

doi: 10.30827/ars.v63i4.25982

Artículos originales

Quitosano de Cangrejos con actividad antimicrobiana en compotas artesanales de plátanos

Crab chitosan with antimicrobial activity in artisanal banana compotes

Jenny Huerta León¹  0000-0003-4744-7830

Jhonnell Samaniego Joaquin¹  0000-0002-0033-7119

David Puma Quispe¹  0000-0001-8647-9152

Jovana Soria Quispe¹  0000-0001-7921-0104

¹Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Lima, Perú.

Correspondencia

Jenny Huerta León
jenny.huerta@uma.edu.pe

Recibido: 14.08.2022

Aceptado: 14.09.2022

Publicado: 28.09.2022

Financiación

Propia

Conflicto de intereses

Ninguno

Resumen

Introducción: La importancia del quitosano se debe a sus propiedades químicas y biológicas ya que es biodegradable, bioactivo, poli catiónico y biocompatible, lo que le confiere una gran utilidad en la industria en aspectos biomédicos. La efectividad de sus derivados tales como la carboximetilquitosano está comprobada debido a que presenta propiedades como el ser soluble en agua y actuar como antimicrobiano en el algodón usado en la industria textil. El quitosano se extrae a partir de la quitina de los desechos de los crustáceos, siendo este polisacárido el segundo más abundante en la Naturaleza.

Método: El presente estudio es de tipo aplicado con diseño y nivel experimental de corte transversal. Se utilizó, por un lado, dos variedades de plátanos: plátano isla (*Musa paradisiaca*) y plátano pildorita (*Musa alinsanaya*); de otro lado, se usaron cangrejos procedentes de los Manglares de Tumbes. La muestra no probabilística fue de 10 compotas de cada tipo de plátano y una solución de quitosano al 80% (p/v). La técnica microbiológica utilizada para el análisis de hongos y levaduras fue el recuento en placa. Se consideró evaluar el efecto conservante del quitosano respecto al del benzoato sódico.

Resultados: En las muestras tratadas con quitosano (80% p/v), un 60% de ellas mostró ausencia de crecimiento y un 40% crecimientos de 5 UFC/g. Por otro lado, en las muestras tratadas con benzoato de sodio (0,1% p/v) no hubo crecimiento bacteriano en el 80% de los casos y sólo en un 20% hubo crecimientos de 10 UFC/g.

Conclusiones: el quitosano obtenido a partir de la quitina de cangrejo tiene efecto antimicrobiano sobre hongos y levaduras, cuando se utiliza en una proporción del 80% (p/v) en compotas procesadas de plátano peruano.

Palabras clave: quitosano; crecimiento bacteriano; plátano.

Abstract

Introduction: The importance of chitosan is due to its chemical and biological properties as it is biodegradable, bioactive, poly cationic and biocompatible, which gives it great utility in the industry in biomedical aspects. The effectiveness of its derivatives such as carboxymethylchitosan is proven due to its water-soluble and antimicrobial properties in cotton used in the textile industry. Chitosan is extracted from the chitin of crustacean waste, the second most abundant polysaccharide in nature.

Method: This is an applied study with a cross-sectional design and experimental level. Two varieties of plantain were used: island plantain (*Musa paradisiaca*) and pildorita plantain (*Musa alinsanaya*); on the other hand, crabs from the Tumbes mangroves were used. The non-probabilistic sample consisted of 10 compotes of each type of plantain and an 80% (w/v) chitosan solution. The microbiological technique used for the analysis of fungi and yeasts was the plate count. It was considered to evaluate the preservative effect of chitosan with respect to that of sodium benzoate.

Results: In the samples treated with chitosan (80% w/v), 60% of them showed no growth and 40% showed growths of 5 CFU/g. On the other hand, in the samples treated with sodium benzoate (0.1%) there was no bacterial growth in 80% of the cases and only in 20% there were growths of 10 CFU/g.

Conclusions: Chitosan obtained from crab chitin has an antimicrobial effect on fungi and yeasts, when used at a rate of 80% (w/v) in processed Peruvian plantain compotes.

