

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**DESARROLLO DE RECUBRIMIENTO Y PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE
MUCILAGO DE CACAO Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO APLICADO A
FILETE DE TILAPIA**

POR:

GLORIA XIOMARA ALMENDAREZ PINEDA

ANTEPROYECTO DE TESIS



CATACAMAS

JUNIO, 2024

OLANCHO

**DESARROLLO DE RECUBRIMIENTO Y PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE
MUCILAGO DE CACAO Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO APLICADO A
FILETE DE TILAPIA**

POR:

GLORIA XIOMARA ALMENDAREZ PINEDA

ZOILA ESPERANZA FLORES HERNANDEZ
Asesor principal

ANTEPROYECTO DE TESIS

**PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA REALIZACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL
SUPERVISADO**

CATACAMAS

JUNIO, 2024

OLANCHO

CONTENIDO

	pág
I INTRODUCCIÓN.....	5
II OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo general	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
III HIPÓTESIS	7
3.1 Pregunta problema.....	7
IV MARCO TEÓRICO	8
4.1 Fundamentos científicos y conceptuales sobre los recubrimientos y las películas comestibles.....	8
4.1.1 Composición de las matrices estructurales de los recubrimientos y Películas Comestibles	9
4.1.2 Condición legal de los recubrimientos y películas comestibles.	9
4.2 Propiedades y características del mucílago de cacao	10
4.2.1 Cacao	10
4.2.2 Mucilago de cacao	10
4.2.3 Propiedades y composición del mucílago de cacao.....	11
4.3 Actividades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de orégano	12
4.3.1 Características y propiedades de los aceites esenciales.....	12
4.3.2 <i>Plectranthus amboinicus</i> como Fuente de Aceites Esenciales.....	12
4.3.3 Propiedades Antimicrobianas del <i>Plectranthus amboinicus</i>	12
4.4 Filete de Tilapia como sustrato para recubrimientos comestibles.....	13
4.4.1 Filete de tilapia como producto pesquero en Honduras	13
4.4.2 Desafíos en la Conservación y Calidad del Filete de Tilapia	14

V	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1	Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación.....	15
5.2	Materiales y equipo	15
5.3	Método.....	16
5.4	Metodología.....	16
5.5	Mediciones analíticas en filetes de tilapia para evaluar la efectividad del recubrimiento comestible.....	21
5.5.1	Parámetros físicos.....	21
5.5.2	Parámetros químicos	22
5.1	Mediciones analíticas para evaluar la película comestible	23
5.1.1	Parámetros físicos.....	23
5.1.2	Parámetros químicos:	23
5.1.3	Parámetros microbiológicos	24
5.2	Diseño experimental	24
5.3	Análisis estadístico	25
VI	CRONOGRAMA	26
VII	PRESUPUESTO.....	27
VIII	BIBLIOGRAFÍA	28

I INTRODUCCIÓN

La búsqueda de alternativas sostenibles y eficientes para la conservación de alimentos ha impulsado a la ciencia de alimentos a explorar el uso de recubrimientos y películas comestibles (Díaz y Castro 2021). Estas tecnologías, formuladas a partir de biopolímeros naturales, ofrecen una promesa significativa para mejorar la vida útil y la calidad sensorial de productos alimenticios como los filetes de tilapia (Chaparro *et al.* 2015).

El mucílago de cacao es un subproducto de la industria del cacao que posee una composición rica en azúcares, pectina y ácido cítrico, lo que lo convierte en un componente ideal para la elaboración de matrices estructurales en recubrimientos comestibles (Vallejo *et al.* 2016). La pectina, en particular, ha demostrado ser un agente gelificante eficaz que contribuye a la integridad y funcionalidad del recubrimiento (Kumar *et al.* 2022).

Por otro lado, el aceite esencial de orégano, obtenido del *Plectranthus amboinicus*, es conocido por sus propiedades antimicrobianas, atribuidas principalmente a la presencia de carvacrol y timol (Burt 2004). Estos compuestos fenólicos actúan sobre la membrana celular de microorganismos patógenos, inhibiendo su crecimiento y previniendo el deterioro de los alimentos (Leyva *et al.* 2017)

En este contexto, el presente estudio se enfoca en el desarrollo de un recubrimiento comestible que contribuya a la conservación de los filetes de tilapia, utilizando mucílago de cacao y aceite esencial de orégano (*Plectranthus amboinicus*), dos componentes con propiedades antimicrobianas y antioxidantes reconocidas. Así mismo, se propone aislar este recubrimiento como una película comestible para la evaluación de sus propiedades y características de formación; con una metodología que permita la determinación de las condiciones óptimas para el desarrollo del recubrimiento y la película comestible.

II OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Desarrollar un recubrimiento comestible a base de mucilago de cacao y aceite esencial de orégano, con el propósito de conservar la calidad de los filetes de tilapia.

2.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la concentración de mucílago de cacao y su interacción con el aceite esencial de orégano en el desarrollo de emulsiones para uso en películas y recubrimientos comestibles.

Elaborar películas a base de las emulsiones y analizar sus propiedades funcionales.

Analizar el efecto de la aplicación de las emulsiones mediante la técnica de inmersión, sobre los parámetros de calidad de filetes de tilapia almacenados en refrigeración.

