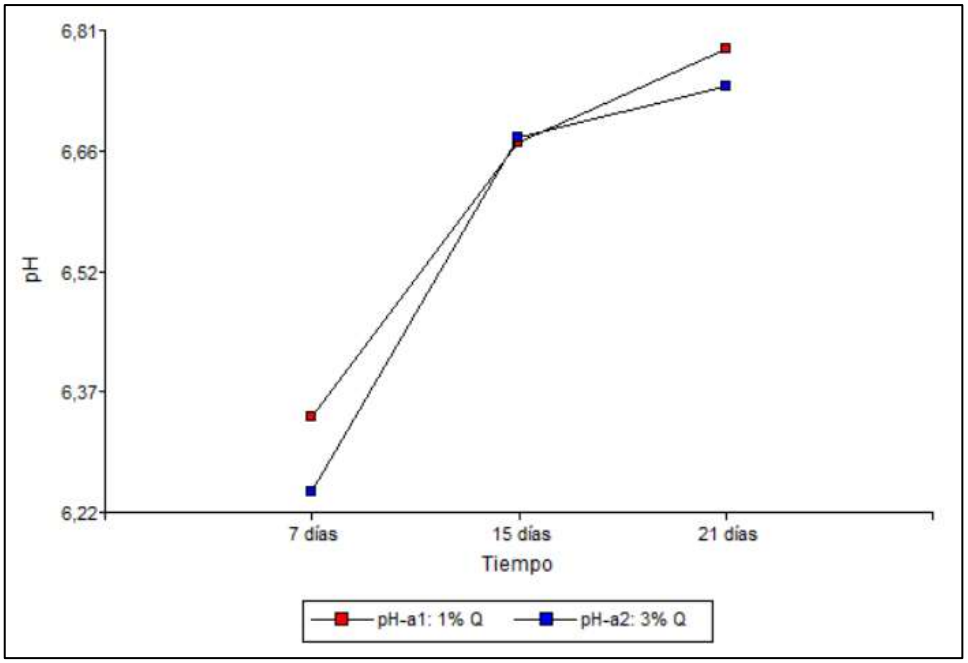


Figura 4. Representación gráfica del pH en Factor A (Quitosano).
Q: Quitosano.
Nieto, 2022

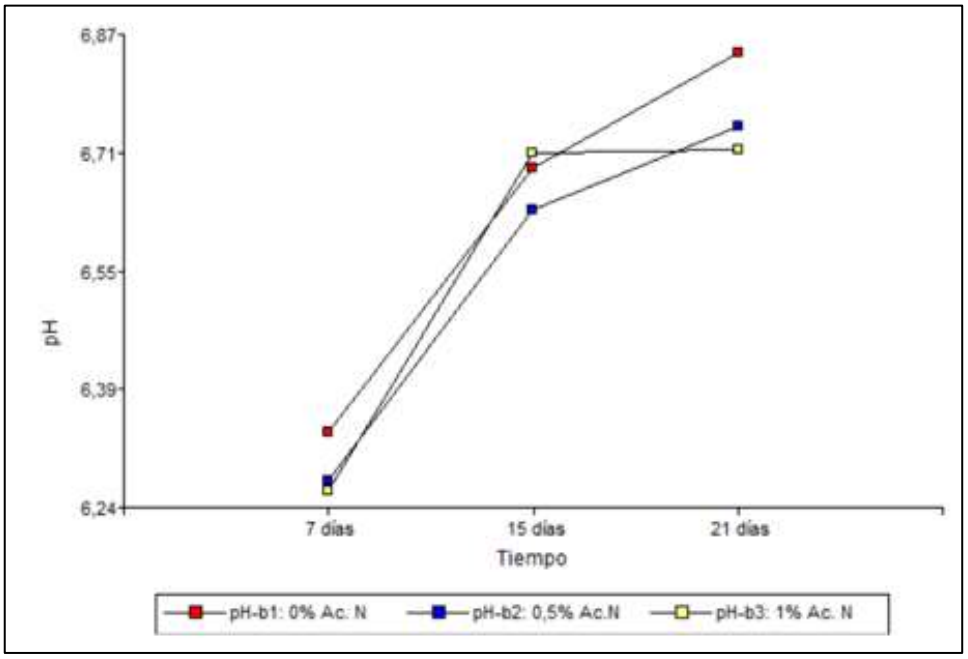


Figura 5. Representación gráfica del pH en Factor B (Ac. Naranja).
Ac. N: Aceite esencial de Naranja.
Nieto, 2022

Mediante el registro de datos reflejados de la primera característica físico química evaluada en los distintos tratamientos, tiempos de almacenamiento (días) establecidos y repeticiones que se muestran en la Tabla 11; se identificó el

tratamiento con mejores características físico-químicas. Los valores del pH que presentan los filetes de albacora a los primeros 7 días de almacenamiento en refrigeración variaron de 6,21 a 6,40; dentro de los 15 días de almacenamiento el pH se encontró en un rango de 6,56 a 6,74; en el día 21 los registros de pH fueron de 6,69 a 6,96.

El análisis de varianza realizado para el pH muestra que sí existen diferencias significativas estadísticas en cada factor, y en la interacción de los mismos; por medio del Test de Duncan se identifica al Tratamiento 1 (a1: 1% Q + b1: 0% Ac. N) con un pH 6,70 como el mejor (Anexo 1).

Las Figuras 4 y 5, representan gráficamente la elevación que sufre el pH por factor en un lapso de 7 a 15 días de almacenamiento, por otra parte, el comportamiento de pH hasta cumplir los 21 días es más estable. El recubrimiento elaborado con base en quitosano y aceite esencial de naranja pudo regular el valor de pH de los diferentes tratamientos, es por ello que se puede denotar que los datos varían al transcurrir los días en periodo de almacenamiento e influye en la composición del recubrimiento.

4.2.2 Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT)

La derivación de BNVT en las distintas formulaciones de recubrimiento biodegradable comestible en filetes de albacora durante 21 días de almacenamiento a una temperatura de refrigeración de 4ºC, se muestran en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Evaluación de BNVT del Factor A (Quitosano)

Nº	Factor A (Quitosano)	BNVT
1	a1: 1% Q	11,03 a
2	a2: 3% Q	6,57 b

BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles; Q: Quitosano.
Nieto, 2022

Tabla 9. Evaluación de BNVT del Factor B (aceite esencial de Naranja)

Nº	Factor B (Aceite esencial de Naranja)	BNVT
1	b1: 0% Ac. N	9,91 a
2	b2: 0,5% Ac. N	9,09 a
3	b3: 1% Ac. N	7,39 b

BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; Ac. N: Aceite esencial de naranja.
Nieto, 2022

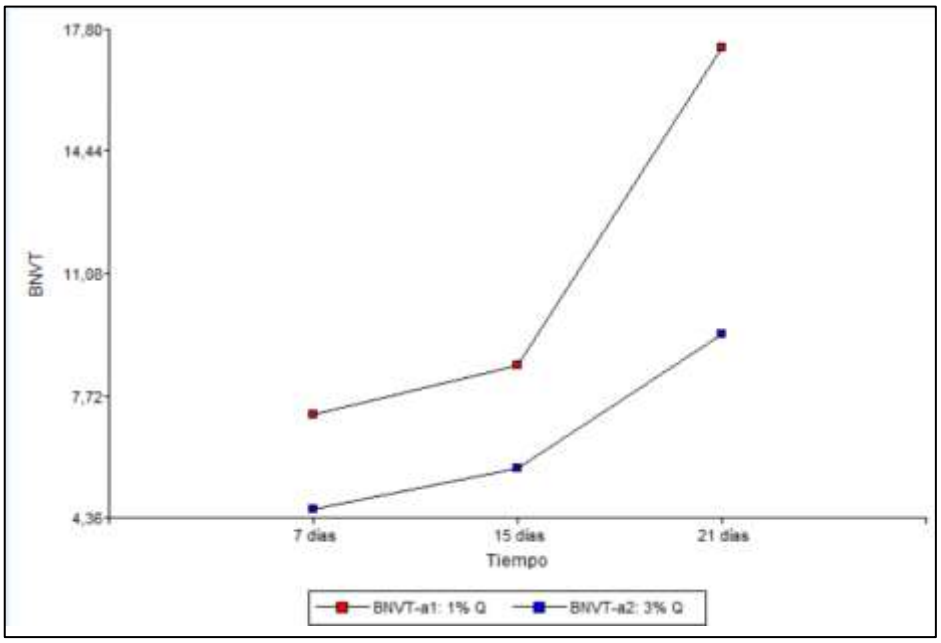


Figura 6. Representación gráfica de BNVT en Factor A (Quitosano).
BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; Q: Quitosano.
Nieto, 2022

