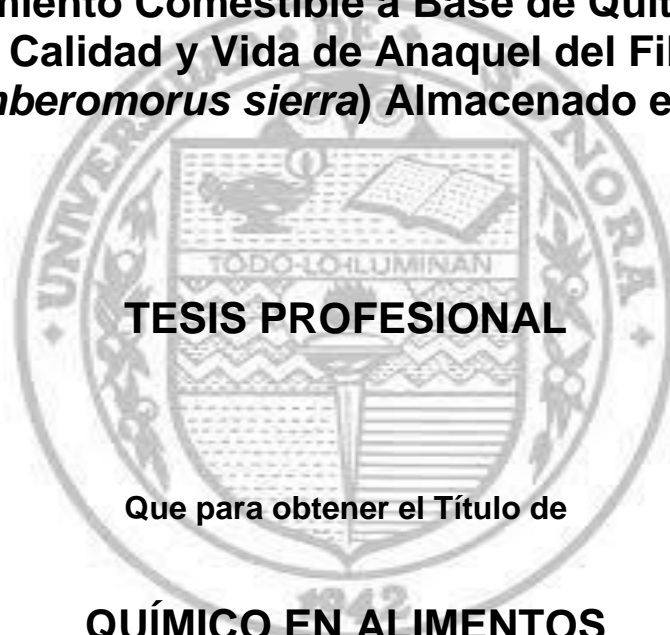


# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Efecto de un Extracto Etanólico Obtenido a Partir de la  
Planta de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Incorporado en  
un Recubrimiento Comestible a Base de Quitosano Sobre  
la Frescura, Calidad y Vida de Anaquel del Filete de Sierra  
(*Scomberomorus sierra*) Almacenado en Hielo**



**TESIS PROFESIONAL**

Que para obtener el Título de

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

Presenta:

**Emmy Alan Montaña Cota**

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2016

# Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## **APROBACIÓN**

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de **Emmy Alan Montaña Cota** la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de **QUÍMICO EN ALIMENTOS**.

---

**Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera**

**Presidente**

---

**Q.B. César Benjamín Otero León**

**Secretario**

---

**Dr. Saúl Ruíz Cruz**

**Vocal**

---

**Dr. Francisco Rodríguez Félix**

**Suplente**

## DEDICATORIA

A mis padres Nelly Cota y Emiliano Montaña, por estar junto a mí siempre en todo momento, apoyándome en todas mis decisiones y ayudándome a salir adelante en cada una de ellas. Gracias por su paciencia, cuidado, cariño y por enseñarme a ser una mejor persona.

A mis abuelos José Cota, Amada Velarde, Manuel Montaña y Amparo Figueroa por estar en los momentos importantes de mi vida, quererme y apoyarme siempre.

A mi hermana Karen por estar presente conmigo y encontrar ese apoyo en mí.

A mis amigos y compañeros, por tantos momentos de alegría que hemos pasado juntos.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente a la Universidad de Sonora por permitirme ser parte de ella y haber realizado mis estudios de licenciatura, ya que gracias a ese apoyo fue posible todo esto.

Un profundo agradecimiento a mi director de tesis Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera quien depositó en mí su confianza, apoyo, conocimiento y amistad en la realización de este trabajo.

De igual manera, agradezco a todos los integrantes de mi comité de tesis Q.B. César Benjamín Otero León, Dr. Francisco Rodríguez Félix y Dr. Saúl Ruíz Cruz, quienes ayudaron a enriquecer este trabajo de investigación y que fueron partícipes de mi formación académica.

Al Laboratorio de Investigación en Alimentos (LIA) de la Universidad de Sonora donde fue posible llevar a cabo el experimental de este trabajo.

A todos los maestros y doctores que ayudaron a fortalecer mi formación académica durante toda la licenciatura.

Un agradecimiento muy grande a Nathaly Montoya, por su apoyo, conocimiento, recomendaciones, etc. MUCHAS GRACIAS.

A las amistades que me apoyaron durante este transcurso Carlos Muñoz, José Moreno y Regina Mendivil. Gracias por estar ahí conmigo en las buenas y en las malas siempre en todo momento, gracias por su gran amistad.

A todas las personas que ayudaron a realizar este trabajo en especial Jazmín López, Alejandra Cárdenas y Machuy. Quienes me apoyaron durante el experimental.

A todas las amistades y compañeros de las carreras QBC y QA por permitirme conocerlos y por generar una amistad con todos ustedes.

A los márgaros Che, Tony, Lino, Negro, Topo, Blas, Diego, Alex y Aarón. Por su amistad y apoyo desde pequeños.

## CONTENIDO

	Página
APROBACIÓN.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
CONTENIDO.....	v
LISTA DE TABLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
OBJETIVOS.....	xi
Objetivo General.....	xi
Objetivos Específicos.....	xi
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Generalidades de la Sierra ( <i>Scomberomorus sierra</i> ).....	3
Situación Actual de la Pesca.....	3
Producción Mundial y Nacional de Sierra.....	4
Calidad del Pescado: Principales Cambios <i>Posmortem</i> .....	5
Cambios Bioquímicos.....	6
Índice K.....	6
Cambios Físicoquímicos.....	7
pH.....	7

Color.....	7
Textura.....	8
Capacidad de retención de agua.....	8
Cambios Por Acción Bacteriana.....	9
Bacterias responsables del deterioro del pescado.....	10
Principales reacciones de deterioro bacteriano.....	10
Películas y Recubrimientos Comestibles en Alimentos.....	11
Función de las Películas y Recubrimientos Comestibles en Alimentos.....	11
Principales Componentes de los Recubrimientos Comestibles.....	14
Quitosano.....	16
Generalidades del Quitosano.....	16
Actividad Antimicrobiana del Quitosano.....	18
Principales Aplicaciones del Quitosano.....	20
Alimentos.....	20
Compuestos Antimicrobianos Naturales.....	21
Aceites Esenciales.....	22
Plantas con Compuestos Antimicrobianos.....	23
Compuestos fenólicos presentes en la planta del tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> ).....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Obtención de Especímenes de Sierra.....	25
Preparación del Extracto de la Planta de Tomate.....	25

Preparación y Aplicación de Recubrimientos Comestibles.....	26
Estudio de Almacenamiento.....	27
Determinaciones Bioquímicas.....	27
ATP y Productos de Degradación.....	27
Índice K.....	28
Determinaciones Fisicoquímicas.....	28
pH.....	28
Color.....	29
Textura.....	29
Capacidad de Retención de Agua.....	29
Evaluación Microbiológica.....	30
Mesófilos Aeróbios.....	30
Piscrófilos Aeróbios.....	31
Análisis Estadístico.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
Efecto Sobre la Bioquímica <i>Posmortem</i> del Músculo de Sierra.....	32
Catabolismo de Nucleótidos.....	32
Índice K.....	34
Efecto Sobre la Calidad Física del Músculo de Sierra.....	36
pH.....	36
Color.....	38
Parámetro L*.....	38
Parámetro a*.....	39



Parámetro b* .....	39
Textura.....	40
Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	42
Efecto Sobre la Calidad Microbiológica.....	43
CONCLUSIONES.....	47
RECOMENDACIONES.....	48
REFERENCIAS.....	49

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Funciones de los recubrimientos comestibles.....	12
2. Aplicaciones de los recubrimientos comestibles.....	13
3. Principales materias primas utilizadas en películas y recubrimientos comestibles.....	14
4. Grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas.....	23

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sierra del Pacífico ( <i>Scomberomorus sierra</i> ).....	3
2. Producción de sierra en los estados noroccidentales de México .....	5
3. Representación esquemática de la conservación de alimentos con y sin películas comestibles adicionadas con diversos tipos de aditivos.....	15
4. Representación esquemática de las estructuras químicas de la quitina y quitosano.....	17
5. Contenido de ATP, ADP, AMP, IMP, HxR y Hx en los filetes de sierra aplicados con los diferentes tratamientos (control (a), quitosano (b), quitosano-extracto (c) y extracto (d)) almacenados durante 15 días en hielo.....	33
6. Comportamiento del índice K en el músculo de sierra ( <i>Scomberomorus sierra</i> ) almacenado en hielo durante 15 días. ....	35
7. Comportamiento del pH en el músculo de sierra de los tratamientos C, QE, Q y E almacenados en hielo.....	37
8. Cambio de color en función de los parámetro L*, a* y b* del músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días.....	40
9. Cambios en la textura del músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días.....	41
10. Efecto de la CRA en el músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días.....	43
11. Cambios en la carga microbiana mesófila durante el almacenamiento en hielo del filete de sierra durante 15 días.....	45
12. Cambios en la carga microbiana psicrófila durante el almacenamiento en hielo del filete de sierra durante 15 días.....	46

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la efectividad de un extracto etanólico obtenido a partir de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*) incorporado a un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la frescura, calidad y vida de anaquel del filete de Sierra (*Scomberomorus sierra*) almacenados en hielo.