Keywords: Chitosan; Bacterial Growth; Musa.

Puntos clave

La industria pesquera del departamento de Tumbes produce gran cantidad de residuos de crustáceos, siendo estos desechos la materia prima, que permite industrializar la quitina. En primer lugar, se aísla la proteína de los minerales, generalmente calcáreos y otros pigmentos. El quitosano es un derivado de la quitina y se obtiene por industrialización mediante tratamiento de desacetilación química o enzimática.

Introducción

El quitosano tiene transcendencia por sus propiedades químicas y biológicas debido a que es biodegradable, bioactivo, poli-catiónico y biocompatible⁽¹⁾; gracias a estas propiedades es muy utilizado en la industria biomédica. Se ha comprobado que derivados del quitosano como el carboximetilquitosano soluble en agua puede actuar como antimicrobiano en el algodón en la industria textil. El quitosano se extrae a partir de la quitina obtenida de los desechos de los crustáceos, siendo el segundo polisacárido más abundante en la Naturaleza.

En la industria alimentaria el quitosano se usa como aditivo (espesantes, gelificantes y emulsificantes)⁽²⁾, también como un clarificador en la industria de bebidas tales como el agua, el vino y el zumo de manzana, presentando la ventaja de que no afecta al color de las bebidas.

En la industria pesquera, como por ejemplo en el departamento de Tumbes, se generan residuos de crustáceos⁽³⁾; estos desechos sirven como materia prima para industrializar la quitina. Una de las etapas en este procedimiento consiste en aislar primero la proteína, minerales calcáreos y pigmentos. El quitosano es un derivado de la quitina que se obtiene en la industria mediante tratamiento de desacetilación química o enzimática. A pesar de que el quitosano tiene grandes propiedades⁽⁴⁾ y es abundante en la naturaleza, en la industria farmacéutica o alimentaria no ha sido admitido como un componente o un excipiente de las formulaciones. El quitosano es muy versátil ya que puede ser modificado físicamente y obtenerse en forma de polvo, perlas de gel, nano partículas, membranas, esponjas, en forma de panal, fibras o también fibras huecas.

El interés de encontrar nuevos recursos naturales que favorezcan a la humanidad ha llevado a indagar sobre la utilización de los desechos de la industria pesquera⁽⁵⁾, tal es el caso de los exoesqueletos de los crustáceos. Estos residuos que se generan en la industria pesquera son considerados contaminantes ambientales, sin embargo, de estos residuos se puede extraer la quitina, y de la quitina se puede obtener el quitosano. Estos biopolímeros a su vez tienen un alto valor nutricional.

Las principales causas de deterioro de alimentos se deben a microorganismos tales como levadura, hongos y bacterias⁽⁶⁾. Este deterioro causa grandes pérdidas económicas para los fabricantes, distribuidores y consumidores.

En la ciudad se ha incrementado el consumo de alimentos conservados para bebés y adultos de la tercera edad, la gran mayoría de estos alimentos no tienen la cantidad necesaria de nutriente o tienen en ella un conservante sintético⁽⁷⁾. Las compotas elaboradas con dos variedades de plátano y enriquecidas con frutas de la misma región cumplen con los requisitos del Codex alimenticio y la Organización de Mundial de la Salud.

En el año 1811 Braconnot extrajo la quitina por primera vez a partir de hongos superiores⁽⁸⁾, no obstante, de mayor importancia fueron los estudios de Hoppe-Seyler, quien agregándole hidróxido potásico concentrado a 180°C a la quitina, obtuvo una molécula soluble en ácido acético a la cual denominó quitosano.

La quitina es la materia prima del quitosano y de otros polímeros; este compuesto, se encuentra en animales (artrópodos, anélidos y moluscos) en hongos (ascomicetos, zigomicetos, basidiomicetos y deuteromicetos), aunque según sea la fuente presenta ciertas modificaciones químicas. Estas quitinas presentan diferentes características en su estructura cristalina según sea su fuente. La composición de la quitina no es un polímero amigable para incluirlo en el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas;

Es por ello, que debe ser procesada en un medio alcalino concentrado y a temperaturas altas de 60°C con el propósito de perder el resto acetilado del grupo acetamida del carbono 2; este tratamiento da lugar al quitosano. La quitina y su derivado el quitosano, a diferencia de los polímeros sintéticos, no genera inconvenientes en relación a su biodegradabilidad, biocompatibilidad y toxicidad, además de ser naturalmente abundantes y renovables.