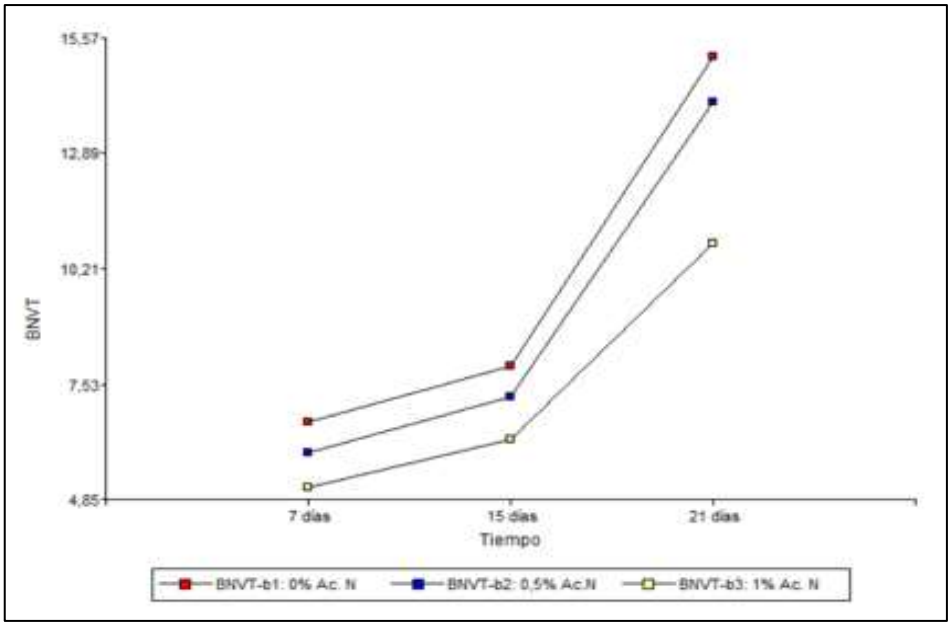


Figura 7. Representación gráfica de BNVT en Factor B (Ac. N).
BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; Ac. N: Aceite esencial de Naranja.
Nieto, 2022

Por medio de la recolección de datos de los análisis de la segunda característica físico química evaluada en los distintos tratamientos de recubrimiento, tiempos de almacenamiento (días) establecidos y repeticiones que se muestran en la Tabla 12; se identifica el tratamiento con mejores características en cuanto a la cantidad de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT).

Los resultados de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales de los filetes de albacora con recubrimiento de quitosano y aceite esencial de naranja varían según la formulación del tratamiento y el tiempo de almacenamiento, los mismos que cumplen con los requerimientos establecidos por la norma INEN 182 (Figura 8).

El análisis de varianza realizado con los valores de BNVT de los filetes de albacora, reflejan que en la interacción del Factor A (Quitosano) y el Factor B (Aceite esencial de Naranja) no son significativos; mediante el Test de Duncan aplicado a cada factor demuestra que el Quitosano y el Aceite esencial de naranja a mayor cantidad beneficia a la no degradación de características físicas de los filetes de albacora, tal como se presenta en los valores de BNVT del tratamiento 5

(3% Quitosano + 0,5% Aceite esencial de naranja) con 6,67 mgN_2/100g y tratamiento 6 (3% Quitosano + 1% Aceite esencial de naranja) 5,39 mgN_2/100g (Anexo 1).

Las Figuras 6 y 7, muestran el comportamiento de las Bases Nitrogenadas Volátiles Totales a lo largo del periodo de almacenamiento; por consiguiente, este valor se dispara al cumplir los 21 días en refrigeración, permitiendo identificar la formulación adecuada para resguardar los filetes de albacora.

Los filetes de pescado con el recubrimiento del tratamiento 5 y 6 obtuvieron los valores más bajos con respecto al contenido de bases nitrogenadas volátiles totales, pero el tratamiento 6 es el que lidera como la mejor opción, a los 7 días de almacenamiento 3,59 mg mgN_2/100g; en los 15 días de almacenamiento 4,73 mgN_2/100g y por último a los 21 días de almacenamiento con 7,84 mgN_2/100g; por lo tanto, se identifica que el contenido de Quitosano al 3% y el aceite esencial de naranja al 1% forman la barrera de protección ante el deterioro del filete de albacora, que puede extender el periodo de vida útil del producto.

4.3 Tiempo de vida útil inicial de filetes de albacora durante 7, 15 y 21 días de refrigeración a una temperatura de 4ºC.

La vida útil de los filetes de pescado albacora es el periodo de tiempo en el que es apto su consumo; de tal manera que no pueda causar daño al consumidor: cada uno de los tratamientos analizados fueron almacenados en empaques plásticos de polietileno, sellados al vacío a una temperatura de refrigeración a 4ºC. El uso de recubrimientos comestibles con base de Quitosano y aceite esencial de Naranja como barrera protectora; se redujo la carga microbiana durante los 21 días, de la misma manera se evitó el deterioro de los filetes de pescado; por otro lado, se conservaron sus características físico-químicas.

El líquido de inmersión que fue elaborado con 3% de quitosano y 1% de aceite esencial de naranja presentó 5,39 mgN_2/100g; el mismo que por medio de un recuento microbiano, se identifica un control en cuanto a la proliferación al reportar valores <10 UFC/g; cumpliendo con los requisitos físico-químicos y microbiológicos de la NTE INEN 1896:2013 presentando una acción retardante ante el crecimiento; se identificó que el recubrimiento comestible reduce el contenido de oxigeno el cual inhibe la reproducción microbiana; de tal manera que extiende la vida útil de los filetes de albacora a un periodo de 21 días, el mismo que puede llegar a 30 días aproximadamente.

5. Discusión

Los recubrimientos comestibles son implementados dentro del área alimenticia para proteger y evitar contaminaciones en el producto final, el uso de quitosano en las formulaciones del recubrimiento de quitosano y aceite esencial de naranja cumplieron con la acción inhibitoria del desarrollo microbiano presentando valores como <10 UFC/g en los resultados de los análisis microbiológicos, por tal motivo favorece a la calidad final del producto, lo cual coincide con la investigación de Albertos (2013), quien especifica que los films que tienen quitosano en su composición presentan inhibición en las zonas aplicadas, presentando 7 log UFC/ml como resultado de las determinaciones de la actividad antimicrobiana. Por otro lado, los resultados obtenidos de los aspectos microbiológicos mediante la presencia de quitosano, concuerda con la investigación de García (2015), quien manifiesta que el empleo de quitosano en las elaboraciones de recubrimientos, películas o aditivos en los alimentos, retarda la oxidación lipídica favoreciendo a la estabilidad del producto durante los periodos de almacenamiento.

El uso de aceite esencial de naranja en la composición de los tratamientos aplicados en filetes de albacora, se presentó como un agente antioxidante y antimicrobiono con resultados como <10 UFC/g, presenvando el producto a lo largo de su almacenamento; de la misma manera Cánovas (2021), menciona que la incorporación de los aceites esenciales en alta concentración dentro de las formulaciones fueron útiles para retardar el crecimiento microbiano y el pardeamiento, sin embargo afectó los aspectos sensoriales propios del producto.

Los resultados de pH de los tratamientos del recubrimeinto de aceite esencial de naranja mantuvieron un pH ácido con un rango de valores de 6.53 a 6.70 durantre el periódo de almacenamiento a un temperatura de refrigeración, este control de

debió a la efectividad del recubrimiento como una barrera de protección ante las acciones enzimaticas. Según Mittani (2016), determina que el pH en valores ácidos que varían de 6.41 a 6.45 en los cero días de almacenameinto y 6.49 a 6.65 al finalizar los 21 días de almacenamiento, evita que se produzcan compuestos volátiles como son las cetonas, ésteres, aldehídos y sulfuros no azufrados que producen los microoganismos durante su propagación.

Los resultados antimicrobianos y fisico-químicos obtenidos del recubrimiento de quitosano y aceite esencial de naranja aplicados en filetes de albacora los cuales fueron <10 UFC/g a lo largo de los 21 días de almacenamiento, un pH ácido con valores de 6,53 a 6.70 y 3,59 a 7,84 mgN_2/100g durante su periodo de almacenamiento; los mismos que cumplen con los requisitos plateados por la normativa NTE INEN 1896:2013, al no exceder los rangos establecidos, demostrando que la combinación de quitosano y aceites esenciales otorgan propiedades antimicrobianas al recubrimiento, además la investigación de Mero (2018) al obtener un pH de 6,49 a 6,38; Bases Nitrogenadas Volátiles Totales de 5,05 a 8,43 mgN/100g; un recuento de Coliformes que se mantuvo en 10 UFC/g alrededor de los 10 días de prueba; demuestra que a partir del uso de materiales comestibles y biodegradables en la elaboración de recubrimiento o películas pueden ceder propiedades antioxidantes y antimicrobianas; permitiendo extender la vida útil y mejorar la calidad dentro de la industria pesquera.

