

Actividad de recubrimientos de quitosano, nanopartículas de quitosano y ZnO contra hongos aislados e identificados molecularmente de frutas con potencial de exportación en la zona norte del Perú

Activity of coatings based on chitosan, chitosan and ZnO nanoparticles against fungi isolated and molecularly identified from fruits with export potential in the northern area of Peru

Gerardo Juan Francisco Cruz^{1,*}; Rosa Liliana Solís-Castro²; John Rimaycuna¹; José Luis Solís³; Mónica Marcela Gómez³; Rubén Alfaro¹

- ¹ Grupo de Investigación en Aprovechamiento de Biomasa Agroindustrial para Diversas Aplicaciones, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes, Ciudad Universitaria, Barrio Pampa Grande s/n, Tumbes, Perú.
² Departamento Académico de Biología y Bioquímica, Facultad de la Salud, Universidad Nacional de Tumbes, Ciudad Universitaria, Barrio Pampa Grande s/n, Tumbes, Perú.
³ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Tupac Amaru 210. Rimac, Lima, Perú.

* Autor correspondiente: gacruz@untumbes.edu.pe (G. J. F. Cruz).

ID ORCID de los autores

G. J. F. Cruz: <https://orcid.org/0000-0001-6096-0183>

J. Rimaycuna: <https://orcid.org/0000-0002-2767-9733>

M. M. Gómez: <https://orcid.org/0000-0003-0990-0593>

R. L. Solís-Castro: <https://orcid.org/0000-0002-1813-8644>

J. L. Solís: <https://orcid.org/0000-0001-5560-9241>

R. Alfaro: <https://orcid.org/0000-0001-8749-1647>

RESUMEN

Las pérdidas postcosecha de frutas de exportación originan cuantiosas pérdidas económicas, siendo la acción de hongos una de las principales causas. Para el control de estos se utilizan fungicidas, muchos de los cuales tienen alta toxicidad y poder residual. La búsqueda de alternativas al uso de estos se convierte en un tópico importante de investigación. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar recubrimientos basados en quitosano, nanopartículas (NPs) de quitosano y ZnO para inhibir hongos aislados de frutas con potencial de exportación en el norte del Perú. En primer lugar, los hongos se aislaron e identificaron, molecularmente en base al gen *internal transcribed spacer* (ITS), de arándano, limón, uva y aguaymanto. Se prepararon recubrimientos líquidos de quitosano, con diferentes concentraciones de nanopartículas de quitosano y ZnO. Estos recubrimientos fueron evaluados *in vitro* sobre parte de los hongos aislados utilizando la técnica de halos de inhibición. Los recubrimientos preparados presentaron efecto antifúngico contra *Alternaria Alternata* (arándano), *Aspergillus tubingensis* (limón), *Aspergillus niger* (limón), *Thielaviopsis ethacetica* (limón) y *Aspergillus niger* (aguaymanto). Se determinó que la concentración de NPs de quitosano no tuvo ningún efecto sobre la capacidad antifúngica de los recubrimientos, mientras que las NPs de ZnO sí tuvieron un efecto directamente proporcional. Los recubrimientos en base a quitosano y NPs de quitosano y ZnO tienen un potencial de uso como agente antifúngico en frutas de exportación.

Palabras clave: recubrimientos biodegradables; nanopartículas de quitosano; ZnO; hongos; frutas.

ABSTRACT

Post-harvest losses of export fruits cause considerable economic reductions, being fungal action one of the main causes. To control these, fungicides are used, many of which have high toxicity and residual power. The search for alternatives to their use becomes an important research topic. The objective of this research was to evaluate coatings based on chitosan, chitosan and ZnO nanoparticles (NPs) to inhibit fungi isolated from fruits with export potential in northern Peru. Firstly, fungi were isolated and identified, molecularly based on the internal transcribed spacer (ITS) gene. From blueberry, lemon, grape and golden berry. Chitosan coatings were prepared, with different concentrations of chitosan and ZnO nanoparticles. These coatings were evaluated *in vitro* on some of the isolated fungi using the inhibition zone technique. The prepared coatings showed antifungal effect against *Alternaria Alternata* (blueberry), *Aspergillus tubingensis* (lemon), *Aspergillus niger* (lemon), *Thielaviopsis ethacetica* (lemon) and *Aspergillus niger* (golden berry). It was determined that the concentration of chitosan NPs had no effect on the antifungal capacity of the coatings, while the ZnO NPs did have a directly proportional effect. Coatings based on chitosan and chitosan and ZnO NPs have potential for use as antifungal agents in fruits for exportation.