El consumo de crustáceos tiene un alto valor y entre el 70% y 80% son desechos considerados contaminantes, los desechos de crustáceos pueden ser aprovechados para la obtención de dos biopolímeros, la quitina y su derivado funcional el quitosano⁽⁹⁾. En la actualidad, el quitosano es un producto que está generando mucha demanda. Este producto puede ser utilizado en la agricultura, industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, medicina, como por ejemplo en el tratamiento de quemaduras.

El proceso de obtención de la quitina se realiza en varias etapas: en primer lugar, se procede al acondicionamiento de la materia prima⁽¹⁰⁾, seguido de una desproteínización, desmineralización y decoloración; para obtención del quitosano, al producto obtenido se le realiza la desacetilación.

El quitosano en medio ácido presenta carga positiva debido a que se produce una protonización en cada una de sus unidades del grupo amino⁽¹⁵⁾. La glucosamina hace que sea soluble en medio acuoso, diferenciándolo de su polímero matriz. Según diversos autores la quitina tiene una alta actividad biocida y en algunos casos el quitosano ha mostrado una alta capacidad biocida frente a bacterias Gram positivas, como por ejemplo *S. aureus* y *B. cereus*. Esta capacidad biocida parece ser debida a que las cargas positivas del quitosano (NH_3^+) interaccionan con las cargas negativas de las membranas bacterianas.

El objetivo principal del estudio es determinar el efecto antimicrobiano del quitosano obtenido a partir de la quitina de cangrejos (*Chionectes opilio*) añadido en una compota artesanal obtenida a partir de dos especies de plátano peruano, plátano isla (*Musa paradisiaca*) y plátano pildorita (*Musa alinsanaya*).

Métodos

Diseño del estudio y población

El presente estudio se incluye en el ámbito de la investigación aplicada con enfoque cuantitativo⁽¹⁹⁾. Es de tipo experimental-explicativo y tiene como finalidad comprobar el efecto antimicrobiano del quitosano obtenido a partir de la quitina procedente de los crustáceos de los Manglares de Tumbes en compotas de dos variedades de plátano peruano: plátano isla (*Musa paradisiaca*) y plátano pildorita (*Musa alinsanaya*).

La técnica microbiológica utilizada para determinación del efecto antimicrobiano de la solución de quitosano fue el de recuento en placa. Se incluye el análisis de los siguientes parámetros: recuento del número de colonias de hongos y levaduras, observación del tipo de crecimiento, observación de la formación de esporas (conidios y esporangios), y formación de pigmentos; los resultados del recuento se exponen como UFC/g (unidades formadoras de colonia por gramo de muestra). Para el estudio del resto de parámetros la técnica utilizada fue la observación directa.

Variables de evaluación

La variable independiente fue la concentración de quitosano obtenido a partir de la quitina de cangrejos (*Chionectes opilio*); la concentración utilizada corresponde con la proporción de quitosano que puede ser disuelto. El producto final obtenido consiste en un polvo blanquecino resultado del proceso de desnaturalización de la quitina.

La variable dependiente fue el efecto antimicrobiano del quitosano que, a una concentración del 80%, presenta la capacidad de matar o inhibir el crecimiento microbiano. Este parámetro se evaluó mediante el procedimiento experimental midiendo el halo de inhibición del crecimiento microbiano.