Con los resultados obtenidos mediante el desarrollo del proyecto se cumple la hipótesis inicial que manifiesta que la aplicación de aceites esenciales de naranja a una película de quitosano alargará la vida útil de los filetes de pescado albacora y mantendrá sus características físico-químicas y microbiológicas en buen estado durante un determinado tiempo.

6. Conclusiones

Los análisis microbiológicos se evaluaron mediante un conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), las cuales se mantuvieron ausentes e inhibidas las Bacterias anaerobias sulfitoreductoras, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales y *Escherichia coli*, al reportar valores <10 UFC/g a lo largo de los 7, 15 y 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4ºC, por lo tanto, cumple con la normativa NTE INEN 1896:2013.

El análisis de las características físico-químicas del recubrimiento fueron evaluadas estadísticamente por medio del Test de Duncan, determinando según la toma de muestras de pH al Tratamiento 1 (a1: 1% Q + b1: 0% Ac. N) con un pH 6,70 como el más óptimo. Por lo tanto, la determinación de Bases Nitrogenadas Volátiles totales del Tratamiento 6 (3% Q. + 1% Ac. Naranja) reportó valores permisibles 7 días de almacenamiento 3,59 mg mgN_2/100g; 15 días de almacenamiento 4,73 mgN_2/100g y 21 días de almacenamiento con 7,84 mgN_2/100g, los mismos que se apegan y no exceden los requisitos presentados por la normativa NTE INEN 1896:2013.

El uso de quitosano y aceite esencial de naranja influyeron positivamente en la calidad del recubrimiento comestible, ya que, fortalece una barrera protectora que permitió inhibir el crecimiento microbiano manteniendo valores como <10 UFC/g, evitó el deterioro de las características físico-químicas por medio de un pH de 6,53 y registrando como Bases Nitrogenadas Volátiles Totales 7,84 mgN_2/100g al culminar el tiempo de almacenamiento; de tal manera que extendió de la vida útil de los filetes de albacora hasta los 21 días.

7. Recomendaciones

Se sugiere ampliar la cantidad de materia prima a utilizar y de la misma manera un aumento en el muestreo con la finalidad de obtener un mejor mecanismo del recubrimiento comestible.

Se propone realizar pruebas sensoriales de los tratamientos, para evaluar la incidencia de los factores del recubrimiento en las características organolépticas del color, olor, sabor y textura de filetes de albacora al momento de su consumo.

Se debe considerar la aplicación del recubrimiento ganador en la conservación de otros tipos de pescado para evaluar de efectividad de protección de las características físico-químicas y la inhibición microbiana.

Se sugiere el uso de quitosano polvo para evitar miscibilidad y mantener un control en la temperatura durante su dilución.

8. Bibliografía

Acuña, L. (25 de Septiembre de 2018). *Efecto de compuestos fenólicos de càscara y pulpa de mango (Mangífera índica L.) en la conservación de filetes de pescado Albacora (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Laica "Eloy Alfaro de Manabí", Manta: https://repositorio.uleam.edu.ec/

Aider citado por Montaño, E. (Agosto de 2016). *Efecto de un extracto etanólico obtenido a partir de la planta de tomate (Solanum lycopersicum) incorporado en un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la frescura, calidad y vida de anaquel del filete de sierra (Scomberomorus sierra) (Tesis)*. Obtenido de Universidad de Sonora, Hermosillo: http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/bitstream/handle/unison/2182/montanocotaemmyalanl.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Albertos, I. (2013). *Efecto de films comestibles y altas presiones sobre la vida útil de filetes de Trucha (Maestría).* Obtenido de Universidad de Burgos: https://riubu.ubu.es/bitstream/handle/10259/3897/Albertos_Mu%C3%B1oz.pdf?sequence=1

Amador, C. (2013). *Determinación de Escherichia coli en carnes bovinas en lugares de expendio y propuesta de buenas prácticas de manejo en la ciudad de Milagro 2012 (Tesis de Posgrado).* Obtenido de Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil: https://cia.uagraria.edu.ec/

ANMAT. (Noviembre de 2014). *Análisis microbiológico de los alimentos.* Obtenido de Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación: http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf

Arias, C. (2019). *Estandarización de la extracción por arrastre con vapor de aceite de naranja para la asociación del hato en el municipio de Girardota (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia: http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/15655

Arteaga, C. (Abril de 2016). *Análisis Gastronómico del Encebollado de Pescado (Trabajo de Titulación de Licenciatura)*. Obtenido de Universidad de Guayaquil, Guayaquil: http://repositorio.ug.edu.ec/

Bautista, D. C. (Noviembre de 2016). *Contribución al estudio de la extracción de aceites esenciales y secado de cáscara de naranja (Citrus sinensis, var, Valencia Late) (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Nacional del Callao, Perú: http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/1738/Deysi_Tesis_T%c3%adtuloprofesional_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Begoña, A. (2015). *Uso de películas recubrimientos comestibles en los productos IV y V gama*. Obtenido de Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 16, núm. 1,pp. 8-17: https://www.redalyc.org/pdf/813/81339864002.pdf

Bilbao citado por Delgado, F. (2018). *Métodos modernos para la caracterización de películas y recubrimientos comestibles.* Obtenido de Universidad Autónoma de Querétaro BioTecnología, Vol. 22 No. 1, 38: https://smbb.mx/wp-content/uploads/2018/06/Garci%CC%81a-et-al-2018.pdf

Borja , D. (2018). *Evaluación del rendimiento, calidad y actividad antioxidante del aceite esencial de cáscara de naranja fresca de la especie Citrus maxima (Burm.) Merr. Familia Rutaceae, obtenido por dos métodos de extracción*

(Tesis de Grado). Obtenido de Universidad Central del Ecuador, Quito: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16721

Briones, J. R. (Octubre de 2020). *Recubrimiento comestible de Quitosano y Aloe vera para conservación de la opmarrosa malaya (Syzygium malaccense) a temperatura controlada (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil.

Caicedo , G. (Agosto de 2016). *Análsis tecno-económico de un sistema de refrigeración para embarcaciones de pesca artesanal (Tesis)*. Obtenido de Escuela Politécnica Nacional, Quito.

Cánovas, L. (2021). *Efectividad de la combinación de recubrimientos a base de alginato y quitosano con aceites esenciales (Tesis).* Obtenido de Universidad Católica de Valencia, San Vicente Martir: https://riucv.ucv.es/bitstream/handle/20.500.12466/1898/TFG%20LEONARDO%20C%c3%81NOVAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Carrión, J. (1 de Diciembre de 2019). *El mercado de pesca y acuacultura en Ecuador*. Obtenido de ICEX, Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Quito, Quito: file:///C:/Users/lenovo/Downloads/doc2019838297@a.pdf

Casado, I. (Febrero de 2018). *Optimización de la extracción de aceites, esenciales por destilación en corriente de vapor (Proyecto Fin de Carrera)*. Obtenido de Universidad Politécnica de Madrid, Madrid: http://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf

Castellanos , E. (5 de Septiembre de 2018). *Hidrogeles de quitosano-escuarato: preparación, caracterización y aplicaciones (Tesis de Maestría)*. Obtenido de

Universidad de las Islas Baleares, España: https://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/149243

Chicata, G. V. (2015). *Evaluación de recubrimientos comestibles aplicados a la lisa (Mugil cephalus) congelada (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa: http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/331/M-21336.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Consumer Pescado y Mariscos citado por Choez, A. (2015). *Procesamiento industrial de calamar y pescado dorado, (Dosidicus gigas y Coryphaena Hippurus) para obtener paté prococido en envase vidrio*. Obtenido de Repositorio digital de la Universidad de Guayaquil: http://repositorio.ug.edu.ec

Cordova, B. (3 de Febrero de 2017). *Implementación de un proyecto de inversión de comercialización de filetes de albacora en la ciudad de Machala (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Técnica de Machala, Machala: http://186.3.32.121/bitstream/48000/10004/1/ECUACE-2017-AE-DE00120.pdf

Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones citado por Caicedo, G. (Agosto de 2016). *Análisis Tecno-Económico de un sistema de refrigeración para embarcaciones de pesca artesanal (Tesis)*. Obtenido de Universidad Politécnica Nacional, Quito.

Elsabee citado por Piedrahita, D. (2017). *Utilización de flavonoides en recubrimientos comestibles para la conservación de productos acuícolas (Tesis de Maestría)*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia, Bogotá:

https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59277/David%20G.PiedrahitaM%c3%a1rquez.2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Escudero, B. (8 de Junio de 2019). *Evaluación del poder de los compùestos fenólicos de mortiño (vaccinium floribundum kunth) en salmonella spp aplicados en recubrimeinto comestibles para la conservación del queso fresco (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta.