III HIPÓTESIS

3.1 Pregunta problema

¿Es posible que el recubrimiento a base de mucílago de cacao y aceite esencial de orégano conserve la calidad de los filetes de tilapia?

Hipótesis nula (H0): La aplicación del recubrimiento a base de mucílago de cacao y aceite esencial de orégano no aumentará el tiempo de vida útil del filete de tilapia almacenado en refrigeración.

Hipótesis alternativa (H1): Con la aplicación del recubrimiento a base de mucílago de cacao y aceite esencial de orégano se aumentará el tiempo de vida útil del filete de tilapia almacenado en refrigeración.

IV MARCO TEÓRICO

4.1 Fundamentos científicos y conceptuales sobre los recubrimientos y las películas comestibles

Un recubrimiento comestible se define como el revestimiento de un producto vegetal con una o varias capas finas de material polimérico natural y comestible, mientras que la película comestible es también una capa (o varias) fina de material polimérico comestible pero que es primero preformada y después colocada sobre el alimento o entre componentes de este (De Ancos *et al.* 2015).

Por tanto, la principal diferencia entre recubrimiento y película comestibles es que los recubrimientos son aplicados en forma líquida por inmersión o pulverización formándose la película sobre el alimento, mientras que las películas son primero preformadas como láminas sólidas y después colocadas ya formadas sobre el alimento (Valencia *et al.* 2011).

Hoy en día los recubrimientos comestibles son considerados una tecnología prometedora y respetuosa con el medio ambiente ya que reduce la utilización del envasado tradicional como films plásticos. Además, son biopolímeros naturales y biodegradables, es decir, que pueden ser obtenidos a partir de recursos naturales o extraídos a partir de los subproductos de las industrias agroindustriales (Elsabee y Abdou 2013). También son bioactivos cuando se incorporan en su matriz polimérica aditivos naturales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (De Ancos *et al.* 2015).

Los recubrimientos comestibles pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de polisacáridos, proteínas y lípidos, solos o en combinaciones que logren aprovechar las ventajas de cada grupo, dichas formulaciones pueden incluir, conjuntamente plastificantes y

emulsificantes que se utilizan de diversa naturaleza química con la finalidad de ayudar a mejorar las propiedades finales del recubrimiento (Fernández y Bautista 2015).

4.1.1 Composición de las matrices estructurales de los recubrimientos y Películas Comestibles

Según Dhall (2013), los recubrimientos y las películas comestibles son biopolímeros que dependiendo del tipo de compuesto que incluyen en su formulación se pueden agrupar en tres categorías:

- **Hidrocoloides:** forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y actúan como una barrera efectiva para los gases como el oxígeno (O₂) y dióxido de carbono (CO₂). Sin embargo, no son completamente efectivos para prevenir la transmisión de vapor de agua. Están compuestos por polisacáridos derivados de celulosa, almidón, quitosano, alginatos, carragenanos, gelanos y pectinas de fruta, así como por proteínas de origen animal como gelatinas, caseínas y albúminas (proteínas de suero de leche), o de origen vegetal como soja y zeína de maíz.
- **Lípidos:** están compuestos por compuestos hidrofóbicos no poliméricos con buenas propiedades de barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar películas. Reducen la transpiración, la deshidratación y la abrasión durante la manipulación posterior, y pueden mejorar el brillo y el sabor. Generalmente son ceras (carnauba, abeja), ácidos grasos y monoglicéridos (glicerol).
- **Compuestos:** son formulaciones mixtas de hidrocoloides y lípidos. En general, los lípidos aportan resistencia al vapor de agua, mientras que los hidrocoloides proporcionan permeabilidad selectiva al O₂ y CO₂, así como una buena cohesión estructural, integridad y durabilidad.

4.1.2 Condición legal de los recubrimientos y películas comestibles.

De acuerdo con el Código de Regulaciones Federales – FDA, los recubrimientos y las películas comestibles deben cumplir los requerimientos exigidos a los alimentos, ingredientes y aditivos alimentarios, a los materiales en contacto con los alimentos y a los materiales de envasado. Además, al ser un elemento comestible, todos los materiales, elementos formadores de la película o ingredientes funcionales, deben ser aptos para el consumo humano.

4.2 Propiedades y características del mucílago de cacao

La Organización Internacional del Cacao (ICCO), indica que Honduras es el quinto productor de cacao a nivel mundial, con una producción anual de alrededor de 150,000 toneladas métricas. El proceso de producción de cacao en Honduras involucra desde el cultivo y cosecha de las mazorcas hasta el beneficiado de las semillas, pasando por la fermentación y el secado.

4.2.1 Cacao

El cacao es un árbol tropical de la familia de las *Malvaceae*, se conoce científicamente como *Theobroma cacao* L., con este se elaboran diversos subproductos agroeconómicos (polvo y manteca de cacao, entre otros), del fruto se emplea sólo el 10% de su masa fresca y el resto es desechado causando problemas ambientales debido al desconocimiento de sus propiedades y características (Castillo *et al.* 2018).