Keywords: biodegradable coverages; chitosan nanoparticles; ZnO; fungus; fruits.

Recibido: 17-10-2023.
Aceptado: 11-12-2023.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

Una de las principales actividades económicas en Perú es la actividad agrícola, la cual en los últimos años ha tomado gran importancia debido a la exportación de frutas frescas. Las exportaciones agrícolas en el 2022 ascendieron a US\$ 9807 millones (ComexPeru, 2023), representando 1/6 de las exportaciones totales peruanas. Sin embargo, las pérdidas durante la cosecha y postcosecha pueden ser elevadas. Muchos de los factores que aumentan las pérdidas durante la cosecha, postcosecha y transporte a mercado de destino son los daños mecánicos por golpes, el ataque de plagas, fallos en la cadena de frío, fallos en el envase y embalaje, entre otros.

Con el afán de combatir el ataque de plagas y el deterioro de las frutas se utilizan una serie de pesticidas sintéticos que tienen un alto poder residual. Por ejemplo, uno de los funguicidas post cosecha de mayor utilización por su amplio espectro es el Tiabendazol, el cual está calificado como Ligeramente Peligroso (Categoría III de la OMS). Sin embargo, este tipo de productos enfrentan cada vez con mayor frecuencia restricciones de uso a nivel de mercados de alto poder adquisitivo, generando una necesidad en la búsqueda de productos de bajo impacto ambiental y legalmente permitidos. Producto de estas restricciones los pequeños productores por su vulnerabilidad podrían verse afectados negativamente, derivando en pérdidas económicas significativas y generando un importante problema social.

Por otro lado, otras de las actividades productivas importantes en Perú son la actividad hidrobiológica y acuícola. Uno de los productos que ha tomado mucha importancia debido a su abundancia es la Pota (*Dosidicus gigas*). En el año 2022 se desembarcó un total de 52619 t de este recurso (Produce, 2023), siendo el 10% un residuo denominado "pluma". Este residuo está constituido principalmente por quitina, la cual tiene la ventaja de ser convertida fácilmente en quitosano sin necesidad de pasar por el proceso de blanqueo que utiliza gran cantidad de insumos químicos (Moreno et al., 2017).

El quitosano es un material derivado de la quitina

obtenida por deacetilación que exhibe una importante actividad antibacteriana sobre diferentes bacterias Gram positiva y negativa y hongos (Confederat et al., 2021; Ke et al., 2021), la mayoría de los cuales involucrados en la descomposición de alimentos. Las materias primas para producir quitosano a escala comercial incluyen desechos como exoesqueleto de langostino mediante una serie de métodos de naturaleza química, enzimática y microbiológica (Kou et al., 2021).

Las aplicaciones del quitosano como antibacteriano incluyen recubrimientos o películas solo y combinado para combatir bacterias y hongos durante la post cosecha de diversas frutas como manzanas (Camatari et al., 2017; Cosme Silva et al., 2017; Khalifa, Barakat, El-Mansy, & Soliman, 2017; D. Kumar, Kumar, & Pandey, 2018), fresas (Badawy et al., 2016), mango (Camatari et al., 2017; Cosme Silva et al., 2017), banana (Camatari et al., 2018), uva (Barka et al., 2018). El quitosano se ha impregnado o funcionalizado con diversas nanopartículas con miras a no solo ampliar su espectro antimicrobiano, sino también mejorar sus propiedades físicas, mecánicas y térmicas. Algunas de estas nanopartículas utilizadas han sido ZnO, Zn, Cu, Ag (Du et al., 2009; Gonzaga, 2016; Kumar et al., 2018; Sámano-Valencia et al., 2013). También se ha estudiado el uso de quitosano en forma de nanopartículas, dado que son mucho más efectivas contra bacterias y hongos que atacan a las frutas y a los alimentos en general (Castelo et al., 2018; Kumar et al., 2018; Llanos & Tadini, 2018; Lustriane et al., 2018).