Espinel, A. (Septiembre de 2020). *Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tres especies de citrus limon contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Agraria del Ecuador, Milagro: https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ESPINEL%20OBREGOSO%20ANDREA%20JUDITH.pdf

Estrella, I. (19 de Septiembre de 2019). *Diseño de una crema cosmética a partir de aceite de la semilla de chía (Salvia hispánica) y quitosano (Tesis)*. Obtenido de Universidad Técnica de Machala, Machala.

Fuentes, L. (8 de Diciembre de 2008). *Uso del quitosano obtenido de Litopenaeus schmitti (Decapoda, Penaeidae) en el tratamiento de agua para consumo humano*. Obtenido de Revista Multiciencias, vol. 8, Nº Extraordinario, pp. 281-287: https://www.redalyc.org/pdf/904/90411691041.pdf

Galván , T. (Mayo de 2017). *Desarrollo de Nanopartículas de Quitosano como Vector No Viral para su Posible Aplicación en Terapia Génica (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Juárez: http://erecursos.uacj.mx/handle/20.500.11961/5031

García, M. (2014). *Películas y coberturas de Quitosano en la conservación de pescado.* Obtenido de Universidad de La Habana. Ciencia y Tecnología de Alimentos Vol. 24, No.2, 72-73.

García, M. (Abril de 2015). *Potencialidades de la quitosana como agente antioxidante y antimicrobiano en la industria alimentaria.* Obtenido de Universidad de La Habana, La Habana, Cuba: https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/312/269

García, M. (2018). *Métodos modernos para la caracterización de películas y recubrimientos comestibles.* Obtenido de BioTecnología, Vol. 22 No. 1, 38-39: https://smbb.mx/wp-content/uploads/2018/06/Garci%CC%81a-et-al-2018.pdf

Giraldo, J. (2013). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 1-19.

González, R. (28 de Julio de 2017). *Conservación de la guayaba (Psidium guajava L.) en postcosecha mediante un recubrimiento comestible binario*. Obtenido de TEMAS AGRARIOS - Vol. 21, N 1, 54-64.

Hurtado , E., & Villa , A. (24 de Abril de 2016). *Estudio de mercado de aceite esencial de naranja en Colombia en el período 2009-2014*. Obtenido de Revista Digital Colombiana de Ciencias Hortícolas - Vol. 10 - No. 2 - pp. 301-310: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_horticolas/article/view/4653/pdf

INEC. (8 de Mayo de 2019). *Índice de Precios al Productor de Disponibilidad Nacional*. Obtenido de Boletín técnico N° 04-2019-IPP-DN:

https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_Economicas/IPP/2019/Abril-2019/BOLETIN_TECNICO_IPPDN_2019_04.pdf

INEN. (2013). *Pescados frescos refrigerados o congelados de producción acuícola. Requisitos.* Obtenido de Norma Técnica Ecuatoriana - Instituto Ecuatoriano de Normalización: Codex Alimentarius CAC/RCP 52-2003 Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros.

Jiménez, G. F. (26 de Octubre de 2016). *“Impacto de la Pesca Industrial en el Desarrollo Económico y Financiero de Manta” (Tesis de Posgrado)*. Obtenido de Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil: http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/7207/1/T-UCSG-PRE-MFEE-67.pdf

Kessel , A. (Marzo de 2018). *Potencialidades del quitosano para la fresa. Usos en la mejora y conservación de los frutos*. Obtenido de Revista Scielo, cultrop vol.39 no.1 La Habana.

Lárez, C. (2003). *Algunos usos del Quitosano en sistemas acuosos*. Obtenido de Revista Iberoamericana de Polímeros,vol 4(2), 91-96.

López, C. (2020). *Evaluación fisicoquímica y microbiológica del hongo ostra gris (Pleurotus ostreatus) cultivado en la Provincia de Pichincha (Tumbaco)-Ecuador (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador: http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/51067

LORSA. (27 de Diciembre de 2010). *Sanidad e Inocuidad Almentaria.* Obtenido de Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria: https://www.soberaniaalimentaria.gob.ec/pacha/wp-content/uploads/2011/04/LORSA.pdf

Márquez, G. (2017). *Utilización de flavonoides en recubrimeintos comestibles para la conservación de productos acuícolas (Tesis de Maestría)*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia, Bogotá: https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59277/David%20G.PiedrahitaM%c3%a1rquez.2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martel, S. (1 de Octubre de 2018). *Efecto de las radiaciones en la cinética de degradación de películas antibacteriales de quitosana (Reporte Técnico)*. Obtenido de Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Juárez: http://cathi.uacj.mx/handle/20.500.11961/5596

Martínez, C. (27 de Abril de 2020). *Evaluación de la calidad del filete de lubina (Dicentrarchus labrax) alimentada con piensos ecológicos (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Politécnica de Valencia, Valencia: https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/145796/Mart%c3%adnez%20-%20Evaluaci%c3%b3n%20de%20la%20calidad%20del%20filete%20de%20lubina%20alimentada%20con%20piensos%20ecol%c3%b3gicos.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martinez, R. T. (2016). *Tecnologías de conservación de filetes de pescado fresco (Tesis)*. Obtenido de Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10956/Martinez%20Layza%20Ronal%20Tito.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Mero, M. (Septiembre de 2018). *Elaboración de un recubrimiento comestible para filetes de Tilapia Roja (Oreochromis sp) a partir de almidon de yuca (Manihot esculenta crantz) y aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis) (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad de Guayaquil, Guayaquil: file:///C:/Users/lenovo/Downloads/401-1325%20-

%20recubrimiento%20comestible%20filetes%20tilapia%20roja%20de%20almidon%20yuca.pdf

Mittani, M. (2016). *Elaboración de un recubrimiento comestible para trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) en filetes. (Tesis).* Obtenido de Universidad Nacional del Altiplano, Puno - Perú.

Molina , J. A. (5 de Junio de 2017). *Efecto del uso de quitosano en el mejoramiento del cultivo del arroz (Oryza sativa L. variedad sd20a)*. Obtenido de Innovación Ambiental. Revista de Investigación Agraria y Ambiente, Vol. 8, Nº2, 152-164: https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2041/2294

Moncada, M. (6 de Mayo de 2020). *Preparación de un recubrimeinto comestible a base del almidón de papa china (Colocasia esculenta) para aplicaciones alimenticias (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Técnica de Machala, Machala: http://186.3.32.121/bitstream/48000/15583/1/T-3561_CUENCA%20TORRES%20MICHELLE%20ESTEFANIA.pdf

Montaño, E. (Agosto de 2016). *Efecto de un extracto etanólico obtenido a partir de la planta de tomate (Solanum lycopersicum) incorporado en un recubrimeinto comestible a base de quitosano sobre la frescura, calidad y vida de anaquel del filete de sierra almacenado en hielo (Tesis)*. Obtenido de Universidad de Sonora, Hermosillo: http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/bitstream/handle/unison/2182/montanocotaemmyalanl.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Obregón, E. W. (2018). *Análisis comparativo de la hidrodestilación con el arrastre de vapor para la extracción de aceites esenciales de la cáscara de naranja*

(Tesis de Grado). Obtenido de Universidad Nacional josé Faustino Sánchez Carrión, Huacho - Perú.

Piedrahita, D. (2017). *Utilización de flavonoides en recubrimientos comestibles para la conservación de productos de productos acuícolas (Maestría)*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia, Bogotá: https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59277/David%20G.PiedrahitaM%c3%a1rquez.2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Plan Nacional de Desarrollo . (2017). *Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida*. Obtenido de Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - Senplades 2017: https://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/11/PLAN-NACIONAL-DE-DESARROLLO-2017-2021.compressed.pdf

Porta citado por Escamilla, M. (2018). *Artículos Biotecnológicos Métodos modernos para la caracterización de películas y recubrimientos comestibles.* Obtenido de BioTecnología, Vol. 22 No. 1,39-40: https://smbb.mx/wp-content/uploads/2018/06/Garci%CC%81a-et-al-2018.pdf

Ramirez, M. (2017). *Comparación in vitro del caeite de cáscara de limón y el aceite de cáscara de naranja como disolventes de gutapercha de uso endodóntico (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Nacional de Trujillo, Perú: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10471/Tesis%20Maestr%c3%adaX%20-%20M%c3%b3nica%20Lucia%20Ram%c3%adrez%20Espinoza.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Salinas , E. (2019). *Evaluación del grado de contaminación bacteriana (aerobios, coliformes totales y fecales) en la zona supralitoral de 3 tipos de algas,*

Parroquia Ballenita (Tesis de Grado). Obtenido de Universidad de Guayaquil, Guayaquil: http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/40868

Saquinga, D. (2018). *Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de naranja (Citrus sinensis) sobre la cepa de Staphylococcus aureus (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Técnica de Ambato, Cevallos: https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/28463

Solano, L. (20 de Agosto de 2018). *Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados.* Obtenido de Universidad Nacional Autónoma de México, TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, Vol 21(2): 30-42: http://132.248.60.101/index.php/tip/article/view/153/166

Sornoza, M. (Agosto de 2017). *Plan de negocios para exportar merluzas (Merluccius gayi) en presentación HGT y filetes desde Ecuador al mercado de San Peterburgo, Rusia. (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Manta.