### **Objetivos Específicos**

Preparar un extracto etanólico a partir de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*).

Determinar el efecto del extracto etanólico de la planta del tomate (*Solanum lycopersicum*) en un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la calidad (física, bioquímica y microbiológica) y vida de anaquel del filete de sierra (*Scomberomorus sierra*) almacenados en hielo.

## RESUMEN

Es bien sabido que los productos de la pesca son altamente perecederos debido a los cambios bioquímicos endógenos propios del músculo. Se sabe que en condiciones ideales de manejo poscaptura, la vida de anaquel de dicho producto es mayor que uno que fue manipulado inadecuadamente. De allí la importancia de manipular adecuadamente los productos de la pesca. En México, las condiciones y la falta de tecnología, hacen difícil la capacitación del personal encargado en el procesamiento de los productos pesqueros, por consiguiente hoy en día se buscan alternativas que contribuyan a preservar la calidad de los productos de la pesca y reducir pérdidas poscaptura en este sector. Dentro de estas alternativas se encuentra el uso de empaques inteligentes y/o biodegradables, el uso de aditivos alimentarios (sintéticos y naturales) y, la aplicación de compuestos antimicrobianos, entre otros. Por lo anterior, en el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de un extracto etanólico obtenido a partir de la planta del tomate (*Solanum lycopersicum*), el cual fue incorporado a un recubrimiento comestible a base de quitosano, sobre la calidad y vida de anaquel del filete de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Para ello, se recolectaron organismos entre 35-50 cm de longitud, los cuales se filetearon y los filetes obtenidos se dividieron en 4 lotes.

Los lotes se etiquetaron de acuerdo al tratamiento aplicado como C (Control), Q (Quitosano), E (Extracto) y QE (Quitosano-Extracto). Una vez aplicados los tratamientos por inmersión, los lotes se almacenaron en hielo por un periodo de 15 días. Durante este tiempo se tomaron muestras a los días 0, 3, 6, 9, 12 y 15 para llevar a cabo los análisis de textura, pH, color, capacidad de retención de agua (CRA), ATP y productos de degradación e índice K. Asimismo, se realizó un análisis microbiológico (mesófilos y psicrófilos) a los 0, 5, 10 y 15 días de almacenamiento.

Con respecto a los resultados obtenidos se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) de los tratamientos QE, Q y E con respecto al tratamiento C en los valores de pH, color, cuenta total de microorganismos, ATP y productos de degradación e índice K, mientras que, no se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) en el análisis de textura y capacidad de retención de agua entre los tratamientos.

A partir de los resultados de la actividad antimicrobiana, se indica que los lotes quitosano, quitosano-extracto y extracto, aumentaron la vida de anaquel del músculo de sierra a más de 15 días en almacenamiento en hielo, en comparación al lote control, en el que se observó un máximo de 10 días de almacenamiento.

## INTRODUCCIÓN

A diferencia de la carne de los animales terrestres, los productos de la pesca son altamente perecederos debido principalmente a los cambios bioquímicos endógenos *posmortem* del propio músculo del animal. Es bien sabido que en condiciones ideales de manejo poscaptura, la vida de anaquel del pescado es mayor comparado con un producto procesado inadecuadamente. En México, sin embargo, es sumamente difícil la capacitación del personal encargado al procesamiento de productos marinos, a consecuencia de diversos factores incluyendo la falta de tecnología. Debido a lo anterior, el pescado pierde su calidad comestible por el aumento de la carga microbiana y por las reacciones bioquímicas *posmortem* que se presentan de manera natural en los productos de la pesca.

Uno de los recursos pesqueros más importantes en el estado de Sonora, México, es la sierra (*Scomberomorus sierra*). Esto se debe a la fuente de trabajo que genera, así como al alto volumen de captura y valor de la producción. La sierra se captura por pescadores ribereños y al igual como ocurre con otras especies capturadas de forma artesanal, no se conoce cuál es el efecto que tienen las prácticas artesanales de captura y de manejo poscaptura en la calidad y vida de anaquel en su filete (Márquez et al., 2011)

Debido al interés del consumidor y de la industria alimentaria por obtener alimentos inocuos y de alta calidad, la tecnología de alimentos utiliza diversos métodos para alargar la vida de anaquel de los productos (Guilbert et al., 1996). Dentro de estos se encuentran la congelación, enlatado, secado, empaques al vacío, empaques con atmosferas modificadas, etc. sin embargo, el consumidor no obtiene un producto totalmente fresco, si no uno procesado. Por ello, se han dirigido los esfuerzos de la investigación de los recubrimientos comestibles como una alternativa para cubrir estas necesidades. Existen fuentes disponibles naturales para ser utilizadas como agentes formadores de recubrimientos comestibles que pueden potencialmente reducir la necesidad de películas hechas con materiales sintéticos (Ávila et al., 2008).

La principal utilidad de los recubrimientos comestibles se debe a la capacidad de actuar como un accesorio que mejora la calidad de un alimento, extendiendo la vida de anaquel y la posibilidad de aumentar la eficiencia de los empaques de alimentos, mediante la incorporación de sustancias que enriquecen sus propiedades funcionales (Ávila et al., 2008).

Dentro de las principales materias primas utilizadas para la síntesis de recubrimientos comestibles se encuentra la caseína, gluten de trigo, celulosa, colágeno, proteína de suero de leche, zeína de maíz, proteína de soya, almidón, gelatina, alginatos y quitosano entre otros (Cagri et al., 2004).

El quitosano es uno de los polisacáridos más utilizados en la formación de películas y recubrimientos comestibles, debido principalmente a sus características de maleabilidad, biocompatibilidad y a sus propiedades antimicrobianas. Sin embargo, la naturaleza hidrofílica del quitosano impide que funcione adecuadamente como una barrera contra la humedad. No obstante, la biocompatibilidad que tiene con diversos compuestos, es utilizada para incorporar compuestos hidrofóbicos como terpenoides, compuestos fenólicos, etc. (López et al., 2012).

El uso de antimicrobianos (conservadores) es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño a la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis), redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, extraídos y purificados principalmente de hierbas, plantas y especias. La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas generalmente se atribuye a compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales (Rodríguez, 2011).

Taveira et al. (2012) determinaron que la planta del tomate posee una gran cantidad de metabolitos activos incluyendo compuestos fenólicos. Hoy en día, numerosos estudios han sido dirigidos a los efectos benéficos de las sustancias fenólicas derivadas de plantas. Estos compuestos poseen actividad antioxidante, antibacterial y antiviral (Silva et al., 2014).

Silva et al. (2014) determinaron los compuestos presentes en un extracto de la planta de tomate, demostrando que dentro de las principales moléculas fenólicas se encontraron el ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido ferúlico, rutina y quercetina.



## ANTECEDENTES

### Generalidades de la Sierra (*Scomberomorus sierra*)

*Scomberomorus sierra* Jordan and Starks, se encuentra ampliamente distribuida desde las costas de Baja California, hasta Perú, incluyendo las Islas Galápagos (Espino-Barr et al., 2012). La sierra es una de las especies más capturadas a lo largo de la costa del Pacífico mexicano (Montemayor-López et al., 1999).

Perteneiente a la familia *Scombridae*, la sierra (Figura 1) posee un cuerpo alargado, fuertemente comprimido, hocico mucho más corto que el resto de la cabeza, además consta de 4 a 8 branquiespinas en el primer arco branquial en la rama superior y de 15 a 20 en la rama inferior. Su peso llega a ser hasta de 3.6 kg, con una talla máxima de 76 cm de longitud de horquilla (Torres-Arreola, 2005).



Figura 1. Sierra del Pacífico (*Scomberomorus sierra*). (Espino-Barr et al., 2012)

### Situación Actual de la Pesca

De acuerdo a la FAO (2014), la producción pesquera mundial en aguas marinas ascendió a 82.6 millones de Ton en 2011 y a 79.7 millones de Ton en 2012. En estos dos

años, 18 países capturaron un promedio de un millón de Ton anuales, lo cual representa más del 22.6 % de las capturas marinas mundiales. De estos países, 11 se encuentran en Asia, siendo China el principal productor de pesca con más de 13 millones de Ton anuales. En el caso de México, nuestro país ocupa el lugar número 16 de la lista, con una producción estimada de 1.46 millones de Ton.