4.2.2 Mucilago de cacao

El mucílago de cacao o pulpa es un tejido blanco que recubre el grano dentro del fruto, compuesto por células esponjosas parenquimatosas que tienen origen en el tegumento de la semilla (Jayeola *et al.* 2018).

El mucílago desempeña un papel crucial en la fermentación del grano de cacao al servir como sustrato para microorganismos como levaduras y bacterias, los cuales son responsables de llevar a cabo este proceso. Sin embargo, debido a las alteraciones que produce en el perfil sensorial del grano, no se utiliza en su totalidad, sino solo un pequeño porcentaje. Se elimina entre el 20% y el 60% del mucílago antes del proceso de fermentación, convirtiéndolo en un subproducto importante del cacao. Por lo tanto, es necesario mejorar la tecnología en las plantaciones para reducir el impacto ambiental al gestionarlo adecuadamente.

4.2.3 Propiedades y composición del mucílago de cacao

Según Vallejo *et al.* (2016) establecen que el mucílago de cacao contiene de 10 a 15% de azúcares, 1% de pectina y 1,5% de ácido cítrico. Así mismo, parte de este mucílago o pulpa es necesaria para la producción de alcohol y ácido acético en la fermentación de las almendras, pero, entre el 5 a 7% drena como exudado. El mucílago de cacao es una sustancia rica en compuestos bioactivos, incluyendo polifenoles, fibra dietética, minerales y vitaminas, está compuesto por agua, proteína, azúcares, glucosa, pectinas, ácidos orgánicos y cenizas.

Tabla 1. Composición química del mucílago de cacao

Componentes	Porcentaje* (%)
Agua	79,2 – 84,2
Proteína	0,09 – 0,11
Azúcares	12,50 – 15,9
Glucosa	11,6 – 15,32
Pectinas	0,9 – 1,19
Ácido cítrico	0,77 – 1,52
Cenizas	0,40 – 0,50

*Los resultados se reportan en base húmeda

Fuente: (Ortiz y Álvarez 2015)

4.3 Actividades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de orégano

En los últimos años, la industria alimentaria ha explorado el empleo de compuestos naturales como sustitutos de los conservantes químicos convencionales. El propósito de estos estudios es encontrar soluciones más sostenibles que puedan mantener la inocuidad de los alimentos sin depender de aditivos artificiales. En este sentido, ha surgido un notable interés en las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales, ya que su aplicación como aditivos naturales parece ser eficaz para reemplazar a los conservantes sintéticos.

4.3.1 Características y propiedades de los aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son un grupo interesante de sustancias obtenidas a partir de material vegetal; casi exclusivamente de flores, hojas, cortezas, maderas, raíces, rizomas, frutos y semillas (Burt 2004). Se caracterizan por ser líquidos y presentar una consistencia aceitosa con características aromáticas pronunciadas y agradables (Bassolé y Juliani 2012). Tienen una composición química compleja; los principales componentes de los AE son los terpenos y compuestos alifáticos, los cuales confieren propiedades antibacterianas y antifúngicas (Santos *et al.* 2008).

4.3.2 *Plectranthus amboinicus* como Fuente de Aceites Esenciales

El orégano, comprende diversas especies de plantas que son utilizadas con fines alimenticios y es una fuente importante de aceites esenciales. El *Plectranthus amboinicus*, también conocido como oreganón, es una planta perenne perteneciente a la familia Lamiaceae. Posee propiedades de conservación de alimentos, anticancerígenas, plaguicidas y antimicrobianas (Morales *et al.* 2021). Esta planta es cultivada comúnmente en Honduras, especialmente a escala doméstica en poblaciones rurales y urbanas.

4.3.3 Propiedades Antimicrobianas del *Plectranthus amboinicus*

Estudios realizados por Cardona y Díaz (2022), han identificado el carvacrol y el timol como los principales compuestos del *Plectranthus amboinicus*, a los cuales se les atribuye propiedades antisépticas, bactericidas y antioxidantes, además, contienen flavonoides y terpenos que son inhibidores de bacterias Gram positivas y negativas. Su extracto tiene actividad bactericida contra patógenos, alterando la permeabilidad de la membrana celular (Goyena y Fallis 2019). Las hojas del orégano también contienen monoterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, sesquiterpenoides, fenoles, flavonoides y ésteres (García *et al.* 2019).

4.4 Filete de Tilapia como sustrato para recubrimientos comestibles

La tilapia es uno de los principales productos pesqueros de Honduras, es una fuente importante de ingresos para los acuicultores y las comunidades rurales, con una producción anual de alrededor de 50,000 toneladas (FAO 2022). Siendo cultivado principalmente en estanques y jaulas de tierra, en gran parte del territorio hondureño, principalmente en los departamentos de Cortés, Atlántida, Copán, Comayagua y Olancho; este se consume tanto en el mercado nacional como internacional. Este rubro genera empleo en la producción, procesamiento, distribución y comercialización del producto (SAG 2021). El cultivo intensivo y relativamente sencillo de tilapia, junto con su sabor agradable y alto valor nutricional, la han convertido en una fuente de proteína accesible para la población hondureña (Green 2000).