Es evidente que existe aún mucho campo de estudio en la temática, sobre todo relacionado con la combinación de dos o más agentes antimicrobianos en forma de nanopartículas que permitan ampliar el espectro antimicrobiano y antifúngico. Es así como en el presente trabajo de investigación se evaluaron recubrimientos líquidos basados en quitosano de alto peso molecular derivado de pluma de pota, nanopartículas de quitosano y ZnO para inhibir los microorganismos que atacan a las frutas de exportación en el norte del Perú.

METODOLOGÍA

Recolección de Frutas

Las muestras de frutas fueron recolectadas de diferentes áreas de producción y comercialización en la zona norte del Perú (Tumbes, Piura). Estas frutas incluyeron arándanos, uvas, limón y aguaymanto.

Aislamiento e identificación de hongos

Se utilizaron dos métodos, considerando si el fruto presentó o no lesiones visibles. Para el primer caso, se utilizó 100 g de cada fruta seleccionada y se diluyó 1:10 con agua peptonada estéril al 1%. Se mezcló vigorosamente por 30 min en un agitador orbital para luego realizar diluciones seriadas en agua peptonada al 1%. Luego se sembró por

superficie en agar patata dextrosa (PDA, Merck) suplementada con 100 mg/L de cloranfenicol. Por otro lado, si las frutas presentaron lesiones se realizarán cortes de 0,5 cm de tejidos entre las zonas lesionadas y no lesionadas del fruto. Posteriormente los cortes de tejidos se trataron en batería de desinfección que comprendió lavados con hipoclorito de sodio al 1% por 1 min, etanol 70% por 1 min y tres lavados sucesivos con solución salina fisiológica estéril 0,85% (SSFE). Los tejidos desinfectados se secaron en papel filtro estéril y se sembraron por superficie en PDA suplementada con 100 mg/L de cloranfenicol.

Para el aislamiento de hongos, las placas inoculadas se incubaron a temperatura ambiente por 5 días.

Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) y se purificaron los hongos de interés en nuevos agares de cultivo. Posteriormente, las cepas aisladas se conservaron en tubos con agar PDA (hongos) inclinados.

La extracción de ADN se realizó utilizando el método estándar CTAB-DTAB. Se procedió a pesar entre 30 mg de micelio fúngico en microtubos de 1,5 mL. Se agregaron 600 μ L de la solución de extracción DTAB (dodeciltrimetilamonio bromuro 8%, NaCl 1,5%, Tris HCl 100 mM a pH 8,8 y EDTA 50 mM)), se agitaron en el vortex por 20 s y se procedió a incubar a 75 °C por 10 min. Luego se agitó en vortex por 20 s y se adicionaron 600 μ L de cloroformo grado HPLC y se agitó nuevamente en vortex por 20 s. A continuación, se centrifugó a 13000 g durante 5 min. Se transfirió el sobrenadante 250 μ L a otro microtubo de 1,5 mL que contenía previamente 100 μ L de solución CTAB (5% cetiltrimetilamonio bromuro, 0,4 M NaCl) y 900 μ L de agua destilada estéril. Se agitó en vortex e incubó a 75 °C durante 5 min. Se enfrió a temperatura ambiente y centrifugó a 13000 g por 10 min. Se eliminó el sobrenadante, se re-suspendió el pellet (ADN) con 150 μ L de solución disolvente (NaCl 1,2 M), incubándose a 75 °C durante 5 min y se enfrió a temperatura ambiente. A continuación, se centrifugó a 13000 g por 5 min y después se transfirió el sobrenadante de 150 μ L a un nuevo microtubo con 300 μ L de etanol absoluto. Se agitó en vortex por 20 s y centrifuga a 13000 g por 5 min, luego se lavó el pellet con 500 μ L de solución de lavado (etanol al 75%), se volteó el tubo varias veces, se centrifugó a 7500 g por 5 min y se procede a secar el pellet de ADN por 15 min, y se re-suspendió con 200 μ L de tampón TE (Tris 10 mM- EDTA 1 mM) y se conservó a -20 °C.

Los hongos se identificaron utilizando los cebadores universales para hongos ITS1F e ITS4. Las reacciones fueron realizadas con 2X Taq Mastermix GeneOn (0,1 U/ μ L Taq DNA polimerasa, 0,4 mM dATP, 0,4 mM dGTP, 0,4 mM dCTP, 0,4 mM dTTP, 4 mM MgSO₄, 20 mM KCl, 16 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM tris-HCL, pH 8,8) De cada producto de amplificación de la reacción en cadena polimerasa (PCR), 10 μ L se migraron en gel de agarosa al 1 % con tampón de migración TAE 1X. La migración se realizó a 120 V durante 20 min; conjuntamente se migró un marcador de peso molecular de 50 pares

de bases (pb). Los geles se visualizaron utilizando un transiluminador UV.