Toaza, K. B. (Septiembre de 2017). *Formulaciónde una salchicha de carne de pato (Anas platyrhynchos domesticus) y carne de albacora (Xiphias gladius) enriquecida con harina de plátano (Musa paradisiaca) (Tesis de Grado).* Obtenido de Universidad Agraria del Ecuador, Milagro - Ecuador: https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/TOAZA%20BANCHON%20KANDYA%20BELEN.pdf

Torres , B. (Agosto de 2018). *Extracción y caracterización de colágeno a partir de pieles de Tilapia (Oreochromis Sp.) y Albacora (Thunnus Alalunga) (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad de Guayaquil, Guayaquil - Ecuador: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/33451/1/401-1334%20-%20Extrac%20y%20caracterizac%20de%20colageno.pdf

Villegas, C. (15 de Noviembre de 2016). *plicación y efecto de un recubrimiento comestible sobre la vida útil de la mora de castilla (Rubus glaucus Benth).* Obtenido de VITAE, Revista de la Facultad de Farmacéutica y Alimentarias, Vol 23, No 3, 202-208.

Zargar, V. (2015). The Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. *ChemBioEng Reviews, Vol 2, N 3*, 204-226.

Zevallos, C. (2017). *Formulación y aplicaciçon de un recubrimiento a base de quitosano y gel de sábila (Aloe vera) para el tratamiento poscosecha del Limón Sutil (Tesis de Grado)*. Obtenido de Universidad Nacional de Tumbes, Perú: http://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/UNITUMBES/354/TESIS-%20ZEVALLOS%20MARCHAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y

9. Anexos

Tabla 10. Valor nutricional de la Albacora

Valor Nutricional de 100 g			
Nutrientes	**Contenido**	**Nutriente**	**Contenido**
Calorías	200	Fósforo	200
Proteína	23	Tiamina	0,02
Grasas	12,0	B2 Riboflavina	0,2
Agua	65	B3 Niacina	17,8
Calcio	38	B6	0,46
Hierro	1,3	B12 Cianocobalamina	5
Yodo	8	Vitamina A Retinol	60
Magnesio	28	Vitamina D	25
Zinc	1,1	Vitamina E	1
Sodio	43	Potasio	40

Arteaga, 2016.

Requisito	mín.	máx.	Método de ensayo
Nitrógeno básico volátil (expresado como total) mg/100g	-	30	NTE INEN 182

Figura 8. Requisitos físico químico para pescados
INEN, 2013.

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g	5	5×10^4	1×10^5	3	AOAC 990.12
E. coli, ufc/g	5	< 10	10	2	AOAC 998.08
Staphylococcus aureus coagulasa positiva, ufc/g	5	100	1000	2	AOAC 2003.11
Salmonella /25g	5	no detectado	-	0	NTE INEN 1529-15
Vibrio cholerae/25 g	5	no detectado	-	0	ISO/TS 21872-1
Vibrio parahaemolyticus/25 g	5	no detectado			ISO/TS 21872-1

Figura 9. Requisitos microbiológicos para pescados
INEN, 2013.

Tabla 11. Registro de Datos del pH.

Tratamiento	Repeticiones	Valor de pH		
		7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	1	6,41	6,72	6,95
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	1	6,31	6,56	6,69
T3: 1%Q + 1% Ac. N	1	6,30	6,74	6,72
T4: 3%Q + 0% Ac. N	1	6,28	6,66	6,73
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	1	6,26	6,69	6,77
T6: 3%Q + 1% Ac. N	1	6,20	6,69	6,71
T1: 1%Q + 0% Ac. N	2	6,40	6,73	6,97
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	2	6,29	6,57	6,70
T3: 1%Q + 1% Ac. N	2	6,30	6,74	6,71
T4: 3%Q + 0% Ac. N	2	6,27	6,65	6,71
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	2	6,24	6,72	6,81
T6: 3%Q + 1% Ac. N	2	6,22	6,68	6,70
T1: 1%Q + 0% Ac. N	3	6,40	6,72	6,96
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	3	6,30	6,56	6,69
T3: 1%Q + 1% Ac. N	3	6,32	6,73	6,72
T4: 3%Q + 0% Ac. N	3	6,26	6,66	6,73
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	3	6,24	6,70	6,81
T6: 3%Q + 1% Ac. N	3	6,22	6,67	6,72

Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de Naranja.
Nieto, 2022

Tabla 12. Registro de datos de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales.

Tratamiento	Repeticiones	Valor de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (mgN2/100g)		
		7 días	15 días	21 días
T1: 1%Q + 0% Ac. N	1	7,83	9,40	19,33
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	1	7,13	8,58	18,82
T3: 1%Q + 1% Ac. N	1	6,68	7,74	13,76
T4: 3%Q + 0% Ac. N	1	5,46	6,50	10,97
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	1	4,76	5,89	9,37
T6: 3%Q + 1% Ac. N	1	3,59	4,73	7,85
T1: 1%Q + 0% Ac. N	2	7,80	9,40	19,32
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	2	7,15	8,57	18,80
T3: 1%Q + 1% Ac. N	2	6,66	7,75	13,76
T4: 3%Q + 0% Ac. N	2	5,43	6,51	10,96
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	2	4,75	5,88	9,36
T6: 3%Q + 1% Ac. N	2	3,58	4,72	7,84
T1: 1%Q + 0% Ac. N	3	7,84	9,41	19,33
T2: 1%Q + 0,5% Ac. N	3	7,12	8,57	18,83
T3: 1%Q + 1% Ac. N	3	6,67	7,74	13,75
T4: 3%Q + 0% Ac. N	3	5,48	6,50	10,97
T5: 3%Q + 0,5% Ac. N	3	4,74	5,88	9,37
T6: 3%Q + 1% Ac. N	3	3,60	4,73	7,84

Q: Quitosano; Ac. N: Aceite esencial de Naranja.
Nieto, 2022

Análisis de la varianza

pH

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
pH	54	0,96	0,96	0,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,49	7	0,36	163,13	<0,0001
Factor A	0,03	1	0,03	12,43	0,0010
Factor B	0,06	2	0,03	12,63	<0,0001
Factor A*Factor B	0,10	2	0,05	22,58	<0,0001
Tiempo	2,31	2	1,16	529,53	<0,0001
Error	0,10	46	2,2E-03		
Total	2,59	53			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0022 gl: 46

Factor A	Medias	n	E.E.		
a1: 1% Q	6,60	27	0,01	A	
a2: 3% Q	6,56	27	0,01		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0022 gl: 46

Factor B	Medias	n	E.E.		
b1: 0% Ac. N	6,62	18	0,01	A	
b3: 1% Ac. N	6,56	18	0,01		B
b2: 0,5% Ac.N	6,55	18	0,01		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0022 gl: 46

Factor A	Factor B	Medias	n	E.E.			
a1: 1% Q	b1: 0% Ac. N	6,70	9	0,02	A		
a1: 1% Q	b3: 1% Ac. N	6,59	9	0,02		B	
a2: 3% Q	b2: 0,5% Ac.N	6,58	9	0,02		B	
a2: 3% Q	b1: 0% Ac. N	6,55	9	0,02		B	C
a2: 3% Q	b3: 1% Ac. N	6,53	9	0,02			C
a1: 1% Q	b2: 0,5% Ac.N	6,52	9	0,02			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Figura 10. ANOVA de pH
Nieto, 2022

BNVT

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
BNVT	54	0,89	0,88	17,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	902,74	7	128,96	55,50	<0,0001
Factor A	268,80	1	268,80	115,68	<0,0001
Factor B	59,67	2	29,83	12,84	<0,0001
Factor A*Factor B	1,62	2	0,81	0,35	0,7072
Tiempo	572,65	2	286,32	123,22	<0,0001
Error	106,89	46	2,32		
Total	1009,63	53			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 2,3237 gl: 46

Factor A	Medias	n	E.E.		
a1: 1% Q	11,03	27	0,29	A	
a2: 3% Q	6,57	27	0,29		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 2,3237 gl: 46

Factor B	Medias	n	E.E.		
b1: 0% Ac. N	9,91	18	0,36	A	
b2: 0,5% Ac.N	9,09	18	0,36	A	
b3: 1% Ac. N	7,39	18	0,36		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 2,3237 gl: 46

Factor A	Factor B	Medias	n	E.E.			
a1: 1% Q	b1: 0% Ac. N	12,18	9	0,51	A		
a1: 1% Q	b2: 0,5% Ac.N	11,51	9	0,51	A		
a1: 1% Q	b3: 1% Ac. N	9,39	9	0,51		B	
a2: 3% Q	b1: 0% Ac. N	7,64	9	0,51			C
a2: 3% Q	b2: 0,5% Ac.N	6,67	9	0,51			C D
a2: 3% Q	b3: 1% Ac. N	5,39	9	0,51			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Figura 11. ANOVA de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales
Nieto, 2022