Tratamiento utilizado

Obtención de quitosano. Se utilizó el método convencional; 1. Recolección, primera limpieza y separación del caparazón de los cangrejos de los Manglares de Tumbes. 2. Limpieza de la muestra con solución jabonosa de clorhexidina al 2% (p/v) en agua destilada. 3. Secado a 76°C. Cantidad obtenida de caparazones: 200,86 g. 4. Trituración de caparazones. Tras este proceso se obtuvo una cantidad de 136 g de los cuales sólo se utilizó 50 g. Despigmentación mediante tratamiento con metanol en frasco ámbar. 5. Desmineralización mediante tratamiento con HCl 0,6N durante 24h. En este proceso se eliminan sales orgánicas (CaCO₃). 6. Desproteínización y desacetilación mediante tratamiento con NaOH 0,3N a 65°C/90 min. 7. Secado a 40° C. 8. Adición de 392 ml de ac. acético (1%, v/v); el producto se mantuvo en caliente a 73°C durante 2h. 9. Precipitación del quitosano: filtrado y ajuste a pH =6 con ac. acético. 10. Se filtró nuevamente agregando agua destilada hasta neutralizar la muestra. 11. Secado del producto resultante (quitosano) a 40° C.

Cuantificación de hongos y levaduras. Medio de cultivo: Agar Sabouraud (Merck). Muestras iniciales: 10 compotas de plátano de cada tipo (isla y pildorita) + 80% de quitosano. Preparación de la muestra: se realizaron 3 diluciones (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³) de la muestra original en agua de peptona al 1%, p/v. Se sembraron 2 placas por muestra. La inoculación de las placas se utilizó mediante la técnica de incorporación; para ello se agregaron a las placas 1 ml de cada muestra diluida cubriéndose con una cantidad de agar. Tras homogenización con suaves movimientos rotatorios en ambos sentidos se dejó enfriar. Incubación a 25°C/ 7 días.

Análisis estadístico

Se llevó a cabo un análisis estadístico de medida de tendencia central y de dispersión. Además, se realizó el análisis estadístico inferencial para la comprobación de las hipótesis. Para el análisis de las diferencias significativas de las medias independientes se utilizó la prueba paramétrica chi cuadrado, considerándose un margen de error estadístico de 5%.

Ética y confidencialidad de los datos

Para la recolección de las muestras se utilizaron el menor número posible de cangrejos, pero con los que se logren obtener resultados estadísticamente significativos, de esta forma se consideró el impacto negativo en el bienestar de los animales involucrados.

Resultados y Discusión

Comparación del efecto antimicrobiano del quitosano obtenido de cangrejos (*Chionectes opilio*) con y sin el conservante (benzoato sódico).

Se exponen los resultados de la evaluación de las compotas artesanales de plátano isla (*Musa paradisiaca*) y plátano pildorina (*Musa alisanaya*) tratadas térmicamente, y adicionadas de quitosano (80%, p/v) y de conservante.

En la Tabla 1 se observa que las muestras sin tratamiento térmico evidenciaron un alto crecimiento microbiano (>1000 UFC/ml) en el 100% de las muestras analizadas. Este resultado fue mayor al de muestras con tratamiento térmico a excepción de aquellas muestras tratadas térmicamente, pero sin adición de conservante ni de quitosano. Por otro lado, se detectó ausencia de microorganismos en el 60% de muestras adicionadas de quitosano y en el 80% de muestras adicionadas de conservante, ambas tratadas térmicamente. Por otro lado, del total de las muestras de compotas tratadas con quitosano al 80%, el 40% presentaron un resultado de 5 UFC/g, mientras que en las muestras tratadas con conservante el 20% presentaron un resultado de 10 UFC/g; por último, las muestras con tratamiento térmico y sin conservante un 20% de los casos refirieron un resultado de 15 UFC/g.

Tabla 1: Comparación del efecto antimicrobiano expresado como recuento de hongos y levaduras de muestras de compotas de plátano, elaboradas artesanalmente y adicionada de quitosano al 80%, adicionada de conservante (benzoato sódico) y sin conservante.