Para la secuenciación bidireccional se utilizó 10 μ L de los productos obtenidos por amplificación de la PCR, y se colocaron en microtubos de 0,2 mL. La secuenciación de las muestras fue realizada por la empresa MacroGen Inc de Korea.

Preparación y caracterización de los recubrimientos

Se prepararon por separado soluciones de quitosano derivado de pota (*Dosidicus gigas*) (Moreno et al., 2017), alcohol polivinílico (PVA), NPs de quitosano y NPs de ZnO. La solución de quitosano se preparó disolviendo el quitosano con una solución de ácido acético al 1% (p/v) en agitación constante. Una vez el quitosano estuvo totalmente disuelto se filtró para eliminar algunas impurezas. La solución de PVA se preparó disolviendo el PVA con agua ultrapura en agitación constante a 80 °C. Para la preparación de nanopartículas de quitosano, se preparó una solución de quitosano 0,2% (p/v) en ácido acético al 1% (p/v). Se disolvió tripolifosfato de sodio (TPP) en agua ultrapura a una concentración de 0,3% (p/v). Luego, la solución de TPP se vertió gota a gota en la solución de quitosano con agitación a 1000 rpm. La mezcla se agitó durante 20 min más y luego se centrifugó a 10000 rpm por 15 min. Finalmente se recolectó la fase líquida y se almacenó a 4 °C.

Las nanopartículas de ZnO se sintetizaron utilizando el método de precipitación y como agente precursor nitrato de zinc hexahidratado (Cruz et al., 2020).

Una vez preparados los insumos se procedió a la formulación de los recubrimientos líquidos. Para ello, la solución de quitosano se mantuvo en agitación constante y se adicionó la solución de PVA y se mantuvo agitación por 20 min. Luego se agregó las NPs de ZnO disueltas en agua ultrapura, manteniéndose agitación por 20 min. Finalmente se agregó las NPs de quitosano y el agua ultrapura y se homogenizó por 10 min. Se elaboraron diferentes formulaciones, tal como se describe en la Tabla 1. El volumen total de la solución del recubrimiento fue de 20 ml.

Se obtuvieron los espectros de espectroscopia infrarroja con reflectancia atenuada (FTIR-ATR) (Shimadzu Tracer-100).

Tabla 1

Descripción de los experimentos llevados a cabo en la presente investigación. Cada componente en ml

Muestra	Quitosano (1%)	PVA (1%)	Sol, ZnO	Sol. NP-Q	Agua
NCh100-ZnO0	9	1	2(0g)	8	0
NCh50/50-ZnO0	9	1	2(0g)	4	4
NCh0-ZnO0	9	1	2(0g)	0	8
NCh100-ZnO0.02	9	1	2(0,02g)	8	0
NCh50/50-ZnO0.02	9	1	2(0,02g)	4	4
NCh0-ZnO0.02	9	1	2(0,02g)	0	8
NCh100-ZnO0.06	9	1	2(0,06g)	8	0
NCh50/50-ZnO0.06	9	1	2(0,06g)	4	4
NCh0-ZnO0.06	9	1	2(0,06g)	0	8

NP: nanopartículas. Q: quitosano.

Pruebas de inhibición antimicrobiana-selección de recubrimientos

Para el estudio de inhibición de hongos por los diversos tratamientos se utilizó el ensayo de halos de inhibición. De los hongos identificados se seleccionaron 5 en base a la mayor incidencia en el deterioro de las frutas. Los hongos seleccionados fueron inoculados en medio de cultivo PDA (patata dextrosa agar, Merck) por 5 a 7 días para la obtención de esporas.

Para el ensayo se siguió la metodología de Nehra et al. (2018), con algunas modificaciones. Se utilizó PDA, y se sembró mediante placa vertida una concentración de $1-3 \times 10^6$ esporas/mL de cada hongo. Una vez solidificado el medio, se cortaron cuatro pocillos, y fueron llenados con 100 μ L de los recubrimientos líquidos formulados.