Figura 12. Recepción del pescado Albacora
Nieto, 2022

Figura 13. Eviscerado y descabezado de pescado Albacora
Nieto, 2022

Figura 14. Fileteado del pescado
Nieto, 2022

Figura 15. Recepción de filetes de Albacora en el laboratorio institucional
Nieto, 2022

Figura 16. Esterilización de materiales
Nieto, 2022

Figura 17. Pesado de quitosano
Nieto, 2022

Figura 18. Medición de glicerina y agua destilada
Nieto, 2022

Figura 19. Mezclado y homogenizado del recubrimiento
Nieto, 2022

Figura 20. Recubrimientos
Nieto, 2022

Figura 21. Sanitizado de los filetes con ácido cítrico
Nieto, 2022

Figura 22. Aplicación de recubrimiento
Nieto, 2022

Figura 23. Proceso de escurrido
Nieto, 2022

Figura 24. Envasado de los filetes
Nieto, 2022

Figura 25. Sellado hermético al vacío
Nieto, 2022

Figura 26. Almacenado de Filetes de Albacora
Nieto, 2022

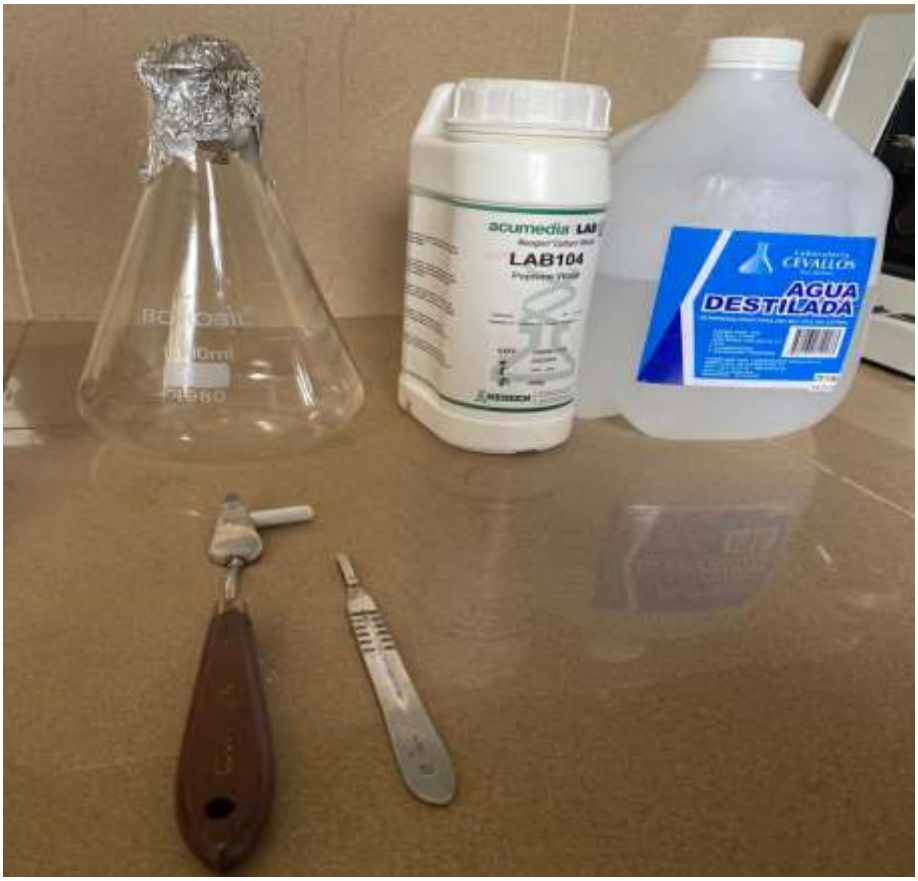


Figura 27. Materiales para elaborar agua peptonada
Nieto, 2022

Figura 28. Esterilización de la solución de Agua Peptonada
Nieto, 2022

Figura 29. Solución de Agua Peptonada
Nieto, 2022

Figura 30. Materiales para análisis microbiológicos
Nieto, 2022

Figura 31. Preparación de muestras
Nieto, 2022

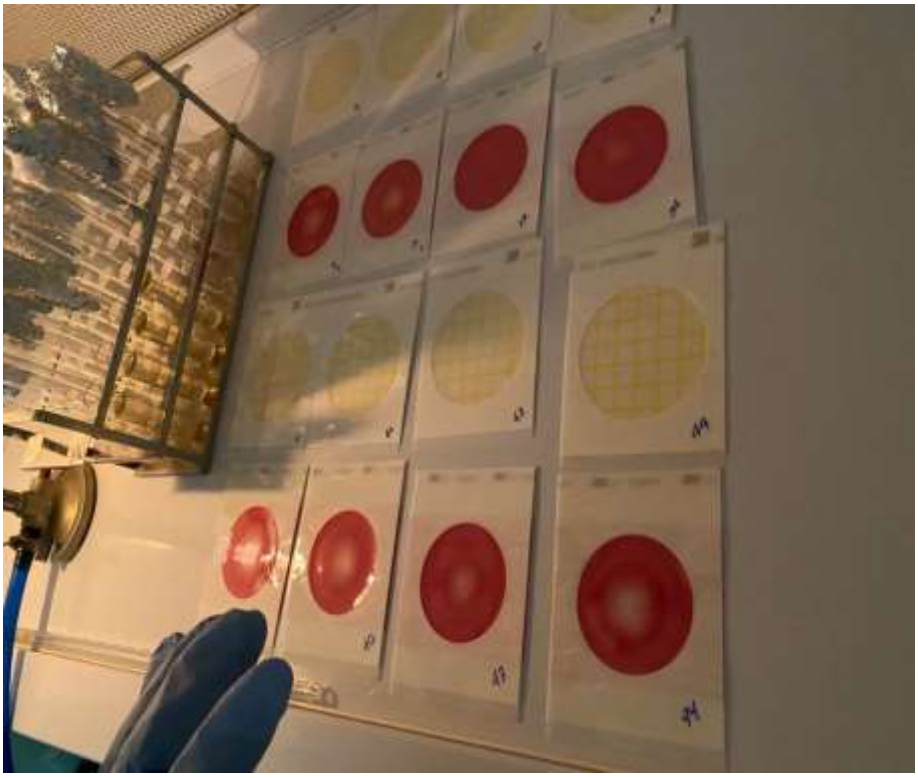


Figura 32. Incubación de Muestras
Nieto, 2022

SEIDLABORATORY CÍA. LTDA.
SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO
www.seidlaboratory.com.ec

ACCREDITED
Certificado Nº 2102-01/02
LABORATORIO ACREDITADO BAJO NORMA ISO/IEC 17025

PRE - INFORME DE ENSAYO NR. 242832

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
CLIENTE:	NIETO ORELLANA LORENA		
DIRECCION:	LA TRONCAL		
TIPO DE MUESTRA:	PESCADO, M1 T1 N - M3 T2 N		
TIPO DE PRODUCTO:	PESCADO, M1 T1 N - M3 T2 N		
FECHA DE ELABORACION:	09.12.2021	FECHA DE CADUCIDAD:	28.12.2021
LOTE:	ND	FORMA DE CONSERVACIÓN:	REFRIGERACION
CONTENIDO DECLARADO:	297,4g		
MATERIAL DE ENVASE:	EMPAQUE PLÁSTICO SELLADO		

INFORMACION DE LA MUESTRA			
CODIGO LABORATORIO:	242832- 1	CONTENIDO ENCONTRADO:	297,4g
FECHA RECEPCION:	21/12/23	FECHA INICIO ENSAYO:	21/12/23
CONDICIONES AMBIENTALES DE LLEGADA DE LA MUESTRA:	Temperatura 4,0 °C	MUESTREO: Es responsabilidad del cliente y los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió	

ENSAYOS FISICO QUIMICOS*	METODO	UNIDAD	RESULTADO
Nitrógeno básico volátil	M. INTERNO (BASADO EN INEN 182)	mgN2/100g	8,40
ENSAYOS MICROBIOLOGICOS	**METODO**	**UNIDAD**	**RESULTADO**
Anaerobios sulfito reductores*	SEM-CL AOAC 976.30	UFC/g	<10
E coli	SEM-CT AOAC 991.14	UFC/g	<10

*** Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE y A2LA***
Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditacion Nº OAE LE 1C 05-001

Datos tomados de NITRO. VOLATIL pag. 5

INCERTIDUMBRE:		
PARÁMETRO MICROBIOLOGICO	INCERTIDUMBRE	
COLIFORMES Y E.COLI	[illegible]	
ANAEROBIOS	[illegible]	La incertidumbre expandida reportada está basada en una incertidumbre típica multiplicada por un factor de cobertura K=2, proporcionando un nivel de confianza de aproximadamente un 95%

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.
El laboratorio no se responsabiliza por la representatividad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomado
Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico

• Tiempo de almacenamiento de informes: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

FECHA EMISION

Atentamente,

Página 1 de 2

Confidencialidad e Imparcialidad
[illegible]
Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio
[illegible]
Información
Para consultas, quejas o sugerencias, favor comunicarse a los siguientes correos
[illegible]

Figura 33. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)
SEIDLABORATORY, 2022

SEIDLABORATORY CÍA. LTDA.

SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO

www.seidlaboratory.com.ec

LABORATORIO ACREDITADO BAJO NORMA ISO/IEC 17025

INFORME DE ENSAYO NR. 342833

INFORMACION PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
CLIENTE:	NIETO ORELLANA LORENA		
DIRECCION:	LA TRONCAL		
TIPO DE MUESTRA:	PESCADO, M2 T8 N - M4 T5 N		
TIPO DE PRODUCTO:	PESCADO, M2 T8 N - M4 T5 N		
FECHA DE ELABORACION:	20.12.2021	FECHA DE CADUCIDAD:	28.12.2021
LOTE:	NO	FORMA DE CONSERVACIÓN:	REFRIGERACION
CONTENIDO DECLARADO:	2145.7g		
MATERIAL DE ENVASE:	EMPAQUE PLÁSTICO SELLADO		

INFORMACION DE LA MUESTRA			
CODIGO LABORATORIO:	342833- 1	CONTENIDO ENCONTRADO:	2145.7g
FECHA RECEPCION:	21/12/23	FECHA INICIO ENSAYO:	21/12/23
CONDICIONES AMBIENTALES DE LLEGADA DE LA MUESTRA:	Temperatura 4,5 ° C	MUESTREO: Es responsabilidad del cliente y, los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió	

ENSAYOS FISICO QUIMICOS*	METODO	UNIDAD	RESULTADO
Nitrógeno básico volátil	M. INTERNO (BASADO EN INEN 182)	mgN2/100g	4,73
ENSAYOS MICROBIOLOGICOS	**METODO**	**UNIDAD**	**RESULTADO**
Anaerobios sulfito reductores*	SEM-CL AOAC 976.30	UFC/g	<10
E coli	SEM-CT AOAC 991.14	UFC/g	<10

"Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE y A2LA"
Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditacion N° OAE LE 1C 05-001

Datos tomados de NITRO, VOLATIL pag. 5

INCERTIDUMBRE:		
PARÁMETRO MICROBIOLOGICO	INCERTIDUMBRE	
COLIFORMES Y E.COLI	[illegible]	
ANAEROBIOS	[illegible]	La incertidumbre expandida reportada está basada en una incertidumbre [illegible]

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.
El laboratorio no se responsabiliza por la representatividad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomada.
Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico.

• **Tiempo de almacenamiento de Informes:** Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

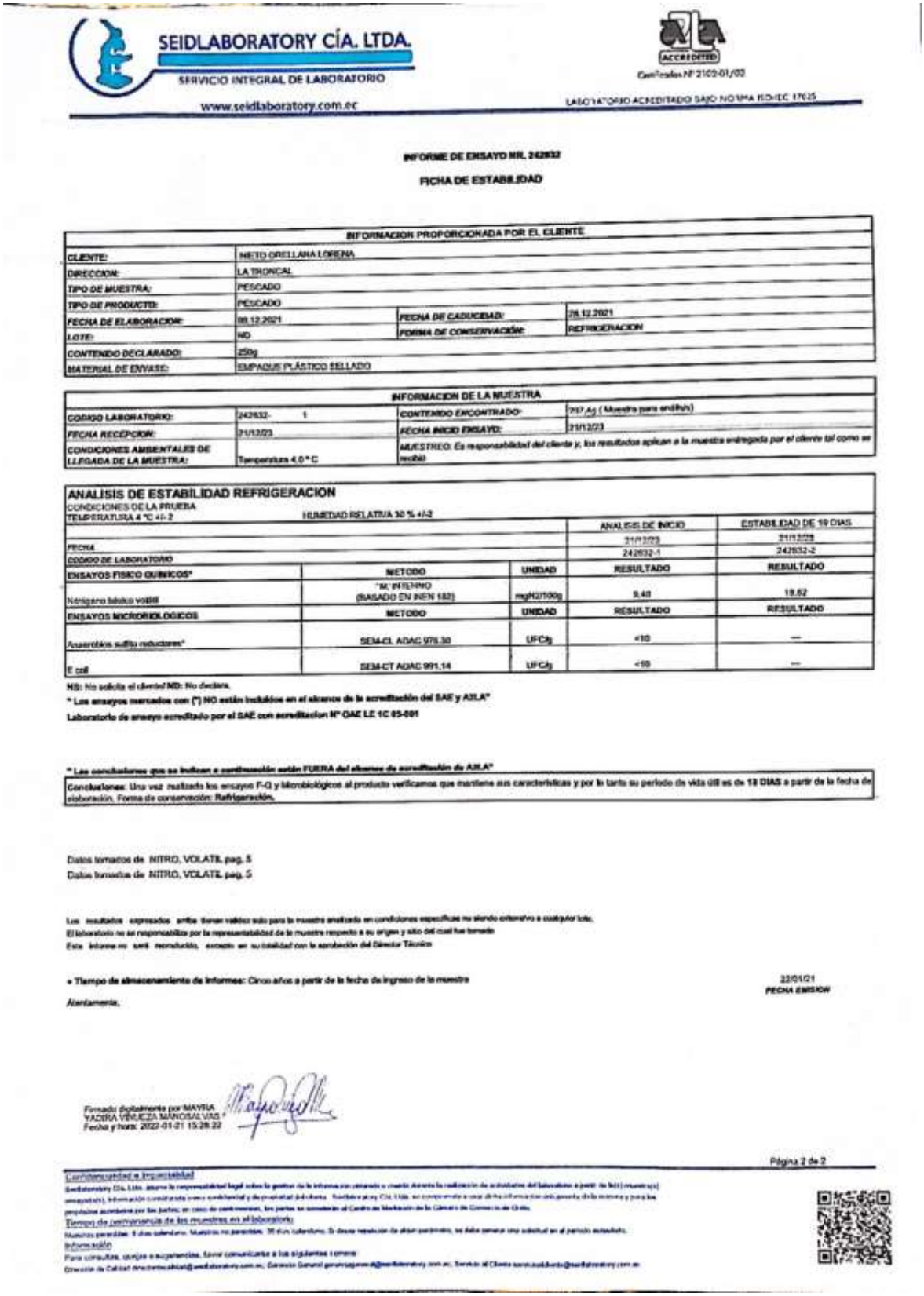
FECHA EMISION

Atentamente,

Página 1 de 2

Confidencialidad e imparcialidad
[illegible]
Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio
[illegible]
Información
Para consultas, quejas o sugerencias, favor comunicarse a los siguientes correos:
[illegible]

Figura 34. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo)
SEIDLABORATORY, 2022



SEIDLABORATORY CÍA. LTDA.
SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO
www.seidlaboratory.com.ec
ACCREDITED
Certificado N° 21/02-01/02
LABORATORIO ACREDITADO BAJO NORMA ISO/IEC 17025

INFORME DE ENSAYO NRL 242832

FICHA DE ESTABILIDAD

INFORMACION PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
CLIENTE:	NIETO ORELLANA LORENA		
DIRECCION:	LA TRONCAL		
TIPO DE MUESTRA:	PESCADO		
TIPO DE PRODUCTO:	PESCADO		
FECHA DE ELABORACION:	09.12.2021	FECHA DE CADUCIDAD:	28.12.2021
LOTE:	NO	FORMA DE CONSERVACIÓN:	REFRIGERACION
CONTENIDO DECLARADO:	250g		
MATERIAL DE ENVASE:	EMPAQUE PLÁSTICO SELLADO		

INFORMACION DE LA MUESTRA			
CODIGO LABORATORIO:	242832- 1	CONTENIDO ENCONTRADO:	297 Ag (Muestra para análisis)
FECHA RECEPCION:	21/1/2/23	FECHA INICIO ENSAYO:	21/1/2/23
CONDICIONES AMBIENTALES DE LLEGADA DE LA MUESTRA:	Temperatura 4.0 °C	MUESTREO: Es responsabilidad del cliente y, los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió	