### **Producción Mundial y Nacional de Sierra**

Dentro de las principales especies marinas de captura en el mundo, el género *Scomberomorus spp.* se encuentra posicionado en el lugar número 15, debido a que en el 2012 se registraron alrededor de 914, 591 ton (FAO, 2014).

En el año 2014, la producción total de pesca en México alcanzó aproximadamente 1.6 millones de ton, destacando especies como sardina, cazón, camarón, sierra, mojarra, tiburón, pulpo, anchoveta, atún, entre otras (CONAPESCA, 2015).

Uno de los recursos pesqueros más importantes en el estado de Sonora, México, es la sierra (*Scomberomorus sierra*), lo cual se debe a la fuente de trabajo que genera, así como al valor económico y volumen de captura. El principal estado productor noroccidental de sierra en México, según la CONAPESCA (2015) en el año 2014, fue Sonora (Figura 2) con una producción total de aproximadamente 4 mil ton, seguido de Sinaloa (2 mil ton), Baja California (1600 ton) y Baja California Sur (528 ton).

En el estado de Sonora, la producción total de sierra en el año 2014 fue de alrededor de 4,013.49 Ton, distribuyéndose la mayor producción en los meses de abril, mayo y Junio. Se observa también que durante los meses de enero, julio y septiembre la pesca de sierra es deficiente, ya que se registró una producción entre 71 y 99 Ton (CONAPESCA, 2015).

La sierra se captura por pescadores ribereños y al igual como ocurre con otras especies capturadas de forma artesanal, se sabe que la calidad y vida de anaquel de su filete esta íntegramente relacionado con las prácticas artesanales de captura y de manejo poscaptura (Márquez et al., 2011).

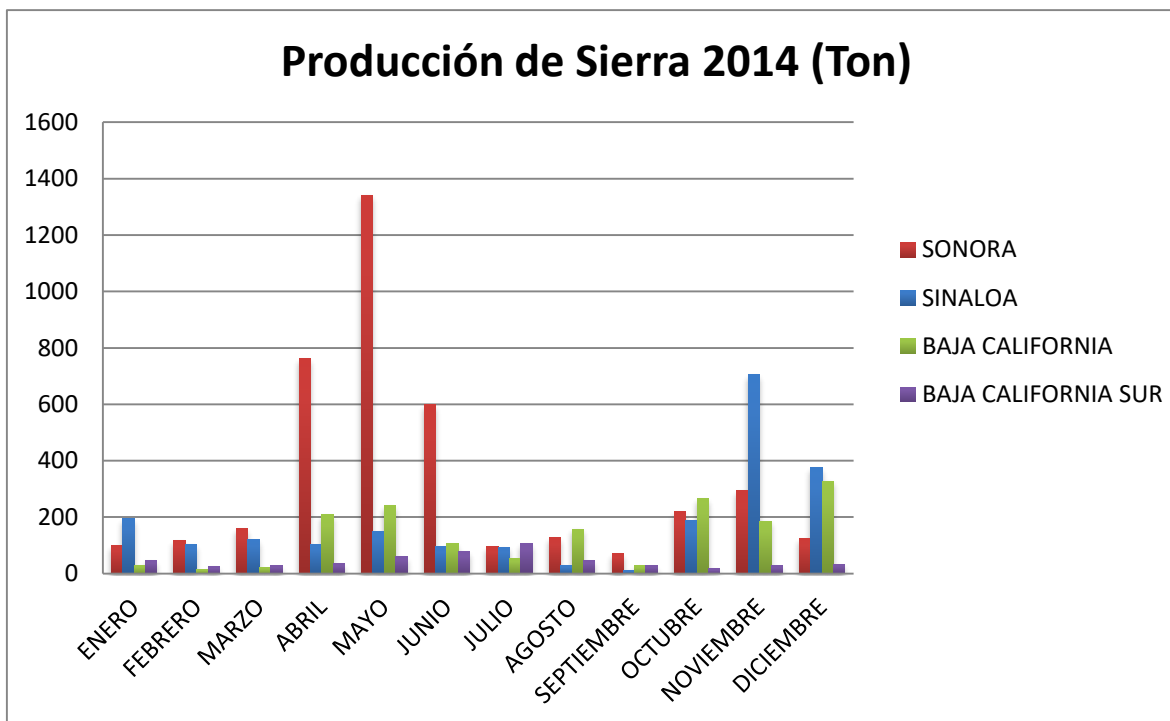


Figura 2. Producción de sierra en los estados noroccidentales de México.  
(CONAPESCA, 2015)

### Calidad del Pescado: Principales Cambios *Postmortem*

Una vez que los organismos son capturados y sacrificados, el suministro de oxígeno a las células es interrumpido debido a la falta de circulación sanguínea, por lo tanto la glucólisis aeróbica se detiene y se activan otras vías de producción de energía durante las primeras etapas *postmortem* (Montoya-Camacho, 2013).

El músculo del organismo experimenta una serie de cambios bioquímicos, físicos, químicos y microbiológicos, los cuales, impactan directamente en la calidad y vida de anaquel del producto. Dentro de los cambios más significativos ocurridos en el músculo se encuentran la degradación y desnaturalización de proteínas, degradación de la adenosina 5'-trifosfato

(ATP), disminución del pH muscular, producción de compuestos indeseables (trimetilamina, bases volátiles totales, etc.), cambios en la textura, disminución en la capacidad de retención de agua (CRA), cambios de color en el músculo, etc. La velocidad con la que ocurren esta serie de cambios está influenciada directamente con el manejo poscaptura y procesamiento del producto.

Es bien sabido que las embarcaciones de la pesca artesanal son pequeñas y desprovistas de una bodega refrigerada, por lo que los organismos permanecen a temperatura ambiente favoreciendo el desarrollo de cambios bioquímicos, físicos y microbiológicos que impactan en la frescura, calidad y vida de anaquel del filete como producto final. La velocidad con la que ocurren estos cambios está relacionada con las condiciones de captura, manejo poscaptura y procesamiento. Por ello y con la finalidad de retardar los procesos *posmortem*, se debe disminuir rápidamente la temperatura del músculo, permitiendo así conservar por mayor tiempo la calidad y su frescura inicial (Ocaño-Higuera et al., 2009)

## **Cambios Bioquímicos**

**Índice K.** Dentro de los cambios bioquímicos *posmortem* más significativos en el músculo de los organismos acuáticos, se encuentra la degradación de adenosina-5'-trifosfato (ATP). El ATP es metabolizado de acuerdo a la siguiente secuencia: ATP  $\rightarrow$  Adenosina-5'-difosfato (ADP)  $\rightarrow$  Adenosina-5'-monofosfato (AMP)  $\rightarrow$  inosina-5'-monofosfato (IMP) Inosina (HxR)  $\rightarrow$  Hipoxantina (Hx)  $\rightarrow$  Xantina (X)  $\rightarrow$  ácido úrico (Ehira y Uchiyama, 1987).

Dependiendo de la especie y el tipo de músculo, los niveles de ATP normalmente caen rápidamente en las primeras 24 h *posmortem* del animal. El Índice K se calcula utilizando la concentración de ATP y sus productos de degradación. Este índice se expresa como el porcentaje de la relación entre la suma de la concentración de HxR e Hx, entre la sumatoria de la concentración de ATP y de sus productos de degradación (ATP, ADP, AMP, IMP, HxR, Hx):

$$\% \text{ Índice } K = \left( \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \right) \times 100$$

Los productos de la pesca con un Índice K comprendido entre 0-20% se consideran como productos muy frescos, del 21-50% como moderadamente frescos, mientras que un filete con un índice K mayor al 70% no es recomendable para el consumo humano (Saito et al., 1959).

### **Cambios Físicoquímicos**

**pH.** Posterior al sacrificio, la generación de ácido láctico en el músculo del pescado produce un descenso en el pH muscular. La magnitud de este dependerá directamente en la cantidad de reservas energéticas presentes en el tejido del pescado antes de la captura y de la cantidad de energía gastada que utiliza en el sacrificio. Si el pescado contiene reservas de energía más altas cuando se sacrifica, el pH final del *rigor mortis* tenderá a ser más bajo, lo que puede influenciar directamente con el sabor, olor, textura y estabilidad durante el almacenamiento.

Una vez que el *rigor mortis* finaliza, la actividad bacteriana genera un incremento gradual de pH debido a la producción de amoníaco y de otros compuestos básicos. De tal forma que el pH muscular primero disminuye durante el inicio del *rigor mortis*, para incrementarse progresivamente después de su resolución producto de la actividad bacteriana (Ocaño-Higuera et al., 2007).