Las placas de agar se incubaron a 28 °C. Para expresar los resultados se midió el diámetro de las zonas de inhibición de los recubrimientos a los 5 d.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación molecular de hongos aislados de las frutas de exportación

En la Tabla 2 se muestra los resultados del aislamiento e identificación de los hongos de las frutas analizadas. Aquí, se muestra el tamaño de la secuencia nucleotídica en pares de bases (bp) y el % de identidad comparada con las secuencias de la base de datos GenBank. En el caso de arándano se han identificado especies de los géneros *Alternaria*, *Fusarium* y *Exserohilum*. En el caso de limón las especies encontradas fueron del género *Aspergillus* y *Thielaviopsis*, mientras que en el caso de aguaymanto las especies encontradas están dentro de los géneros *Alternaria*, *Fusarium* y *Aspergillus*.

En el caso de las uvas, tanto verdes como moradas, las especies de hongos aisladas están dentro de los géneros *Nigrospora*, *Cladosporium*, *Botrytis* y *Alternaria*.

Caracterización de recubrimientos

En la Figura 1 se aprecian los resultados de FTIR-ATR de los recubrimientos desarrollados. Estos son similares para todas las muestras con un pico ancho entre 3000 – 3500 cm^{-1} que correspondería

al grupo funcional -OH o N-H. Se observa otro pico en 1640 cm^{-1} , el cual correspondería al estrechamiento C=O (amida I) (Rahman et al., 2019) típico del quitosano. Aparentemente las concentraciones de NPs de quitosano y ZnO en el recubrimiento líquido es muy bajo para poder ser detectado por esta técnica de análisis.

Resultados de las pruebas antimicrobianas contra hongos aislados de las frutas

En la Tabla 3 se muestran los resultados del tamaño de halos de inhibición de los diferentes recubrimientos aplicados sobre los hongos aislados. Se aplicó un modelo bifactorial para evaluar la concentración de NPs de quitosano y la de ZnO en el recubrimiento. En todos los casos para un valor de $\alpha = 0,01$ se observó que no existe diferencia significativa en cuanto a la concentración de NPs de quitosano, sin embargo, si se evidencia la diferencia significativa en función del factor concentración de NPs de ZnO en el recubrimiento. Se puede apreciar que, en general, a mayor concentración de NPs de ZnO en el recubrimiento mayor capacidad de inhibición de los hongos evaluados.

Tabla 2
Especies de hongos aisladas de las frutas con potencial de exportación

Fruta	Especie identificada	Tamaño de la secuencia (bp)	% de identidad
Arándano	<i>Alternaria alternata</i>	530	99,81
Arándano	<i>Exserohilum rostratum</i>	563	100,00
Arándano	<i>Alternaria longipes</i>	543	100,00
Limón	<i>Aspergillus tubingensis</i>	605	100,00
Limón	<i>Aspergillus niger</i>	568	99,83
Arándano	<i>Fusarium solani</i>	539	100,00
Aguaymanto	<i>Alternaria alternata</i>	538	100,00
Limón	<i>Aspergillus niger</i>	515	100,00
Limón	<i>Thielaviopsis ethacetica</i>	556	99,46
Limón	<i>Thielaviopsis ethacetica</i>	553	99,64
Aguaymanto	<i>Fusarium oxysporum</i>	557	100,00
Limón	<i>Aspergillus niger</i>	605	99,83
Aguaymanto	<i>Alternaria alternata</i>	539	100,00
Arándano	<i>Alternaria alternata</i>	528	100,00
Uva verde	<i>Nigrospora</i> sp,	514	99,81
Uva verde	<i>Nigrospora</i> sp,	528	99,81
Aguaymanto	<i>Alternaria alternata</i>	583	99,83
Aguaymanto	<i>Aspergillus niger</i>	566	100,00
Arándano	<i>Alternaria alternata</i>	539	100,00
Arándano	<i>Alternaria alternata</i>	506	100,00
Aguaymanto	<i>Alternaria brassicicola</i>	538	99,81
Uva morada	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	555	100,00
Uva morada	<i>Alternaria porri</i>	525	100,00
Uva morada	<i>Alternaria porri</i>	525	100,00
Uva morada	<i>Botrytis cinerea</i>	546	100,00
Uva morada	<i>Cladosporium colombiae</i>	510	100,00