Muestra de compota (n=5)	Recuento (UFC/g)	Frecuencia	Porcentaje de muestras (%)
T. término + quitosano (80%)	5	2	40
	Ausencia	3	60
T. térmico sin conservante	15	1	20
	25	1	20
	30	1	20
	>500	1	20
	>1000	1	20
T. térmico con conservante	10	1	20
	Ausencia	4	80
Sin tratamiento térmico	>1000	5	100

Tabla 2: Diferencias de medias de los valores en los recuentos de hongos y levaduras en los diferentes tratamientos realizados a muestras de compota de plátano artesanal

Muestra	N	Media	Desviación Estándar	Desv. Error promedio
T. Térmico + Quitosano 80%	5	2,00	2,739	1,225
T. Térmico Sin Conservante	5	314,00	4,355	1,947
T. Térmico Con Conservante	5	2,00	4,472	2,000
Sin Tratamiento Térmico	5	1000,00	0,000	0,000

En la Tabla 2, se expone la media de los recuentos microbianos de los cuatro grupos de muestras estudiados para evaluar la actividad antimicrobiana frente hongos y levaduras. Las muestras sin tratamiento térmico dieron como resultado recuentos muy superiores al resto de los grupos evaluados (1000 UFC/g), seguido de las muestras con tratamiento sin conservante, las cuales refirieron una media de 314 UFC/g; Por otro lado, se observa que el tratamiento con quitosano al 80% (p/v) y con conservante dieron como resultado una media de 2 UFC/g en ambos casos.

Tabla 3: Prueba Anova de los recuentos de hongos y levaduras en los diferentes tratamientos antimicrobianos en una compota de plátano artesanal.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Prueba de Fisher	Sig.
Entre grupos	3321615,000	3	1.107.205,000	23,344	0,000
Dentro de grupos	758880,000	16	47.430,000		
Total	4080495,000	19			

*Valores de p significativo a un nivel de significancia de 0,05

En la Tabla 3, se describe la prueba de Anova de un factor, donde el valor del nivel de significancia (Sig.) es 0,000 entre los grupos con diferentes tratamientos analizados para el recuento de hongos y levadu-

ras. Este resultado es menor que el nivel de significancia de 0,05 donde p-valor es menor que 0,05 y por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la hipótesis (H1)

Tabla 4: Comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey de los recuentos de hongos y levaduras en los tratamientos de una compota de plátano artesanal.

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
D	A	-312,000	0,148
	B	0,000	1,000
	C	-998,000*	0,000
A	D	312,000	0,148
	B	312,000	0,148
	C	-686,000*	0,001
B	D	0,000	1,000
	A	-312,000	0,148
	C	-998,000*	0,000
C	D	998,000*	0,000
	A	686,000*	0,001
	B	998,000*	0,000

A: Tratamiento térmico sin conservante. B: Tratamiento térmico con conservante. C: Sin tratamiento térmico.

D: Tratamiento térmico + quitosano (80%, p/v).

*Desv. error para todas las muestras es de 137,739.

En la Tabla 4, al comparar las diferencias entre las medias de los valores obtenidos en los recuentos de hongos y levaduras en los diferentes tratamientos de efecto antimicrobiano de una compota de plátano artesanal, se observa que las muestras bajo tratamiento térmico + quitosano al 80% (D) no indican diferencias significativas con las muestras tratadas con y sin conservante al ofrecer una significancia de $p=0,148$ y $p=1,000$ respectivamente, mayores al nivel de significancia establecido en la investigación ($p>0,05$). Mientras que, con las muestras sin tratamiento térmico (C), se evidencian diferencias significativas $p\text{-valor}=0,000$.

Las muestras bajo tratamiento térmico sin conservante (A) no refieren diferencias significativas con los grupos de tratamientos de quitosano al 80% ($p=0,148$) y con conservante ($p=0,148$). Sin embargo, si se evidencian diferencias significativas con el grupo que no recibió tratamiento ($p=0,001$).

Por su parte, las muestras bajo tratamiento térmico con conservante (B) no refieren diferencias significativas con los grupos de tratamientos de quitosano al 80% ($p=1,000$) y sin conservante ($p=0,148$), evidenciando diferencias significativas con el grupo que no recibió tratamiento ($p=0,000$).