ANALISIS DE ESTABILIDAD REFRIGERACION

CONDICIONES DE LA PRUEBA
TEMPERATURA 4 °C +/- 2 HUMEDAD RELATIVA 30 % +/-2

			ANALISIS DE INICIO	ESTABILIDAD DE 10 DIAS
FECHA			21/1/2/23	31/1/2/23
CODIGO DE LABORATORIO			242832-1	242832-2
ENSAYOS FISICO QUIMICOS*	METODO	UNIDAD	RESULTADO	RESULTADO
Nitrógeno básico volátil	"M. INTERNO (BASADO EN INEN 182)	mg/H2/100g	9.40	18.62
ENSAYOS MICROBIOLOGICOS	METODO	UNIDAD	RESULTADO	RESULTADO
Anaerobios sulfito reductores*	SEM-CL AOAC 976.30	UFC/g	<10	---
E coli	SEM-CT AOAC 991.14	UFC/g	<10	---

NS: No solicita el cliente/ ND: No declara.
*** Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE y AZLA***
Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditacion N° OAE LE 1C 05-001

*** Las conclusiones que se indican a continuación están FUERA del alcance de acreditación de AZLA***

Conclusiones: Una vez realizado los ensayos F-Q y bilrobiológicos al producto verificamos que mantiene sus características y por lo tanto su periodo de vida útil es de **10 DIAS** a partir de la fecha de elaboración. Forma de conservación: **Refrigeración.**

Datos tomados de NITRO, VOLATIL pag. 5
Datos tomados de NITRO, VOLATIL pag. 5

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.
El laboratorio no se responsabiliza por la representatividad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomada
Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico

*** Tiempo de almacenamiento de informes:** Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

22/01/21
FECHA EMISION

Atentamente,

Firmado digitalmente por MAYRA YADIRA VENEGAS MANOSALVAS
Fecha y hora: 2022-01-21 15:28:22

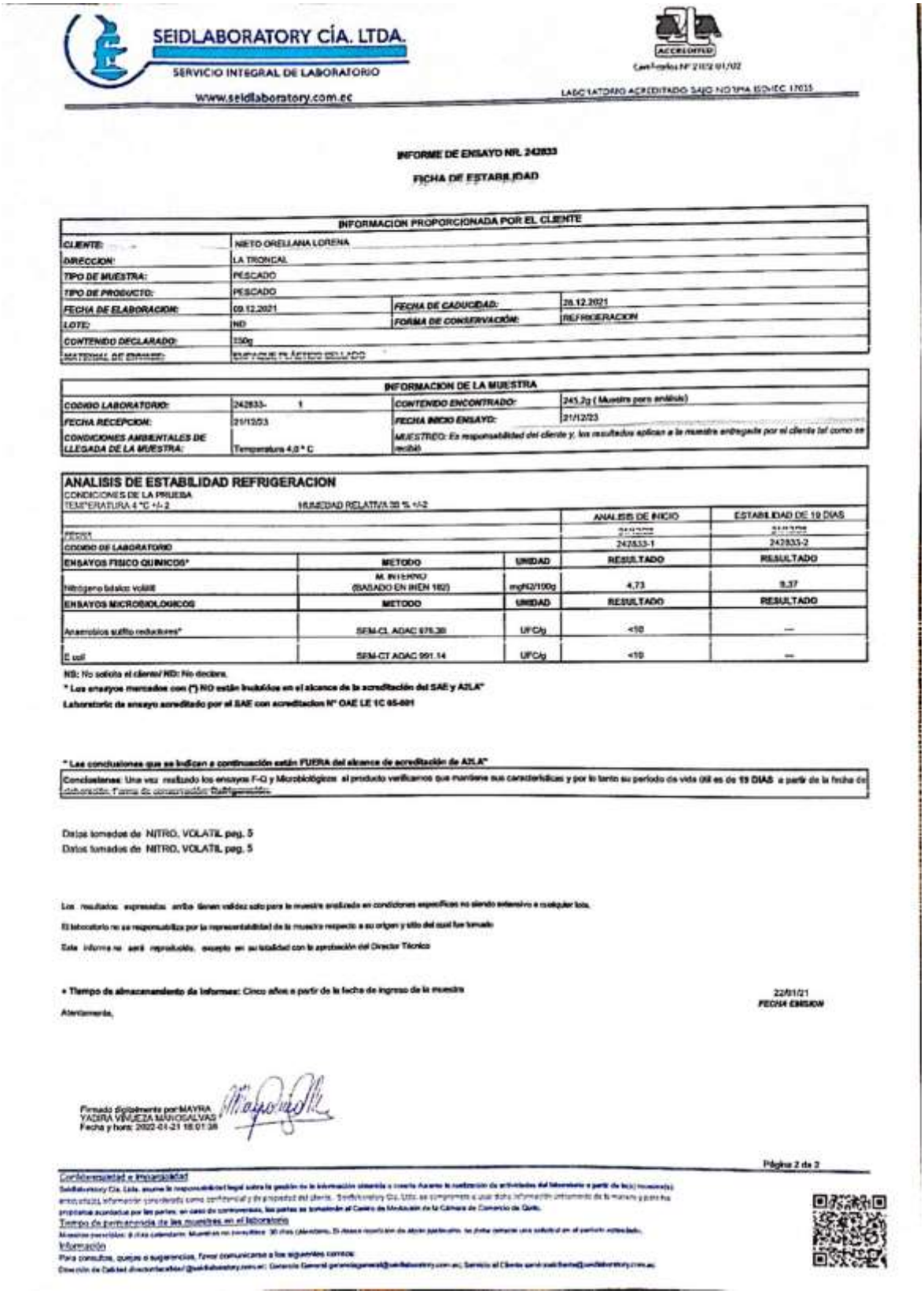
Página 2 de 2

Confidencialidad e imparcialidad

Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio

Información

Figura 35. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo) SEIDLABORATORY, 2022



SEIDLABORATORY CÍA. LTDA.
SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO
www.seidlaboratory.com.ec

ACCREDITED
LABORATORIO ACREDITADO SAE/ NORMA ISO/IEC 17025

INFORME DE ENSAYO NRL 242833

FICHA DE ESTABILIDAD

INFORMACION PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
CLIENTE:	NIETO ORELLANA LORENA		
DIRECCION:	LA TRONCAL		
TIPO DE MUESTRA:	PESCADO		
TIPO DE PRODUCTO:	PESCADO		
FECHA DE ELABORACION:	09.12.2021	FECHA DE CADUCIDAD:	28.12.2021
LOTE:	ND	FORMA DE CONSERVACIÓN:	REFRIGERACION
CONTENIDO DECLARADO:	250g		
MATERIAL DE ENVASE:	EMPAQUE PLÁSTICO SELLADO		

INFORMACION DE LA MUESTRA			
CODIGO LABORATORIO:	242833- 1	CONTENIDO ENCONTRADO:	245,2g (Muestra para análisis)
FECHA RECEPCION:	21/12/23	FECHA INICIO ENSAYO:	21/12/23
CONDICIONES AMBIENTALES DE LLEGADA DE LA MUESTRA:	Temperatura 4,0 ° C	MUESTREO: Es responsabilidad del cliente y, los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió	

ANALISIS DE ESTABILIDAD REFRIGERACION

CONDICIONES DE LA PRUEBA
TEMPERATURA 4 °C +/- 2 HUMEDAD RELATIVA 35 % +/-2

			ANALISIS DE INICIO	ESTABILIDAD DE 10 DIAS
FECHA			[illegible]	[illegible]
CODIGO DE LABORATORIO			242833-1	242833-2
ENSAYOS FISICO QUIMICOS*	METODO	UNIDAD	RESULTADO	RESULTADO
Nitrógeno básico volátil	M. INTERNO (BASADO EN INEN 182)	mgN2/100g	4,73	9,37
ENSAYOS MICROBIOLOGICOS	METODO	UNIDAD	RESULTADO	RESULTADO
Anaerobios sulfito reductores*	SFM-C1, AOAC 975.39	UFC/g	<10	—
E coli	SFM-CT AOAC 991.14	UFC/g	<10	—

NB: No solicita el cliente/ ND: No declara.
* Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE y AZLA*
Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditacion N° OAE LE 1C 05-001

* Las conclusiones que se indican a continuación están FUERA del alcance de acreditación de AZLA*

Conclusiones: Una vez realizado los ensayos F-Q y Microbiológicos al producto verificamos que mantiene sus caracteristicas y por lo tanto su periodo de vida útil es de 10 DIAS a partir de la fecha de elaboración. Forma de conservación: Refrigeración.

Datos tomados de NITRO_VOLATIL pag. 5
Datos tomados de NITRO_VOLATIL pag. 5

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

El laboratorio no se responsabiliza por la representatividad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomada

Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico

* Tiempo de almacenamiento de informes: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

22/01/21
FECHA EMISION

Atentamente,

Firmado digitalmente por MAYRA YADIRA VENEGAS MANOSALVAS
Fecha y hora: 2022-01-21 16:01:38

Página 2 de 2

Confidencialidad e imparcialidad

Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio

Información

Para consultas, quejas o sugerencias, favor comunicarse a los siguientes correos:

Figura 36. Resultado de SEIDLABORATORY (Laboratorio externo) SEIDLABORATORY, 2022