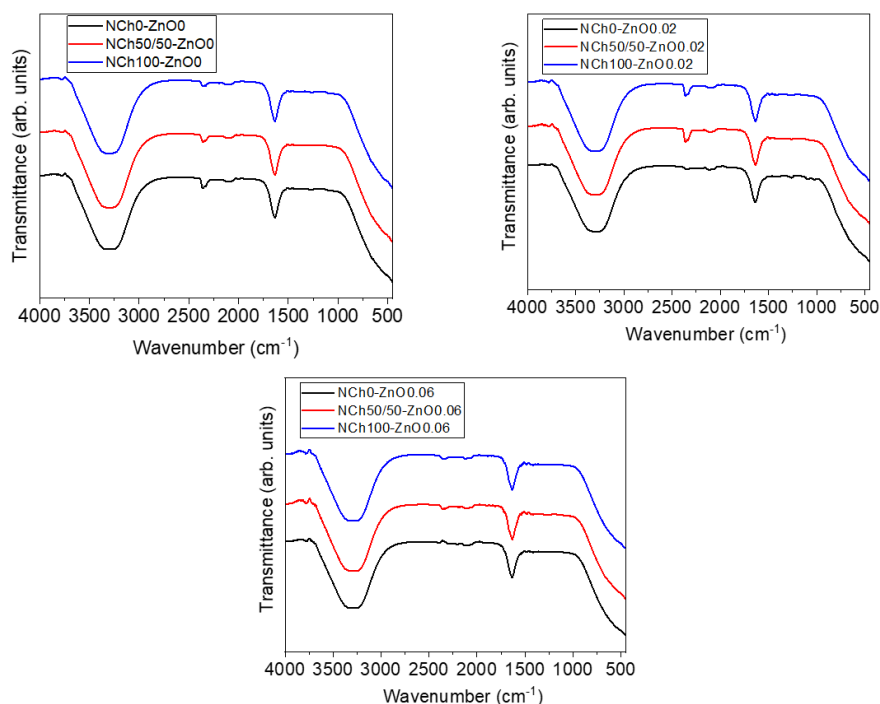


Figura 1. Espectros FTIR-ATR de los recubrimientos obtenidos en la presente investigación.

Tabla 3

Resultados de capacidad antifúngica (halos de inhibición en cm) de los recubrimientos líquidos basados en NPs de ZnO y quitosano contra hongos aislados de frutas

Muestra	<i>Alternaria Alternata</i> (Arándano)	<i>Aspergillus tubigenis</i> (Limon)	<i>Aspergillus niger</i> (limón)	<i>Thielaviopsis ethacetica</i> (limón)	<i>Aspergillus niger</i> (aguaymanto)
NCh100-ZnO0	0,9	0,9	0,95	1,1	0,95
NCh50/50-ZnO0	0,9	0,9	0,95	1,05	1
NCh0-ZnO0	0,9	0,9	1	1,25	1
NCh100-ZnO0.02	1	2	1,75	3,35	1,9
NCh50/50-ZnO0.02	1,1	1,2	1,25	1,05	1,15
NCh0-ZnO0.02	1,1	1,35	1,2	1	1,25
NCh100-ZnO0.06	2,45	2,5	2,25	3	2,5
NCh50/50-ZnO0.06	2,65	2,35	2,45	3,2	2,45
NCh0-ZnO0.06	2,3	2,05	2,1	2,4	2,4

En el caso de ZnO su capacidad antifúngica ha sido corroborada en diversos trabajos donde incluso se ha logrado aumentar la vida útil de productos frescos (Decelis et al., 2017; Luksiene et al., 2020; Ruffo et al., 2019). El mecanismo antibacteriano de las NPs de ZnO es consecuencia de su contacto directo de la pared celular o membrana de los microorganismos resultando en la destrucción de la integridad de la misma. El ZnO en medio acuoso

libera iones Zn^{+2} y generan especies oxígeno reactivas (Kim et al., 2022).

En otros estudios se ha demostrado la capacidad antifúngica de NPs de quitosano (Abdel-Rahman et al., 2021; Ruffo et al., 2019), a diferencia del presente. Es posible que las concentraciones utilizadas en el presente trabajo no hayan sido las suficientemente altas para provocar la inhibición de los hongos evaluados.