**Color.** La determinación del color en los productos pesqueros es uno de los aspectos más importantes en el control de calidad, ya que los cambios de color que se presentan en el músculo durante el almacenamiento se relacionan con la disminución de frescura y la aceptación por el consumidor.

La medición del color se lleva a cabo por colorimetría de triestímulo, utilizando un colorímetro con el cuál se obtienen los parámetros de color “L” (luminosidad), “a” (Matiz rojo-verde) y “b” (Matiz amarillo-azul) de la muestra a medir (Ocaño-Higuera et al., 2007).

Uno de los principales problemas en la industria de los productos de la pesca es la decoloración *posmortem* que sufren los organismos durante el almacenamiento en hielo y/o congelado. La pérdida de color en el músculo se atribuye debido a la oxidación de algunas hemoproteínas en el músculo de pescado durante el almacenamiento (Chaijan et al., 2005).

**Textura.** La textura del músculo de los animales acuáticos se ve afectada por diferentes factores como el tipo de músculo, el contenido de proteínas y el contenido de lípidos. Después de la muerte del animal, algunas enzimas autolíticas y la acción microbiana son activadas, haciendo que el músculo pierda su elasticidad y firmeza al transcurrir el tiempo *posmortem* (Tingting et al., 2013).

Bajo condiciones *posmortem*, la textura se ve influenciada por el *rigor mortis*, el grado de descenso de pH muscular, la proteólisis de proteínas miofibrilares y tejido conectivo y la temperatura de almacenamiento (Roth et al., 2006).

La suavidad del músculo está asociada a la desaparición de los discos Z, la disociación del complejo actinmiosina, la destrucción de conectina y la desnaturalización del tejido colaginoso. La pérdida de textura está relacionada con la actividad de proteasas endógenas (calpaínas, colagenasas y catepsinas lisosomales) sobre las proteínas miofibrilares, debido a que la mayoría de estas son activas a pH de 5.5 - 6.5. La firmeza de los productos pesqueros tiene una fuerte relación con la cantidad de colágeno presente en el músculo, el cuál es el principal constituyente del tejido conectivo (Ashie et al., 1996; Díaz-Tenorio, 2006; Roth et al., 2006)

**Capacidad de retención de agua.** La capacidad de retención de agua (CRA) se define como la habilidad de una muestra por retener sus fluidos bajo condiciones específicas definidas. Esta característica es una de las principales propiedades funcionales de las proteínas y la de mayor utilización en la tecnología de productos cárnicos y pesqueros (Magdaleno y Valdéz, 1994).

Está determinada por las características del animal, entre ellas: la especie, sexo, tipo de músculo; así como también por factores físicos y químicos como el pH, presencia de iones divalentes, adición de sales, temperatura y cambios *posmortem* (Domínguez y Gutiérrez, 1993).

Asimismo, la CRA también depende de la cantidad de aminoácidos polares y no polares que la integren, así como de la facilidad que tienen de interactuar con moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno. Los aminoácidos polares son los grupos que ejercen una mayor influencia en las interacciones proteína-agua. Los grupos más importantes de los aminoácidos polares son los ácidos carboxílicos (-COOH), grupos amino (-NH<sub>2</sub>) y los grupos hidroxilos (-OH), los cuales tienen una mayor capacidad para ligar agua cuando se encuentran en su forma ionizada, por lo que el pH del medio es de fundamental importancia (Ocaño-Higuera et al., 2007).

Muchas de las propiedades físicas de la carne (color y textura en carne cruda) y de la aceptación (jugosidad y blandura) dependen de su capacidad para retener agua (Rengifo y Ordoñez, 2010). La CRA es una de las propiedades funcionales de mayor utilización en la tecnología de productos cárnicos, ya que todas las características requeridas en el producto final se encuentran influenciadas por la CRA del músculo (Kristoffersen et al., 2007).

Se ha descrito que la CRA es considerada como un buen indicador para la evaluación de la calidad, ya que se ha demostrado que su disminución es el resultado de la pérdida de frescura (Wang et al., 2006)

### **Cambios por Acción Bacteriana**

La calidad y seguridad son aspectos de suma importancia para la industria alimentaria. Deficiencias en ellos, generan intoxicaciones alimentarias con diferentes niveles de gravedad, los cuales van desde una leve indisposición (vómito, disentería, etc.) hasta una enfermedad crónica o potencialmente mortal (Huss, 1995).

Actualmente, la industria de la pesca y de la acuicultura sufren grandes pérdidas económicas debido al rápido deterioro de este grupo de alimentos como consecuencia de la

microbiota que presentan, en donde en su mayoría son bacterias Gram negativas de origen deteriorativo (Huss, 1995).

La velocidad del deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la combinación química del producto y del tipo de carga microbiana inicial (Rodríguez-Sauceda, 2011).

**Bacterias responsables del deterioro del pescado.** El deterioro por acción bacteriana se debe a microorganismos que están presentes en el pescado fresco en tres puntos específicos: limo externo, agallas e intestinos. Sin embargo, no todos los microorganismos presentes son igualmente causantes de los cambios de calidad. *Photobacterium sp*, *Shewanella putrefaciens*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas spp*, *Aeromonas spp* y bacterias lácticas son miembros de la microbiota de los pescados de agua templada. Sin embargo, *S. putrefaciens* es el organismo específico del deterioro de los pescados y mariscos de agua fría almacenados sobre hielo, produciendo trimetilamina y sulfuro de hidrógeno. *Pseudomonas spp* y *Shewanella spp* son los agentes específicos del deterioro de pescados de agua mar templada, mantenidos en hielo. *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas lundensis* son las especies predominantes, mientras que *Pseudomonas fragi* y *Pseudomonas putida* son detectadas con menos frecuencia. La temperatura de almacenamiento y la composición de la atmósfera afecta la proporción de las especies mencionadas en la población final del pescado (FAO, 2015).

**Principales reacciones de deterioro bacteriano.** El deterioro del pescado es debido principalmente a la autólisis, la oxidación química de lípidos, el crecimiento bacteriano y el metabolismo resultante en la formación de compuestos de olor desagradables, siendo estos últimos los más importantes. Algunas reacciones de deterioro pueden ser usadas para evaluar la situación bacteriológica de los productos pesqueros. Según lo descrito anteriormente, han sido desarrollados agares en los cuales es posible el recuento de organismos productores de H<sub>2</sub>S. Durante el deterioro del pescado magro de carne blanca, una de las principales reacciones de deterioro es la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (OTMA) a trimetilamina (TMA). Cuando el OTMA es reducido a TMA, ocurren algunos cambios físicos: disminuye el potencial redox, el pH incrementa y la conductancia eléctrica incrementa. La medición de estos cambios, en un sustrato rico en OTMA inoculado con la muestra, puede utilizarse para evaluar el nivel de organismos con potencial de deterioro; así, cuanto más



rápido ocurre el cambio mayor es el nivel de organismos del deterioro. Los cambios del potencial redox en un sustrato que contiene OTMA pueden ser registrados por electrodos u observando el color de un indicador redox; y también mediante determinaciones conductimétricas, el tiempo transcurrido hasta que se registre un cambio significativo es inversamente proporcional a la cantidad inicial de bacterias (FAO, 2015).

## **Películas y Recubrimientos Comestibles en Alimentos**

Hoy en día, la industria alimentaria moderna se enfrenta a una serie de retos y requiere de enfoques específicos para poder superarlos. Uno de estos cambios es la utilización de nuevos empaques de alimentos para aquellos productos con una vida de anaquel corta. Sin embargo, el uso de empaques convencionales como el plástico y sus derivados es efectivo para la preservación de alimentos, aunque estos materiales provocan graves problemas ambientales. Esta problemática requiere que los tecnólogos en alimentos y los especializados en empaques busquen alternativas para superar los daños que ocasionan estos tipos de materiales de embalaje. La búsqueda de empaques de materiales económicos es un tema muy importante en la industria alimentaria (Aider, 2010)

Las películas comestibles se definen como matrices continuas que pueden ser formadas por proteínas, polisacáridos y/o lípidos (Banker, 1966). La diferencia entre una película y un recubrimiento comestible (RC) radica en el método de elaboración y formación. Los recubrimientos se forman directamente en la superficie de un alimento, mientras que las películas se elaboran de forma separada y en algunas ocasiones tienen la función como película de soporte (Ávila et al., 2008).

### **Función de los Recubrimientos Comestibles en Alimentos**

Debido a que en la mayoría de los alimentos el crecimiento microbiano se desarrolla en las superficies y que dicho crecimiento es la principal causa de deterioro microbiano, la elaboración de RC se ha convertido en un área de investigación prometedora. Los RC no están

diseñados con la finalidad de reemplazar los materiales de empaques sintéticos, su importancia recae en la capacidad de actuar como un conjunto para mejorar la calidad del alimento en general, extender el tiempo de vida de anaquel y mejorar la eficiencia económica de los materiales para empaquetamiento (Kester y Fennema, 1986).