4.4.1 Filete de tilapia como producto pesquero en Honduras

Los filetes son las masas musculares de pescado (tilapia) de la misma especie, aptas para el consumo humano; de tamaño y forma irregulares que se separan del cuerpo del pescado mediante cortes netos, paralelos a la columna vertebral, así como los trozos en que se cortan dichas lonjas para facilitar el envasado, elaborados en conformidad con las definiciones

contenidas en la presenta norma (CFC *et al.* 2001). El filete de tilapia hondureño es apreciado por su sabor suave, textura firme y bajo contenido de grasa (FAO 2022).

Desde el punto de vista nutricional, la tilapia es una excelente fuente de proteínas de alto valor biológico, ácidos grasos omega-3, vitaminas y minerales esenciales (FAO 2013). Su consumo regular se ha asociado con diversos beneficios para la salud, como la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares, la mejora de la función cognitiva y el fortalecimiento del sistema inmunológico (Jayedi y Shab-Bidar 2020).

4.4.2 Desafíos en la Conservación y Calidad del Filete de Tilapia

A pesar de sus múltiples beneficios, la conservación y calidad del filete de tilapia durante su almacenamiento y distribución representan un desafío importante. La tilapia es un producto altamente perecedero, susceptible a la descomposición microbiológica y a la pérdida de textura y sabor (Khalafalla *et al.* 2015). Estos factores limitan la vida útil del producto y generan pérdidas económicas significativas para los productores y comercializadores.

Tabla 2. Tabla de almacenamiento en refrigerador y congelador

Tipo de Pescado	Refrigerador (4° C)	Congelador (-18° C)
Pescados magros	1 – 2 días	6 – 8 meses
Pescados grasos	1 – 2 días	2 – 3 meses
Pescado cocido	3 – 4 días	4 – 6 meses
Pescado ahumado	14 días	2 meses

Fuente: (FDA 2018)

V MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación

La investigación se llevará a cabo en las instalaciones de la Universidad Nacional de Agricultura (UNAG), campus central, en Catacamas, Olancho, Honduras. Gran parte del estudio será realizado en el laboratorio de Bromatología de Alimentos, laboratorio de Microbiología de dicha institución.

5.2 Materiales y equipo

Para el desarrollo de la investigación se hará uso de diferentes materiales y equipos los cuales se describe en la tabla 3 y a lo largo de la metodología descrita.

Tabla 3. Materia prima a utilizar durante la investigación.

Materia prima	Descripción
Mazorcas de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	Las mazorcas de cacao serán recolectadas y almacenadas para luego extraer de ellas el mucílago.
Hojas secas de orégano (<i>Plectranthus amboinicus</i> L.)	El orégano fue sembrado con antelación en el mes de abril y luego deshidratado para extraer el aceite esencial.
Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	La Tilapia será obtenida del área de piscicultura de la UNAG. Después del proceso de fileteado, se estima un rendimiento de aproximado del 35% del peso total de los peces. Estos filetes servirán como sustrato para la aplicación del recubrimiento comestible.

5.3 Método

En la presente investigación se empleará el método de investigación experimental para determinar el efecto de la proporción de mucílago de cacao y su interacción con el aceite esencial de orégano en el desarrollo de emulsiones para uso en películas y recubrimientos comestibles. Se espera que este enfoque experimental proporcione información valiosa la conservación de los filetes de tilapia. Asimismo, esta investigación se desarrollará durante los meses de junio – septiembre del 2024.

5.4 Metodología

Para el cumplimiento de los objetivos de investigación, se emplearán seis fases experimentales descritas a continuación.

Fase 1. Obtención del mucílago de cacao

Para esta fase se empleará la metodología propuesta por Santana *et al.* (2018) con ligeras modificaciones. Este proceso meticuloso garantizará la obtención de un mucílago puro, seguro y de alta calidad para su uso en diversas aplicaciones dentro de la industria alimentaria.

Descripción de operaciones

1. **Recepción de las mazorcas de cacao:** Se obtendrán los frutos de cacao como materia prima para la extracción de su mucílago.
2. **Clasificación:** Se seleccionarán las mazorcas que se encuentren libres de enfermedades.
3. **Lavado y desinfección:** Los frutos de cacao serán sometidos a un proceso de enjuague con agua clorada en una proporción de 100 ppm, teniendo en cuenta que la concentración del hipoclorito de sodio a utilizar es del 0.01%.

4. **Troceado:** Se cortarán la mazorca de forma transversal y longitudinal de manera que facilite la extracción de las almendras mucilaginosas.
5. **Extracción del mucílago de cacao:** Con un lienzo de manta de 100 cm, en el cual se colocarán las almendras de cacao y ejerciendo presión se extraerá el líquido mucilaginoso, recolectándolo en un recipiente de acero inoxidable.
6. **Filtración:** Las partículas en suspensión que se encuentren en el mucílago se eliminarán a través de un filtrado empleando tela lienzo.
7. **Pasteurización:** Se llevará a pasteurización rápida en un recipiente de acero inoxidable, a una temperatura de 75 °C por un periodo de 15 minutos, para inactivar las enzimas presentes en el mucílago con el objetivo de evitar el pardeamiento enzimático y la eliminación de los microorganismos patógenos.