CONCLUSIONES

Se prepararon diferentes formulaciones de recubrimientos líquidos de quitosano y nanopartículas de quitosano y ZnO, utilizando varias concentraciones de cada componente utilizando dos técnicas de producción. Estos recubrimientos fueron evaluados "in vitro" sobre hongos aislados e identificados mediante halos de inhibición. Los principales géneros de hongos aislados e identificados molecularmente de las frutas incluyeron *Alternaria*, *Exserohilum*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Thielaviopsis*, *Nigrospora*, *Cladosporium* y *Botrytis*.

Los recubrimientos presentaron efecto antifúngico contra *Alternaria Alternata* (arándano), *Aspergillus tubigenis* (limón), *Aspergillus niger* (limón), *Thielaviopsis ethacetica* (limón) y *Aspergillus niger* (aguaymanto). La concentración de NPs de quitosano no tuvo efecto sobre la capacidad antifúngica de los recubrimientos, mientras que las NPs de ZnO si tuvieron un efecto directamente proporcional. Los recubrimientos líquidos en base a quitosano y NPs de quitosano y ZnO tienen un potencial de uso como agente antifúngico en frutas con potencial de exportación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Tumbes por el financiamiento del proyecto "Recubrimientos basados en quitosano de alto peso molecular derivado de pluma de pota (*Dosidicus gigas*),