Una de las funciones más importantes de los RC en la industria alimentaria es la reducción de la pérdida de humedad, debido a que se deben de mantener ciertos niveles de actividad de agua ( $A_w$ ) ya que es un factor de suma importancia en la calidad y seguridad del alimento (Labuza y Contreras-Medellín, 1981).

Además de la retención de humedad del producto, se han encontrado diferentes propiedades funcionales de las películas o recubrimientos comestibles en alimentos (Tabla 1).

Tabla 1. Funciones de los recubrimientos comestibles (Kester y Fennema, 1986)

Reducir la pérdida de humedad
Reducir el transporte de gases ( $CO_2$ , $O_2$ , etc.)
Reducir la migración de aceites y grasas
Reducir el transporte de solutos
Mejorar de las propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos
Proveer integridad estructural al alimento
Retener componentes volátiles
Contener aditivos

Recientemente, se han utilizado las propiedades funcionales de los RC para obtener aplicaciones importantes en la industria alimentaria. Los RC se han utilizado como barrera

contra oxígeno y humedad, retarda el crecimiento microbiano, controla el balance de humedad, aumenta la integridad estructural del alimento, entre otras (Tabla 2).

Tabla 2. Aplicaciones de los recubrimientos comestibles (Yu-Hernández, 2004)

<b>Propósito</b>	<b>Aplicaciones</b>
Proveer una protección individual contra la humedad y el oxígeno	Pescado fresco, queso, carne y derivados, botana.
Retardar el crecimiento microbiano externo	Alimentos de humedad intermedia
Controlar el balance de humedad dentro de un alimento heterogéneo	Pizzas, sándwiches, pasteles
Mejorar las propiedades mecánicas	Cacahuates, camarones, botana, jaiba
Proveer integridad estructural para reforzar la estructura del alimento	Carne reestructurada, pescado, alimentos liofilizados
Restringir la migración de humedad	Frutas, horneados, congelados
Proteger las piezas que estarán dentro de tazas o bolsas	Quesos, congelados, helados
Proteger las superficies o el empaçado de la absorción de grasa	Cubos de queso, fruta seca, botana, congelados
Mejorar la apariencia del alimento, añadiéndole brillo	Productos de panificación, frutas, botana
Impartir o mejorar sabor y color	Alimentos diversos

Los RC tienen la capacidad de incorporar agentes antimicrobianos para proveer estabilidad microbiológica a los alimentos, ya que sirven como acarreadoras de un amplio número de compuestos, los cuales incluyen enzimas, agentes quelantes, bacteriocinas, benzoatos, propionatos, parabenos, sorbatos, agentes curantes y antimicrobianos de origen natural como los aceites esenciales. Estos compuestos tienen la capacidad de extender la vida

de anaquel de un producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en la superficie de los alimentos (Rooney, 2002; Cagri et al., 2004; Min y Krochta, 2005; Lin y Zhao, 2007; Ozdemir y Floros, 2008).

### Principales Componentes de los Recubrimientos Comestibles

Los recubrimientos comestibles están formados principalmente por tres componentes: polímero, solvente y plastificante. Se considera al polímero como el constituyente mayoritario de un RC. Se utilizan polímeros como hidrocoloides o lípidos.

En la Tabla 3 se presentan los principales hidrocoloides y polímeros utilizados para la síntesis de RC, sin embargo, la concentración de cada componente determinará las propiedades mecánicas y de barrera sobre el alimento (Donhowe y Fennema, 1994; Cha y Chinnan, 2004).

Tabla 3. Principales materias primas utilizadas en películas y recubrimientos comestibles (Cagri et al., 2004).

Colágeno	Proteína de suero de leche	Quitano
Caseína	Gluten de trigo	Celulosa
Zeína de maíz	Proteína de soya	Almidón
Gelatina	Alginatos	

En cuanto al solvente, es necesario el uso de un compuesto que sea adecuado e inocuo para alimentos. Generalmente se limita al uso de agua con una gran variedad de valores de pH para poder solubilizar el polímero; en raras ocasiones se utilizan soluciones acuosas de etanol (Banker, 1966; Guilbert, 1996).

El plastificante es un componente muy importante para poder formar los RC. El uso de los plastificantes tiene como objetivo principal emulsificar fases que no son miscibles, además de impartir características particulares a la película como flexibilidad y cierta resistencia.

Los plastificantes suavizan la rigidez de la estructura de la película, incrementando la movilidad de las cadenas poliméricas y reduciendo las fuerzas intermoleculares, con esto se mejoran las propiedades mecánicas como la elongación. Es importante que el plastificante sea miscible en el polímero, generalmente se utilizan compuestos de bajo peso molecular y de alto punto de fusión. El sorbitol, glicerol, manitol, sacarosa y polietilenglicol son los plastificantes de grado alimenticio más utilizados (Banker, 1966; Donhowe y Fennema, 1994; Guilbert, 1996; Cagri et al., 2004; Srinivasa y Tharanathan, 2007).

La Figura 3 da una representación esquemática de la conservación de los alimentos mediante el uso de RC que pueden tener actividad, evitando el deterioro en un alimento provocado por la respiración, ganancia de humedad, desarrollo superficial de microorganismo u oxidación (Guilbert et al., 2002).

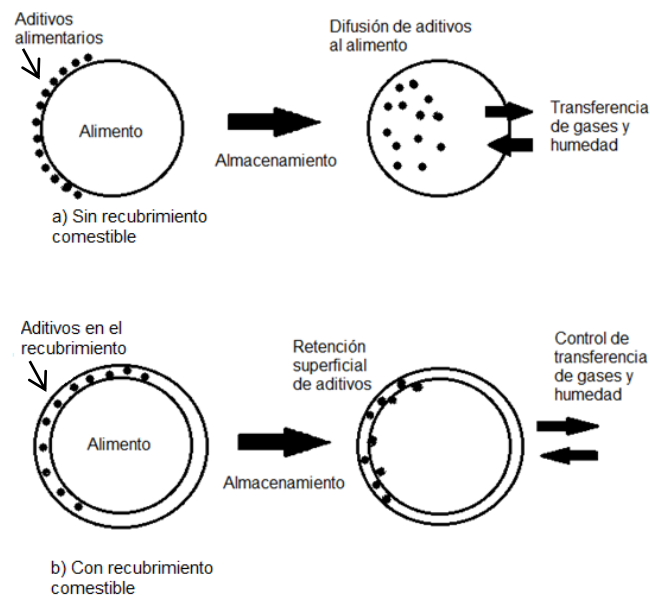


Figura 3. Representación esquemática de la conservación de alimentos con y sin películas comestibles adicionadas con diversos tipos de aditivos (Elaboración propia, modificada de Rooney, 2002).

## Quitosano

La producción mundial de crustáceos, calamar y pulpo se ha incrementado enormemente en los últimos años, y con ella la generación de desechos contaminantes. Los residuos de crustáceos contienen principalmente del 30-40% de proteínas, 30-50% de carbonato de calcio y 20-30% de quitina, proporción que varía según la especie, edad, alimentación y temporada de captura (Daum et al., 2007; Luna et al., 2006). La quitina es un polisacárido de aminoazúcares, es el segundo polímero natural más abundante en el mundo después de la celulosa. Constituye una parte importante del exoesqueleto (caparazones, cáscaras, tenazas y conchas) de crustáceos como camarones, cangrejos y langostas; también está presente en insectos y arácnidos, así como en las paredes celulares de algas verdes, hongos filamentosos y levaduras (Plascencia-Jatomea et al., 2014).

Dentro de los principales derivados de la quitina se encuentra el quitosano y los quitoooligómeros, de hecho, prácticamente toda la quitina que se extrae se utiliza casi de forma exclusiva para la producción de quitosano, oligosacáridos y glucosamina; estos compuestos se caracterizan por ser naturales, no tóxicos y de bajo o nulo impacto ambiental, además de ser inocuos y estar ampliamente distribuidos en la naturaleza (Daum et al., 2007; Kurita, 2006; Srinivasa y Tharanathan, 2007). Las películas o recubrimientos comestibles pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de polímeros, solventes y plastificantes.

Dentro de los polímeros más importantes debido a las diversas propiedades que presenta, se encuentra el quitosano, el cual posee propiedades específicas que lo hacen único comparado con otros materiales.