De esta manera a través de los resultados obtenidos en la prueba de Tukey se verifica que los recuentos de hongos y levaduras en las muestras de compota de plátano artesanal entre los grupos son iguales para las muestras tratadas con quitosano al 80% (p/v), con y sin conservante (benzoato sódico), y diferente para las muestras que no recibieron tratamiento. Es decir, en el estudio planteado se verifica que el quitosano surte un efecto antimicrobiano frente a hongos y levaduras.

Tabla 5: Subconjuntos agrupados en la prueba de Tukey del recuento de hongos y levaduras en los tratamientos de una compota de plátano artesanal.

Muestra: Compota	Numero de muestra	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Tratada térmicamente + quitosano 80%	5	2,00	
Tratada térmicamente + benzoato sódico	5	2,00	
Tratada térmicamente - benzoato sódico	5	314,00	
Sin tratamiento térmico	5		1000,00
Sig.		0,148	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
Se utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000

En la Tabla 5, según las medias obtenidas de los recuentos de hongos y levaduras, y de acuerdo con la prueba de Tukey no existen diferencias entre los tratamientos térmicos + quitosano al 80%, tratamiento térmico con y sin conservante, dado que se alinean en el mismo grupo (1), mientras que las muestra que no recibieron tratamiento por presentar diferencias significativas se alinean al grupo 2.

Los resultados de la presente investigación acerca del efecto antimicrobiano del quitosano obtenido de la quitina de los cangrejos de los Manglares de Tumbes, exponen que el recuento de hongos y levaduras en las muestras de compotas de plátanos artesanales tratadas con quitosano al 80%, mostraron que del total de muestras analizadas (n= 5), en el 60% no crecieron ni hongos ni levaduras y en el 40% hubo crecimientos de 5 UFC/g de estos microorganismos. Es decir, el quitosano al 80% surte un efecto antimicrobiano en las muestras de compotas procesadas, dado que existe una mayor proporción donde no crecen ni hongos ni levaduras.

En los resultados estadísticos se evidencia un p valor Sig.= 0,000 asociado al coeficiente F= 23,344 de la prueba de análisis de varianza (Anova) en los recuentos de hongos y levaduras en los diferentes tratamientos antimicrobianos en las muestras de compota de plátano artesanal, que por ser mayor al nivel de significancia establecido ($p>0,05$), indica que existen diferencias entre el valor medio de los diferentes tratamientos en las muestras de compotas artesanales. De esta manera a través de los resultados obtenidos en la prueba de Tukey se verifica que los recuentos de hongos y levaduras en las muestras de compota de plátano artesanal entre los grupos son iguales para las muestras tratadas con quitosano al 80%, sin y con conservante (benzoato sódico), y diferente para las muestras que no recibieron tratamiento. Es decir, en el estudio planteado se verifica que el quitosano tiene un efecto antimicrobiano.

Conclusiones

El quitosano obtenido a partir de la quitina de cangrejos procedentes de los Manglares de Tumbes tiene efecto antimicrobiano en las muestras de compotas procesadas de dos variedades de plátano peruano.

El efecto antimicrobiano contra hongos y levaduras en muestras de compotas procesadas se produce a una concentración óptima de quitosano al 80%.

Se obtuvieron resultados similares al comparar el quitosano de cangrejos al 80% y el conservante benzoato sódico en compotas artesanales de dos especies de plátano peruano.