nanopartículas de quitosano y ZnO para inhibir los microorganismos que atacan a las frutas de exportación en el norte del Perú y su efecto sobre la vida útil".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Rahman, F. A., Monir, G. A., Hassan, M. S., Ahmed, Y., Refaat, M. H., Ismail, I. A., & El-Garhy, H. A. (2021). Exogenously Applied Chitosan and Chitosan Nanoparticles Improved Apple Fruit Resistance to Blue Mold, Upregulated Defense-Related Genes Expression, and Maintained Fruit Quality. *Horticulturae*, 7(8), 224.
- Badawy, M. E. I., Rabea, E. I., A. M. El-Nouby, M., Ismail, R. I. A., & Taktak, N. E. M. (2016). Strawberry Shelf Life, Composition, and Enzymes Activity in Response to Edible Chitosan Coatings. *International Journal of Fruit Science*, 17(2), 117-136. doi:10.1080/15538362.2016.1219290
- Barka, E. A., Eullaffroy, P., Clément, C., & Vernet, G. (2004). Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*, 22(8), 608-614.
- Camatari, F. O. d. S., Santana, L. C. L. d. A., Carnelossi, M. A. G., Alexandre, A. P. S., Nunes, M. L., Goulart, M. O. F., . . . Silva, M. A. A. P. d. (2017). Impact of edible coatings based on cassava starch and chitosan on the post-harvest shelf life of mango (*Mangifera indica*) "Tommy Atkins" fruits. *Food Science and Technology*. doi:10.1590/1678-457x.16417
- Castelo Branco Melo, N. F., de Mendonça Soares, B. L., Marques Diniz, K., Ferreira Leal, C., Canto, D., Flores, M. A. P., . . . Montenegro Stamford, T. C. (2018). Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 139, 56-66. doi:10.1016/j.postharvbio.2018.01.014
- ComexPeru. (2023). Exportaciones Peruanas alcanzan record histórico. Retrieved from <https://www.comexperu.org.pe/articulo/exportaciones-peruanas-alcanzan-record-historico-en-2022-con-envios-por-us-63193-millones>
- Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and Antimicrobial Activity of Chitosan and Its Derivatives: A Concise Review. *Molecules*, 26(12). doi:10.3390/molecules26123694
- Cosme Silva, G. M., Silva, W. B., Medeiros, D. B., Salvador, A. R., Cordeiro, M. H. M., da Silva, N. M., . . . Mizobutsi, G. P. (2017). The chitosan affects severely the carbon metabolism in mango (*Mangifera indica* L. cv. Palmer) fruit during storage. *Food Chem*, 237, 372-378. doi:10.1016/j.foodchem.2017.05.123
- Cruz, G. J. F., Mondal, D., Rimaycuna, J., Soukup, K., Gómez, M. M., Solis, J. L., & Lang, J. (2020). Agrowaste derived biochars impregnated with ZnO for removal of arsenic and lead in water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(3). doi:10.1016/j.jece.2020.103800
- Decelis, S., Sardella, D., Triganza, T., Brincat, J.-P., Gatt, R., & Valdramidis, V. P. (2017). Assessing the anti-fungal efficiency of filters coated with zinc oxide nanoparticles. *Royal Society open science*, 4(5), 161032.
- Du, W.-L., Niu, S.-S., Xu, Y.-L., Xu, Z.-R., & Fan, C.-L. (2009). Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 385-389.
- Gonzaga A. (2016). *Effects of the plasticizers in the quality of flexible biodegradable packages produced from chitosan based on shrimp (Penaeus vannamei) husk and ZnO nanoparticles*. (Forestry Engineering and Environment), National university of tumbes, Tumbes.
- Ke, C. L., Deng, F. S., Chuang, C. Y., & Lin, C. H. (2021). Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. *Polymers (Basel)*, 13(6). doi:10.3390/polym13060904
- Khalifa, I., Barakat, H., El-Mansy, H. A., & Soliman, S. A. (2017). Preserving apple (*Malus domestica* var. Anna) fruit bioactive substances using olive wastes extract-chitosan film coating. *Information Processing in Agriculture*, 4(1), 90-99. doi:10.1016/j.inpa.2016.11.001
- Kim, I., Viswanathan, K., Kasi, G., Thanakkasaranee, S., Sadeghi, K., & Seo, J. (2022). ZnO nanostructures in active antibacterial food packaging: preparation methods, antimicrobial mechanisms, safety issues, future prospects, and challenges. *Food Reviews International*, 38(4), 537-565.
- Kou, S. G., Peters, L. M., & Mucalo, M. R. (2021). Chitosan: A review of sources and preparation methods. *Int J Biol Macromol*, 169, 85-94. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005
- Kumar, D., Kumar, P., & Pandey, J. (2018). Binary grafted chitosan film: Synthesis, characterization, antibacterial activity and prospects for food packaging. *Int J Biol Macromol*, 115, 341-348. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.084
- Kumar, S., Shukla, A., Baul, P. P., Mitra, A., & Halder, D. (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 178-184. doi:10.1016/j.fpsl.2018.03.008
- Llanos, J. H. R., & Tadini, C. C. (2018). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on cassava starch or chitosan, reinforced with montmorillonite or bamboo nanofibers. *Int J Biol Macromol*, 107(Pt A), 371-382. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.001
- Luksiene, Z., Rasiukeviciute, N., Zudyte, B., & Uselis, N. (2020). Innovative approach to sunlight activated biofungicides for strawberry crop protection: ZnO nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 203, 111656.
- Lustriane, C., Dwivany, F. M., Suendo, V., & Reza, M. (2018). Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles on post harvest quality of banana fruits. *Journal of Plant Biotechnology*, 45(1), 36-44. doi:10.5010/jpb.2018.45.1.036
- Moreno, E., Alfaro, R., Guzmán, V., S. Rimaycuna, J., & Cruz, G. (2017). Efecto de la reducción del peso molecular de quitosano obtenido de plumas de pota (*Dosidicus gigas*) utilizando dos métodos de despolimerización sobre su capacidad antimicrobiana. *Manglar*, 13(1), 25-33.
- Nehra, P., Chauhan, R., Garg, N., & Verma, K. (2018). Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles. *British journal of biomedical science*, 75(1), 13-18.
- Produce. (2023). Anuario Estadístico Pesquero y Acuicola 2022. Retrieved from <https://ogeie.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oe-documentos-publicaciones/publicaciones->

- anuales/item/1116-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2022
- Rahman, N. A., Abu Hanifah, S., Mobarak, N. N., Su'ait, M. S., Ahmad, A., Shyuan, L. K., & Khoon, L. T. (2019). Synthesis and characterizations of o-nitrochitosan based biopolymer electrolyte for electrochemical devices. *PLoS One*, *14*(2), e0212066. doi:10.1371/journal.pone.0212066
- Ruffo, R. S., Youssef, K., Hashim, A. F., & Ippolito, A. (2019). Nanomaterials as alternative control means against postharvest diseases in fruit crops. *Nanomater*, *9*, 1752.
- Sámano-Valencia, C., Martínez-Castañón, G., Martínez-Martínez, R., Loyola-Rodríguez, J., Reyes-Macías, J., Ortega-Zarzosa, G., & Niño-Martínez, N. (2013). Bactericide efficiency of a combination of chitosan gel with silver nanoparticles. *Materials Letters*, *106*, 413-416.