### Generalidades del Quitosano

El quitosano es un heteropolisacárido que se encuentra en casi un tercio del total de la pared celular de algunos hongos (Agulló et al., 2003), sin embargo, su principal fuente de obtención es mediante la desacetilación alcalina de la quitina (Majeti y Kumar, 2000).

La quitina es un homopolisacárido formado por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranososa (GlcNAc, N-acetil glucosamina) unidas por enlaces glicosídicos  $\beta$  (1-4), y constituyen la mayor fuente de contaminación en zonas costeras (Majeti y Kumar, 2000). La extracción de la quitina se lleva a cabo por una remoción acida del carbonato de calcio (desmineralización), generalmente utilizando altas temperaturas con HCl, HNO<sub>3</sub>, etc. seguido de una desproteinización (remoción de proteínas). En este paso se utilizan normalmente tratamientos alcalinos (NaOH). En su extracto crudo, la quitina es altamente ordenada en una estructura cristalina y translúcida. Sin embargo, es débilmente soluble y posee una reactividad bastante baja (Goy et al., 2009).

El quitosano es el derivado N-desacetilado de la quitina. La reacción de la desacetilación, es decir, la pérdida del grupo acetilo del grupo amida del carbono 2, da lugar a un grupo amino en esa posición (Figura 4), y cuando la desacetilación del material de partida es incompleta se obtiene una mezcla de cadenas que contienen residuos de unidades GlcNAc y 2-amino-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcN) unidos por enlaces glicosídicos  $\beta$ (1-4), cuya relación depende de las condiciones de reacción y que genera quitosanos con distintas propiedades estructurales, físicas, químicas y funcionales (Majeti y Kumar, 2000).

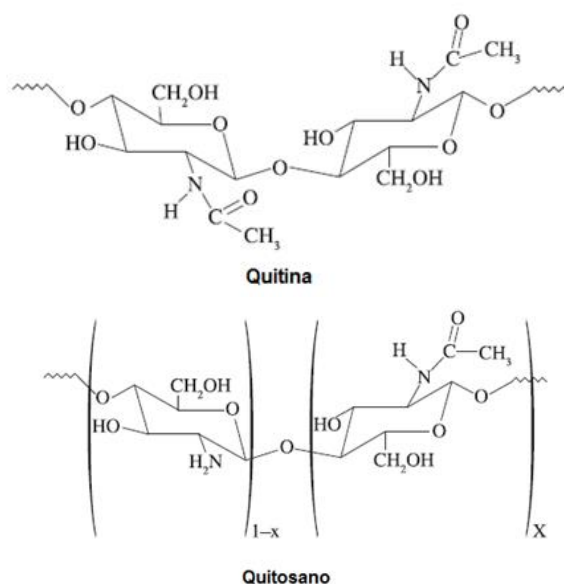


Figura 4. Representación esquemática de las estructuras químicas de la quitina y quitosano (Goy et al., 2009)

El quitosano es caracterizado por su peso molecular y por su grado de acetilación. Comercialmente el quitosano está disponible como > 85% de unidades desacetiladas (grado de acetilación < 15%) y pesos moleculares entre 100 y 1,000 KDa. No existe un estándar específico para clasificar el peso molecular del quitosano, pero ha sido aceptado como quitosano de bajo peso molecular (QBPM) < 50 KDa, quitosano de mediano peso molecular (QMPM) de 50-150 KDa y quitosano de alto peso molecular (QAPM) > 150 kDa (Goy et al., 2009).

El quitosano es una base débil y es insoluble en agua, pero soluble en soluciones acuosas ácidas diluidas por debajo de su pKa (~ 6.3) en el cual, las unidades de glucosamina (-NH<sub>2</sub>) pueden convertirse a su forma protonada soluble (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). La solubilidad del quitosano depende de varios factores, entre ellos el origen biológico, el peso molecular y el grado de acetilación (Shepherd et al., 1997).

En los últimos años, se han reportado una gran cantidad de propiedades funcionales del quitosano. Entre las propiedades más importantes del quitosano se encuentran su actividad antimicrobiana, su poder de unión y su actividad antioxidante. Además por sus características biológicas es utilizado en alimentos, industria farmacéutica, industria textil, agricultura, tratamientos de aguas e industrias de cosméticos (Domard, 2011; Kim y Thomas, 2007; Kong et al., 2010; López-Caballero et al., 2005).

### **Actividad Antimicrobiana del Quitosano**

Existen numerosos estudios acerca de la actividad antimicrobiana que posee el quitosano. Dicha actividad se ve influenciada debido a varios factores como el tipo de quitosano, el grado de desacetilación, el peso molecular, las condiciones del medio donde es aplicado (pH, fuerza iónica, presencia de solutos susceptibles a la reacción con las interacciones electrostáticas o covalentes de algunos componentes presentes en el medio, etc). Sin embargo, es generalmente reconocido que las levaduras y los mohos son el grupo de microorganismos más sensible ante el quitosano, seguido de bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas. El quitosano de bajo peso molecular (QBPM) es más soluble en agua que el quitosano de alto peso molecular (QAPM), la solubilidad del quitosano es importante debido para reaccionar con los sitios activos de los microorganismos, aunque es



bien sabido que el QBPM presenta poca o nula actividad antimicrobiana o antifúngica. El quitosano con un alto grado de desacetilación posee un mayor poder antimicrobiano, debido al aumento de grupos amino ( $-NH_2$ ) en la molécula lo cual aumenta la solubilidad en agua y la carga neta (Aider, 2010).

Como ya se mencionó anteriormente, es bien sabido que la actividad antimicrobiana del quitosano aumenta al incrementar el grado de desacetilación y el peso molecular (Dash et al., 2011) y en la literatura se han propuesto varios mecanismos para describir esta actividad. Algunos mecanismos son: a) la activación de procesos de defensa de los tejidos del huésped; b) acción como un agente quelante; c) formación, generalmente por QAPM, de una capa impermeable en la superficie de la célula; d) adsorción y floculación de sustancia electronegativas en la célula perturbando las actividades fisiológicas; y e) muerte de los microorganismos (Aranaz et al., 2009; Alishahi y Aider, 2011; Savard et al., 2002).

Los principales mecanismos asociados al poder antimicrobiano radican en la interacción de cargas a través de los grupos aminos de la molécula de quitosano con los grupos cargados negativamente en la superficie de las células, lo cual modifica la permeabilidad evitando la entrada o salida de materiales esenciales para la célula. Además, la unión íntegra del quitosano con las cargas negativas del ADN de las células da lugar a la inhibición de la síntesis de ARN mensajero, evitando la producción de proteínas. A pesar de lo anterior, el mecanismo exacto de la actividad antimicrobiana del quitosano sigue siendo ambiguo; más aún, varía en función del modo de aplicación (Plascencia-Jatomea et al., 2014).

## **Principales Aplicaciones del Quitosano**

La quitina y el quitosano poseen estructuras únicas y propiedades multidimensionales, funciones altamente sofisticadas y ampliamente aplicadas en varias industrias (Pillai et al., 2009), como en la acuicultura, odontología, producción de membranas (Park y Kim, 2010), así como también en el área médica, química analítica, liberación controlada de fármacos (Hernández, 2004; Rinuado, 2006), purificación de aguas residuales y la quelación de iones metálicos.

Además, posee aplicaciones como agente antimicrobiano, enlazante de grasas, protección de células cancerígenas, agentes hipocolesterolémicos, antioxidantes, piel artificial, apósitos para heridas (Wasikiewicz y Yeates, 2013) y en terapia de genes (Prashanth y Tharanathan, 2007).

**Alimentos.** La utilización de conservantes naturales para aumentar la vida de anaquel de los alimentos se ha convertido actualmente en una estrategia popular. La quitina y sus derivados se utilizan ampliamente para la síntesis de recubrimientos comestibles para preservar la calidad y frescura, así como también extender la vida de anaquel de algunos alimentos (Qiu et al., 2013).

Se han desarrollado RC a base de quitosano para su uso en frutas y vegetales tales como fresas, toronjas, litchi (Ramos-García et al., 2012), espárragos verdes (Qiu et al., 2013), manzanas (Shao et al., 2012), naranjas (Bashir et al., 2011), mango (Chien et al., 2006), champiñones (Eissa, 2007), melón (Ruíz-Cruz et al., 2010), entre otros.

A pesar de la gran cantidad de estudios que se han llevado a cabo sobre RC en alimentos de origen vegetal, en productos cárnicos se ha utilizado el quitosano, por su alta actividad antimicrobiana, para controlar los principales patógenos involucrados en la transmisión de enfermedades a los seres humanos; además, se utiliza debido a su eficacia en el almacenamiento de la carne y sobre el mejoramiento de sus propiedades organolépticas (Valenzuela y Arias, 2012).