Bibliografía

1. Tang Z-X, Qian J-Q, Shi L-E. Preparation of chitosan nanoparticles as carrier for immobilized enzyme. *Appl Biochem Biotechnol*. 2007;136(1):77-96. DOI: 10.1007/bf02685940
2. Fikry M Reicha, Afaf Sahan, Maysa I, Abdel -Hamid, Ibrahim M, El-Sherbiny. Preparation of silver nanoparticles in the presence of chitosan by electrochemical method. *Carbohydrate Polym*. 2012; 89(1):236-244. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.002
3. Araya L. Meneses. Influencia de Algunos Ácidos Orgánicos Sobre las Propiedades Físico-Químicas de Películas de Quitosano Obtenidas a Partir de Desechos de Cangrejos. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*. Ecuador. 2010; 23(1): 143-148. Disponible en: <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/47/19>
4. Hidalgo C, Fernández M, Nieto O, Paneque A, Fernández G, Llopiz J. Estudio de Quitosanos Cubanos Derivados de la Quitina de la Langosta. *Rev Iberoam Polím. La Habana*. 2009; 10(1): 11-27. Disponible en: <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/07/2009-hidalgo.pdf>
5. Nidia Paz et al. Optimización del Proceso de Obtención de Quitosano Derivada de la Quitina de Langosta. *Rev Iberoam Polím. La Habana*. 2012; 13(3): 103-116. Disponible en: <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/07/2012-paz.pdf>
6. Rodríguez E. Uso de agentes Antimicrobianos Naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 2011; 7(1): 153-170. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46116742014>
7. Troncoso C. Alimentación del adulto mayor según lugar de residencia. *Horiz Med*. 2017; 17(3): 10. DOI: 10.24265/horizmed.2017.v17n3.10
8. Cabrel Rengifo S, Untiveros Bermúdez G, Aguilar Olano JL. Influencia del pH en la liberación del factor de crecimiento de plaquetas (PDGF-BB) a partir de un hidrogel a base de B-quitosano. *Rev Soc Quim Peru*. 2019; 85(4): 440-451. DOI: 10.37761/rsqp.v85i4.258
9. Pesantez F, Cuenca-Torres M. Obtención de quitosano provenientes del cangrejo rojo combinado con almidón de banano para formar filmes. *Conference Proceedings UTMACH*. 2018; 2(1):179-187. Disponible en: <https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/328/270>
10. Colina M, et al. Evaluación de los Procesos para la Obtención Química de Quitina y Quitosano a Partir de Desechos de Cangrejos. *Escala piloto e Industrial. Rev Iberoam Polím. La Habana*. 2014; 15(1); 21-43. Disponible en: <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/07/2014-colina.pdf>
11. Realpe AM, Humberto O. Alimentación Complementaria en el Primer Año Vida. *GastrohNup*. 2016; 18(1): 43-47. DOI: 10.25100/gnup.v18i1.1254
12. Davidson M, Taylor T, Schmidt S. *Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds*. 4ª ed. Editores Michael P. Doyle, Roberto L. Buchanan. 2012. DOI:10.1128/9781555818463.ch30
13. Luna J, Hernández I, Rojas A, Cadena M. Estado Nutricional y neurodesarrollo en la primera infancia. *Rev Cubana Salud Pública*. 2018; 44(4): 169-185. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v44n4/1561-3127-rcsp-44-04-169.pdf>
14. López B, Carvajal de Pabon L, Elaboración de un alimento con base en harina de banano (*Musa paradisiaca*) fortificada con hierro y zinc aminoquelados, calcio microencapsulado y folato. *Perspect Nut Hum*. 2012; 14(1): 47-57. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/penh/v14n1/v14n1a5.pdf>
15. Younes I, Rinaudo M. Chitin and Chitosan preparation from marine source. Structure, properties and applications. *Mar Drug*. 2016 13(3): 1133-74 DOI: 10.3390/md13031133
16. Lárez C. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*. 2008; 8(1):1-22. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg08002>
17. Pérez A et al. Actividad antibacteriana de soluciones ácidas de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón. *Rev Colomb Biotechnol*. 2014; 16(1): 104-110. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v16n1.44251

- 18.** Valenzuela C, Arias J. Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión. *Avances En Ciencias Veterinarias*. 2012; 27(1). DOI: 10.5354/acv.v27i1.21997
- 19.** Carrasco Diaz S. Metodología de la Investigación Científica: pautas metodológicas para diseñar y elaborar el proyecto de investigación. 2da edición Lima-Perú: Editorial San Marcos, 2013.272 P.
- 20.** Mármol Z, et al. Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*. 2011; 1. 53-58. Disponible en: file:///C:/Users/jhonn/Downloads/Quitinayquitosano.pdf

© BY-NC-SA 4.0