Fase 2. Obtención del aceite esencial de orégano

En el estudio realizado por Vera y Zambrano (2017), se utilizará la técnica de arrastre de vapor para extraer el aceite esencial de orégano. Por lo tanto, los mismos principios de esta técnica serán empleados en esta investigación.

Descripción de operaciones

1. **Preparación de la materia prima:** Las hojas de orégano se secarán a temperatura ambiente y luego se molerán.
2. **Extracción del aceite esencial:** El orégano se colocará en el equipo de arrastre de vapor. Añadiendo agua destilada se llevará a temperatura la mezcla hasta que el vapor de agua arrastre el aceite esencial.
3. **Separación del aceite esencial:** Agregando agua al aceite esencial se separará, seguidamente se condensará mediante decantación.
4. **Determinación del rendimiento:** Se medirá el volumen del aceite obtenido y se aplicará la fórmula de rendimiento para calcular el rendimiento de extracción.
5. **Recolección y almacenamiento:** Condensado el aceite será envasado en frascos de vidrio de ámbar.

Fase 3. Formulación y elaboración de la emulsión para el recubrimiento y película comestible

Para el desarrollo del recubrimiento y película comestible, se utilizarán diferentes proporciones para cada uno de los ingredientes que lo conforman. Como matriz, se ha establecido el mucílago de cacao, con el que se trabajará en dos concentraciones diferentes (25% y 30%); la cantidad de plastificante (glicerol al 1%) a utilizar será del 20%. Como compuesto funcional, se adicionará aceite esencial de orégano a una concentración del 2%. Asimismo, el agua destilada será el agente disolvente empleado, y se adicionará la cantidad requerida en mililitros hasta alcanzar el 100% de la composición total. Así, se obtendrán seis formulaciones, como se detalla en la tabla 4.

Tabla 4. Porcentajes para la formulación del recubrimiento comestible

Componente	Materia Prima	Concentración	
Matriz	Mucílago de cacao	25%	30%
Compuesto funcional	Aceite esencial de orégano	2%	2%
Plastificante	Glicerol al 1%	20%	20%
Disolvente	Agua destilada	53%	48%
Total		100%	100%

Fuente: propia

La preparación del recubrimiento comestible se hará siguiendo la metodología empleada por (Acurio y Balseca, 2021). Con ciertas modificaciones en cuanto tiempos y temperaturas, pero manteniendo fielmente los principios descritos en dicho estudio.

Descripción de operaciones

1. **Mezcla:** En un vaso de precipitación se colocará el mucílago de cacao conforme a la cantidad descrita en para cada formulación.

2. **Agitación:** Con una varilla de agitación se realizará la homogenización.
3. **Calentamiento:** Se llevará la mezcla a calentamiento por un periodo de tiempo, hasta que alcance una temperatura de 60 °C.
4. **Adición del plastificante:** Con temperatura a 60 °C, se añadirá el emulsificante (glicerol al 1%).
5. **Homogeneización:** Con agitación constante se realizará la homogenización de las sustancias.
6. **Enfriamiento:** Luego se retirará la mezcla del fuego y se procederá a dejar en reposo hasta que llegue a temperatura ambiente.

Fase 4. Preparación de filetes de tilapia

El método de fileteado de tilapia a seguir será el descrito en el Manual para Empresas Elaboradoras de Filetes de Tilapia Frescos desarrollado por el Proyecto CFC/FAO/INFOPESCA. Donde se abordan las siguientes etapas descritas a continuación:

1. **Recepción de la materia prima:** Las tilapias enteras llegarán al área de procesamiento.
2. **Inspección y selección:** Se descartarán aquellas que no cumplan con los estándares de calidad.
3. **Evisceración:** Se retirarán las vísceras y las escamas de las tilapias.
4. **Fileteado:** Se cortarán los filetes de la carne de tilapia.
5. **Lavado:** Los filetes se lavarán con agua potable fría para eliminar restos de sangre y suciedad. Luego serán escurridos y secados suavemente.
6. **Empaque y almacenamiento:** Los filetes se empaquetarán y almacenan adecuadamente para luego utilizarlos como sustrato del recubrimiento comestible.

Fase 5. Aplicación del recubrimiento comestible

La aplicación del recubrimiento comestible al sustrato (filetes de tilapia), debido a las características físicas, se realizará por medio de la técnica de inmersión, la cual consiste en

sumergir el alimento en una sustancia determinada, ya que estos requieren una cobertura uniforme. Se seguirá la metodología empleada por (Acurio y Balseca, 2021), con ciertas modificaciones en cuanto tiempos y temperaturas, pero manteniendo fielmente los principios descritos en dicho estudio.

Descripción de operaciones

1. **Recepción:** Los filetes ya condicionados, libre de partículas extrañas.
2. **Inmersión:** Se sumergirán los filetes de tilapia en la solución a base de mucílago de cacao y aceite esencial de orégano por tres segundos, inmediatamente serán colocados sobre una malla plástica para eliminar el exceso de la solución presente en el sustrato.
3. **Secado:** Se colocarán los filetes con el recubrimiento comestible en un lugar fresco por un tiempo de 20 minutos a temperatura ambiente.
4. **Almacenamiento:** Se almacenarán los lotes de filetes de tilapia con el recubrimiento.