Diversas investigaciones en alimentos de origen animal demuestran que los RC a base de quitosano prolongan la vida de anaquel, además mantienen la frescura y calidad de los productos alimenticios. Darmadji e Izumimoto (1994) demostraron que el quitosano disminuía significativamente la oxidación de lípidos en la carne de vacuno. Lee y col (2003) observaron que al utilizar quitosano de 30 y 120 kDa en trozos de carne de cerdo, se prolongó la vida de anaquel del producto y se presentó una menor oxidación lipídica.

Park et al. (2010) reportaron una mayor duración del color rojo característico de la carne vacuna, al ser recubiertas con películas de polietileno de baja densidad y quitosano en ácido láctico. Vargas et al. (2011) lograron incrementar el contenido de metamioglobina en hamburguesas de carne de cerdo.

Ramezani et al. (2014) compararon la efectividad de recubrimientos de quitosano y nanopartículas de quitosano en filetes de carpa plateada, demostrando que los RC a base de quitosano prolongaban la vida de anaquel del filete en condiciones de refrigeración, siendo más efectivos los RC de nanopartículas de quitosano.

Yuan et al. (2015) evaluaron el efecto de un RC a base de quitosano sobre la calidad y vida de anaquel del camarón blanco del pacífico almacenado en hielo, demostrando que disminuyó significativamente la cantidad de bases volátiles totales y la cuenta total de mesófilos aeróbios. Concluyendo un aumento en la vida de anaquel del producto.

Ojagh et al. (2009) aplicaron recubrimientos comestibles a base de quitosano enriquecidos con aceite esencial de canela, encontrando que el sinergismo de la actividad antimicrobiana del quitosano más la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela, prolongó la vida de anaquel en filetes de trucha arcoíris almacenada en condiciones de refrigeración.

### **Compuestos Antimicrobianos Naturales**

Los animales utilizan el sistema inmunológico como barrera de defensa contra microorganismos patógenos que intentan invadir al organismo. Las plantas carecen de este tipo de defensa biológica, sin embargo, diferentes investigaciones demuestran que utilizan metabolitos secundarios para evitar la proliferación de microorganismos.

Algunos compuestos sintéticos utilizados por la industria alimentaria han sido encontrados en la naturaleza: ácido benzoico en arándanos rojos, ácido málico en manzana, ácido cítrico en limones, ácido tartárico en uvas, etc. La eficiencia de un compuesto antimicrobiano depende directamente del tipo, genética, especie y cepa, además de diferentes factores como el pH del medio, actividad de agua, temperatura, composición atmosférica y la carga microbiana inicial del producto contaminado (Singh, 2012).

La actividad antimicrobiana de los compuestos fitoquímicos está determinada por sus propiedades químicas, así como el pKa, los rangos hidrofóbicos/lipofóbicos, solubilidad y volatilidad (Stratford y Eklund, 2003). El pH y la polaridad de los compuestos es uno de los factores más importantes para aumentar el poder antimicrobiano. La actividad antimicrobiana también se ve influenciada según el microorganismo que se desea atacar, ya que depende

de la pared celular, membrana celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas y de sus sistemas genéticos. El uso de combinaciones de antimicrobianos es regularmente más efectivo que el utilizar un solo tipo de compuesto, debido a que algunos microorganismos no son inhibidos o eliminados tan fácilmente (Beuchat, 2001; Leistner, 1995).

Cuando se combinan dos o más compuestos antimicrobianos pueden suceder tres efectos. Primero puede haber un efecto aditivo, “el efecto combinado es igual a la suma de los efectos observados con los agentes probados individualmente o igual al agente más activo en la combinación”. El efecto aditivo ocurre cuando la actividad microbiana del compuesto no aumenta ni disminuye con la presencia de otro agente. El segundo efecto es el sinergismo, “el efecto que se observa con una combinación es mayor que la suma de los efectos observados de los agentes probados individualmente”. El sinergismo se refiere al incremento de la actividad antimicrobiana de un compuesto con la presencia de un segundo agente antimicrobiano. Por último puede ocurrir el efecto antagónico “la actividad antimicrobiana de un compuesto es reducida con la presencia de un segundo agente antimicrobiano” (Rodríguez-Sauceda, 2011).

## **Aceites Esenciales**

Los aceites esenciales (AE) o aceites volátiles son líquidos aromáticos con características aceitosas obtenidas por destilación de algunas partes de plantas (flores, semillas, hojas, frutas y raíces). Los compuestos individuales de los aceites esenciales extraídos de las plantas han sido utilizados en alimentos. Los AE son una mezcla de componentes como terpenos, alcoholes, cetonas, fenoles, ácidos, aldehídos y ésteres (Corbo et al., 2009; Nychas et al., 2003). La mayoría de los AE han sido clasificados como agentes generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus siglas en inglés). Las propiedades antimicrobianas de los AE están relacionadas a la gran cantidad de componentes que presentan aunque aún no se sabe a profundidad el mecanismo de acción ante las células bacterianas (Burt, 2004; Lambert et al., 2001).

## Plantas con Compuestos Antimicrobianos

Se han aislado alrededor de 12,000 compuestos procedentes de organismos vegetales y se estima que constituyen tan solo el 10% de los metabolitos secundarios (Domingo y López-Brea, 2003). Un porcentaje importante posee cierta actividad frente a los microorganismos. La razón de ser de estos compuestos se desconoce, aunque existen diferentes teorías. Los principales grupos de compuestos generados por plantas se muestran a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4. Grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas (Domingo y López-Brea, 2003).

Grupo químico	Compuesto	Planta	Actividad
Fenoles simples	Timol	<i>Thymus officinalis</i> (Tomillo)	General
	Ácido antémico	<i>Matricaria chamomilla</i>	<i>S. aureus</i>
	Terpenoide	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Salmonella</i>
Quinonas	Hipericina	<i>Hypericum perforatum</i>	VIH
Taninos		<i>Quercus rubra</i>	Bacterias
		<i>Eucalyptus globulus</i>	virus
		<i>Melissa officinalis</i>	
Cumarinas		<i>Matricaria chamomilla</i>	Virus
Flavonas	Catequina	<i>Camellia sinensis</i>	<i>Shigella</i>
	Isoflavona	<i>Millettia thonningii</i>	<i>Vibrio</i>
	Quercitina	<i>Quercus rubra</i>	<i>Schistosoma</i>
Alcaloides	Coca	<i>Erythroxylum coca</i>	Cocos Gram +

Los compuestos fenólicos son los compuestos fitoquímicos más simples y constituyen en un anillo fenólico sustituido. Los lugares y el número de grupos hidroxilo (-OH) en el anillo parece que están relacionados directamente con la toxicidad frente a los microorganismos (Domingo y López-Brea, 2003).

**Compuestos fenólicos presentes en la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*).** Las propiedades del tomate han sido extensamente investigadas, sin embargo pocos estudios se han enfocado a la planta del tomate. La planta del tomate (tallo y hojas) ha sido descartada debido a que se consideraba basura, sin embargo el contenido biológico de sustancias activas presentes en la planta son hoy en día una importante fuente de investigación (Silva et al., 2014).

Taveira et al. (2012) demostraron que la planta del tomate contiene una gran cantidad de metabolitos secundarios con actividad biológica, entre ellos los compuestos fenólicos. Varios estudios demuestran que los compuestos fenólicos poseen actividad antioxidante, antibacterial y propiedades antivirales (Chiang et al., 2003; Choi et al., 2009; Quideau et al., 2011).

En 1996, fue estimado que al menos 500,000 especies de plantas, poseían concentraciones diferentes de componentes bioactivos. Los metabolitos fenólicos presentes en plantas han sido utilizados en la industria farmacéutica y en la preservación de alimentos (Li et al., 2013; Schnitzler et al., 2008; Su y D'Souza, 2011).

Silva et al. (2014) mediante el estudio de extractos fenólicos extraídos a partir de la planta del tomate, reportaron que la mayor concentración de compuestos fenólicos se encontró en las hojas de la planta. Los principales compuestos identificados fueron el ácido gálico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido caféico, rutina y quercetina.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Obtención de Especímenes de Sierra**

Los especímenes de sierra (*Scomberomorus sierra*) utilizados en el presente estudio, fueron recolectados por pescadores rivereños en la costa de Bahía de Kino, Sonora, México, en el mes de octubre del 2015. Los organismos tuvieron un peso y talla promedio de  $1.21 \pm 0.16$  Kg y  $61.9 \pm 2.76$  cm, respectivamente.