Fase 6. Formación de la película comestible

Una vez obtenida la matriz completa del recubrimiento comestible, se procederá al desarrollo de la película comestible. Para aislar la película, se utilizará el método de casting o colado, el cual es una técnica ampliamente utilizada para la formación de este tipo de películas. El proceso de casting se llevará a cabo siguiendo la metodología descrita por Escobar *et al.* (2009), con algunas modificaciones debido a los componentes del recubrimiento.

Descripción de operaciones

1. **Formación de la película:** La solución filmogénica será vertida sobre placas Petri, controlando el volumen de la solución vertida para obtener un espesor de película deseado.
2. **Secado:** La película se secará a una temperatura controlada de 35°C, hasta que se forme una película homogénea y desprendible.

3. **Acondicionamiento de la película:** Cuidadosamente se retirará la película ya seca de la superficie de secado. Así mismo, se debe acondicionar en un ambiente controlado a una temperatura de 30°C, hasta estabilizar sus propiedades.

5.5 Mediciones analíticas en filetes de tilapia para evaluar la efectividad del recubrimiento comestible

5.5.1 Parámetros físicos

- Pérdida de peso

La pérdida de peso se evaluará durante el almacenamiento para determinar la eficacia del recubrimiento comestible en la retención de agua de los filetes de tilapia. Se pesarán los filetes de tilapia recubiertos y muestra control al inicio del almacenamiento (0 días), y en intervalos de tiempo regulares (2 y 4 días). La diferencia de peso entre las mediciones se calculará y se expresará como porcentaje de pérdida de peso. Se compararán los resultados de los filetes recubiertos con los filetes sin recubrir para evaluar el efecto del recubrimiento en la retención de agua.

- Color

El color de los filetes de tilapia recubiertos y sin recubrir se medirá periódicamente durante el almacenamiento (0, 2 y 4 días), utilizando un colorímetro Minolta para determinar las coordenadas L^* , a^* y b^* .

L^* : Indica la luminosidad del filete, donde 0 es negro y 100 es blanco.

a^* : Indica la tendencia hacia el rojo (+a) o verde (-a).

b^* : Indica la tendencia hacia el amarillo (+b) o azul (-b).

Se medirán las coordenadas de color en diferentes puntos de la superficie del filete para obtener un valor promedio. Se compararán los valores de color de los filetes recubiertos

con los filetes de la muestra control para evaluar el efecto del recubrimiento en el mantenimiento del color característico de los filetes.

5.5.2 Parámetros químicos

- pH

La medición del pH se llevará a cabo utilizando un pHmetro portátil modelo 300 OHAUS. Para la determinación de pH en el filete de tilapia, se procederá a pesar 10g de la muestra y añadir 100 ml de agua destilada, posteriormente se molerá en la licuadora durante un minuto. A continuación, se filtrará la mezcla en manta de cielo para eliminar el tejido conectivo y, después se leerá el pH del filete colocando el electrodo en muestras de 20 ml, correspondiente a cada tratamiento. La medición de este parámetro se realizará durante los días de almacenamiento establecidos.

- Acidez titulable

Al preparar el filete de tilapia para su análisis, se procederá a pesar 10g de la muestra y colocarla en una licuadora, donde se molerá junto con 200 ml de agua destilada. Posteriormente, se filtrará la muestra en manta para eliminar el tejido conectivo, tras lo cual se colocará el filtrado en un matraz de 250 ml y se aforará con agua destilada. Luego, se tomarán 25 ml de esta solución y se colocarán en un matraz erlen-meyer de 150 ml, añadiendo 75 ml de agua destilada. A continuación, se procederá a titular con NaOH 0.01N, utilizando fenolftaleína como indicador, realizando esta determinación por duplicado.

Ecuación para el cálculo de acidez según Moreno y Deaquiz (2016):

$$\% \text{ Acidez: } (N \cdot VD \cdot \text{Meq} / M) \cdot 100$$

Donde:

N: Normalidad del NaOH

VD: Valor de NaOH descargado

Meq: Peso equivalente del ácido

M: gramos de muestra

La medición de este parámetro se realizará durante los días de almacenamiento establecidos (0, 2 y 4 días).

5.1 Mediciones analíticas para evaluar la película comestible

5.1.1 Parámetros físicos

- Propiedades ópticas (transparencia)

Se medirá haciendo uso de una hoja de papel con líneas de diferente grosor trazadas de manera horizontal, sobre la cual se colocará la película y por medio de la percepción visual se identificará la transparencia de la película. Se hará esta medición con cada una de las películas comestibles preformadas con cada uno de los tratamientos a diferentes concentraciones.

- Espesor

El espesor de las películas comestibles preformadas con las diferentes formulaciones se medirá utilizando un micrómetro Digital en tres zonas diferentes para luego calcular el valor medio.

5.1.2 Parámetros químicos:

- Biodegradabilidad

Para llevar a cabo el desarrollo de este análisis, se procederá a cortar trozos de la película comestible en tamaño uniforme (2.5 cm x 2.5 cm), los cuales serán posteriormente sumergidos en agua purificada. Se realizará un análisis visual para observar los cambios en la apariencia de la película diariamente.

5.1.3 Parámetros microbiológicos

- Propiedades antimicrobianas

Las bacterias de *E. coli* ya aisladas serán proporcionadas por el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Agricultura. Posteriormente se emplearán cajas Petri conteniendo agar Müller-Hinton con previo control de esterilidad. Los inóculos bacterianos se sembrarán por separado utilizando hisopos estériles (dispersión en la superficie de las placas).

Se utilizarán discos estériles, de un tamaño de 6mm, de papel filtro. Los discos estériles se embeberan con la emulsión preparada de cada uno de los tratamientos a diferentes concentraciones de mucilago de cacao (25% y 30%), y aceite esencial de orégano; y la solución salina fisiológica estéril (control negativo). Se secarán en el interior de una cabina de bioseguridad Nivel II. Cada disco se colocará sobre el agar a una distancia promedio de 20 mm entre sí y se dejarán reposar por 20 minutos, para luego incubarse a 37°C por 24 horas. Transcurridas 24 horas, se medirán la longitud de las zonas de inhibición observadas incluyéndose el diámetro del disco (mm).

5.2 Diseño experimental

Se utilizará un diseño de factorial de 2x3, donde el primer factor (A) corresponde a las diferentes concentraciones de mucilago de cacao que se aplicarán a los filetes de Tilapia, con dos niveles (25% y 30%). El segundo factor (B) será el tiempo de almacenamiento, con tres niveles: 0, 2 y 4 días y una muestra control que será el filete sin recubrimiento. En la tabla 3

se describen los tratamientos más el de control por bloques completos al azar. De esta manera, se tendrán un total de 6 tratamientos, resultantes de la combinación de los niveles de los dos factores. Cada tratamiento se replicará un mínimo de 3 veces para asegurar la consistencia y confiabilidad de los resultados.

Tabla 5. Diseño experimental (recubrimiento comestible)

Tratamiento	Factores de Estudio		Variables de Respuesta (Parámetros)			
			P. Físicos		P. Químicos	
	Concentración de mucílago	Tiempo de almacenamiento (días)	Pérdida de peso	Color	pH	Acidez
T1	25%	0				
T2	25%	2				
T3	25%	4				
T4	30%	0				
T5	30%	2				
T6	30%	4				

5.3 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos serán analizados estadísticamente mediante técnicas de análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico InfoStat para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos. Adicionalmente, se realizarán pruebas de comparación de medias, como la prueba de Tukey, para identificar cuáles tratamientos presentan un mejor desempeño en términos de las variables de respuesta evaluadas.

El nivel de significancia utilizado para las pruebas estadísticas será de $\alpha = 0,05$. Los resultados se considerarán estadísticamente significativos cuando el valor-p sea menor o igual a dicho nivel de significancia.

VI CRONOGRAMA

Actividades	Junio				Julio				Agosto				Septiembre			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Obtención del mucílago de cacao																
Obtención del aceite esencial de orégano																
Preparación de filetes de tilapia																
Elaboración del recubrimiento y película comestible																
Aplicación del recubrimiento comestible																
Almacenamiento																
Evaluación de la calidad del recubrimiento y película comestible																
Redacción de resultados (informe)																
Defensa del trabajo de investigación																

VII PRESUPUESTO

Presupuesto				
Descripción	Cantidad	Unidad	Precio de venta	Costo Total
Mazorcas de cacao	40	Mazorca	20.00	800.00
Orégano fresco	4	Lb	60.00	240.00
Tilapia	15	Lb	50.00	750.00
Glicerol	1	L	450.00	450.00
Placas Petri	40	Unidades	25.00	1,000.00
Frascos de vidrio ámbar	2	Frascos	30.00	60.00
Tamiz (manta)	1	Yd	45.00	45.00
Papel filtro	1	Paquete	100.00	100.00
Recipientes	5	Unidad	40.00	200.00
Guantes	1	Caja	330.00	330.00
Redecillas	1	Caja	150.00	150.00
Mascarillas	1	Caja	70.00	70.00
Imprevistos/emergencias	1	N/A	1,500.00	1,500.00
Transporte para movilizar la materia prima	1	N/A	3,000.00	3,000.00
Total				8,695.00

VIII BIBLIOGRAFÍA

Acurio, G; Balseca, R. (2021). Estudio de aplicación de un recubrimiento comestible a base de mucílago de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.), y aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris* L.), para prolongar el tiempo de conservación de la carne de pollo.

De Ancos, B; González, D; Colina, C; Sánchez, C. 2015. Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de iv y v gama. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 16(1). DOI: <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>.

Bassolé, IHN; Juliani, HR. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties., vol.17. p. 3989-4006 DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. International Journal of Food Microbiology 94(3):223-253. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2004.03.022>.

Castillo, B. 2020. Seis tipos de métodos de investigación.

Castillo, E; Alvarez, C; Contreras, Y. 2018. Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) cosechados en Caucagua estado Miranda, Venezuela. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=376160247008>.

CFC (Common Fund for Commodities); FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations); INFOPESEA (Información Pesquera Internacional). 2001. Manual para empresas elaboradoras de filete de tilapia frescos. Desarrollo del Procesamiento y la Comercialización de los Productos Pesqueros Acuícolas de los Grandes Valles Hidrográficos de América Latina.

Chaparro, S; Ruíz, S; Márquez, E; Ocaño, VM; Valenzuela, CC; Ornelas, J de J; Del Toro, CL. 2015. Effect of chitosan-carvacrol edible coatings on the quality and shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored in ice. Food Science and Technology (Brazil) 35(4). DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6841>.

Dhall, RK. 2013. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review., vol.53. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>.

Díaz, E; Castro, R. 2021. Edible films and coatings as food-quality preservers: an overview., vol.10. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10020249>.

Elsabee, M; Abdou, E. 2013. Chitosan based edible films and coatings: a review. Materials Science and Engineering: C 33(4):1819-1841. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2013.01.010>.

Escobar, D; Sala, A; Silvera, C; Harispe, R; Márquez, R. (2009). Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. The State of world fisheries and aquaculture, 2012. 50(10). DOI: <https://doi.org/10.5860/choice.50-5350>.

_____. 2022. Fishery and aquaculture country profiles: Honduras.

FDA (Food and Drug Administration). (2018). Tabla de almacenamiento en refrigerador y congelador.

_____. 2023. CFR - Código de Regulaciones Federales Título 21. Disponible en <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm>.

Fernández, D; Bautista, S. 2015. Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 24(3).

García, A; Varens, M; Rodríguez, J; Díaz, N. (2019). Control de la calidad de la materia prima obtenida a partir de las hojas de orégano francés, en Centros de Producción Local de la provincia de Villa Clara. Santa Clara, Cuba.

Goyena, R; Fallis, A. 2019. Evaluación de la infusión de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y oreganón (*Plectranthus amboinicus*) como prebiótico en patos Broiler.

Green, BW. (2000). Tilapia farming in Honduras: Global Aquaculture Advocate. Disponible en <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/tilapia-farming-in-honduras-2/?headlessPrint=AAAAPIA9c8r7gs82oWZBA>.

ICCO (International Cocoa Organization). International Cocoa Organization. Disponible en <https://www.icco.org/statistics/>.

Jayedí, A; Shab-Bidar, S. 2020. Fish consumption and the risk of chronic disease: an umbrella review of meta-analyses of prospective cohort studies. *Advances in Nutrition* 11(5):1123-1133. DOI: <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAA029>.

Jayeola, CO; Adebawale, BA; Yahaya, LE; Ogunwolu, SO; Olubamiwa, O. 2018. Production of bioactive compounds from waste. *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* :317-340. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814625-5.00017-0>.

Khalafalla, FA; Ali, FHM; Hassan, A-RHA. 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 4(1):33-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BJBAS.2015.02.005>.

Kumar, L; Ramakanth, D; Akhila, K; Gaikwad, KK. 2022. Edible films and coatings for food packaging applications: a review., vol.20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>.

Leyva, N; Gutiérrez, EP; Vazquez, G; Heredia, JB. 2017. Essential oils of oregano: biological activity beyond their antimicrobial properties. *Sinaloa, México*, vol.22. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>.

Morales, GA; Aguilar, A; Reyes, MA; Sarracino, O; Castillo, M; Almenares, D. 2021. Evaluación de tecnologías solares para el deshidratado de oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y contenido de fenoles totales. Journal of Energy, Engineering Optimization and Sustainability 5(1):51-62. DOI: <https://doi.org/10.19136/JEEOS.A5N1.3474>.

Moreno, B; Deaquiz, Y. 2016. Caracterización de parámetros fisicoquímicos en frutos de mora (*Rubus alpinus* Macfad). Acta Agronómica 65(2). DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v65n2.45587>.

Ortiz, K; Álvarez, R. 2015. Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). Boletín Científico del Centro de Museos 19(1):65-84. DOI: <https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.5>.

SAG (Secretaría de Agricultura y Ganadería, H. (2021). Análisis de coyuntura: acuícola y pesquero. Tegucigalpa, Francisco Morazán.

Santana, P; Vera, J; Vallejo, C; Álvarez, A. 2018. Mucílago de cacao, nacional y trinitario para la obtención de una bebida hidratante. UNIVERSIDAD, CIENCIA y TECNOLOGÍA 4.

Santos, E; de Oliveira, E; Leite, E. 2008. The potential of *Origanum vulgare* L. (*lamiaceae*) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. Brazilian Journal of Microbiology 39:362-367.

Valencia, LF; Quintero, JC. 2022. Extracción y caracterización de aceite esencial de orégano, especie *Plectranthus amboinicus*, a partir de cultivos orgánicos del Magdalena Medio en Colombia. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research 5(1):550-563. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv5n1-043>.

Valencia, S; Palou, L; Delfrio, M; Pérez, M. 2011. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 51(9). DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.485705>.

Vallejo, C; Díaz, R; Morales, W; Soria, R; Fabian, V; Chang, J; Baren, C. 2016. Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. Revista ESPAMCIENCIA 7(1).

Vera, J; Zambrano, J. (2017). Extracción de aceite esencial de orégano mediante arrastre de vapor.