Los pescados se enhielaron para su transporte al Laboratorio de Investigación en Alimentos (LIA) del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora en un tiempo no mayor a las 4 h poscaptura. Una vez en el laboratorio, los pescados se lavaron con agua destilada, se filetearon de forma manual para posteriormente aplicar los tratamientos que más adelante se describen.

### **Preparación del Extracto de la Planta de Tomate**

El proceso de extracción se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Silva-Beltrán et al. (2014). Esta consistió en pesar y mezclar 35 g de material seco de planta de tomate con 280 mL de solución de extracción (etanol y ácido acético al 5% en una proporción 95:5). La mezcla se maceró por 72 h con agitación constante y en completa oscuridad. Para obtener el primer sobrenadante, la muestra se filtró al vacío en papel filtro Whatman número 1.

El residuo obtenido se sonicó por 20 min con 50 mL de solución de extracción a una temperatura controlada de 20°C. La muestra se filtró para obtener el segundo sobrenadante, el cual se mezcló con el primero.

El extracto resultante se concentró en un rotavapor (Yamato water bath BM500, Yamato rotator evaporator RE301), y finalmente, el extracto se almacenó a -20 °C hasta su utilización.

## **Preparación y Aplicación de Recubrimientos Comestibles**

Para el presente trabajo se realizaron los siguientes lotes con su respectivo tratamiento: Lote control (C): Los filetes fueron almacenados directamente en hielo sin ningún tipo de recubrimiento comestible ni extracto fenólico; Tratamiento de Quitosano-Extracto (QE): Se aplicó el extracto etanólico (0.3% v/v) obtenido a partir de la planta del tomate utilizando como vehículo el recubrimiento comestible a base de quitosano (1% p/v); Tratamiento de Quitosano (Q): Se aplicó a los filetes un recubrimiento comestible a base de quitosano (1% p/v), evitando la incorporación del extracto fenólico; Tratamiento de Extracto (E): Únicamente fue aplicado el extracto obtenido de la planta de tomate (0.3% v/v) a los filetes antes de su almacenamiento. Todos los filetes fueron colocados en bolsas herméticas antes de haberse almacenado en hielo.

Para todos los tratamientos, excepto para el C, se utilizó una solución de ácido acético al 1% v/v donde se homogenizó el extracto obtenido de la planta de tomate y el quitosano, según el tratamiento aplicado.

En la elaboración de los RC para el tratamiento QE, primeramente se homogenizó quitosano al 1% (p/v) en una solución de ácido acético al 1% (v/v) durante 8 h con agitación magnética. Posteriormente, la solución se homogenizó utilizando un Ultra-Turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) a 36,288 xg durante 2 min. Finalmente, se añadió glicerol al 0.5% (v/v) como plastificante y se agregó el extracto de la planta de tomate al 0.3% (v/v). La solución se homogeneizó a 17,500 xg por agitación magnética durante 3 min. Los recubrimientos comestibles fueron aplicados por inmersión de los filetes en la solución anteriormente preparada durante 2 min.

Para el tratamiento Q, primeramente se homogeneizó quitosano al 1% (p/v) en una solución de ácido acético al 1% (v/v) durante 8 h. Posteriormente, la solución se homogeneizó utilizando un Ultra-Turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) a 36,288 xg durante 2 min. Finalmente, se añadió glicerol al 0.5% (v/v) como plastificante. La solución se homogeneizó a 17,500 xg por agitación magnética durante 3 min. El recubrimiento comestible fue aplicado por inmersión de los filetes en la solución durante 2 min.



Finalmente, para el tratamiento E, se homogeneizó 0.3% (v/v) de extracto de la planta de tomate en una solución de ácido acético al 1% (v/v) a 17,500 xg por agitación magnética durante 3 min. Una vez homogenizado, los filetes se sumergieron en la solución durante 2 min.

### **Estudio de Almacenamiento**

Una vez aplicados los tratamientos anteriormente descritos, los filetes se empacaron en bolsas de polietileno, para posteriormente almacenarse 15 días en hielo. Durante este tiempo, se tomaron muestras a los días 0, 3, 6, 9, 12 y 15 para llevar a cabo los análisis de textura, pH, color, capacidad de retención de agua (CRA), ATP y productos de degradación e índice K. Asimismo, se realizó un análisis microbiológico, en donde se determinó mesófilos y psicrófilos a los 0, 5, 10 y 15 días de almacenamiento.

### **Determinaciones Bioquímicas**

#### **ATP y Productos de Degradación**

La cuantificación de ATP, ADP, AMP, IMP, HxR e Hx, se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). Para ello se siguió la técnica descrita por Ryder (1985). Esta consistió en preparar extracto homogeneizando 3 g de músculo con 15 mL de ácido perclórico 0.6 M a 0°C, utilizando un homogeneizador Ultra-Turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) a 18,000 rpm durante 1 min.

Después, el homogeneizado se centrifugó a 5,500 xg a 0°C en una centrífuga refrigerada Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804), durante 10 min. Posteriormente, se tomó una alícuota de 7 mL del sobrenadante para neutralizarse hasta un pH de 6.5-6.8 con KOH 1 M, dejándose reposar posteriormente por 30 min a 0°C. Inmediatamente, el perclorato de potasio se removió por filtración con papel Whatman No. 4. El sobrenadante se diluyó a 15 mL con agua destilada y las muestras se almacenaron a -80°C hasta su utilización.

Para la separación y cuantificación de los compuestos por HPLC se inyectó 20 µL del sobrenadante neutralizado y diluido a un cromatógrafo Varian Prostar Modelo 240 (Varian, Inc.

Walnut Creek, CA), utilizando una columna Varian de fase reversa C18 Ultrasphere ODS de 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de largo (Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA).

La fase móvil consistió de un buffer de fosfatos compuesto de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.04 M y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.06 M. El flujo utilizado fue de 1 mL/min. Los nucleótidos, nucleósidos y base nitrogenada se detectaron a 254 nm con un detector UV-Visible (Varian, Inc. Walnut Creek, CA).

## **Índice K**

A partir de la cuantificación de ATP, ADP, AMP, IMP, HxR e Hx, se procedió a calcular el índice K. Para ello, se empleó la ecuación reportada por Sagedhal et al. (1997) y descrita anteriormente.

## **Determinaciones Fisicoquímicas**

### **pH**

La determinación del pH muscular se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Woyewoda et al. (1986).

Para ello, se preparó un homogeneizado con 2 g de músculo y 18 mL de agua destilada, al cual se le introdujo el electrodo de un potenciómetro de punta Termo Electron Co. (Orion 420 A). El equipo fue calibrado diariamente con soluciones buffer estándares de pH.

### **Color**

La determinación del color en el músculo se llevó a cabo por colorimetría de triestímulo utilizando el espacio de color CIE  $L^*a^*b^*$ , para el cual, se utilizó un colorímetro MiniScan

HunterLab. El colorímetro fue ajustado en modo de reflectancia con una abertura en el puerto de lectura de 0.5 cm. Se obtuvieron los parámetros correspondientes: L\* (luminosidad), a\* (matiz rojo-verde) y b\* (matiz amarillo-azul).

El colorímetro se calibró de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Las mediciones de los parámetros anteriormente descritos se realizaron por ambas superficies del filete (superficie clara y superficie roja).

## **Textura**

Para la determinación de textura del músculo se utilizó un textuómetro Shimadzu Modelo EZ-S Shimadzu 346-54909-33. Para ello, se utilizó una celda de corte Warner-Bratzler. Se registró la fuerza de corte (N) máxima requerida para cortar las muestras empleadas, las cuales tuvieron dimensiones de 10 x 10 x 20 mm. Se utilizó una celda de compresión de 50 kg con una velocidad de cabezal de 20 cm/min. La fuerza aplicada fue transversal a las fibras musculares. La fuerza necesaria para romper el músculo se registró de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades (SI).

## **Capacidad de Retención de Agua**

La capacidad de retención de agua (CRA) de los filetes se calculó de acuerdo a la metodología descrita por Cheng et al. (1979). Se tomaron 2 g de músculo y se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL. La muestra se centrifugó en una centrifuga refrigerada marca Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804) a 19,600 xg durante 60 minutos a una temperatura de 4°C. La capacidad de retención de agua se expresó como la pérdida de agua respecto al contenido inicial de la muestra. Para dicha determinación se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% CRA = 100 - \left( \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \right)$$

Dónde:

$P_i$  = Peso inicial

$P_f$  = peso final después de decantar el agua del tubo y secar la superficie del músculo.

## Evaluación Microbiológica

### Mesófilos Aerobios

La evaluación de mesófilos aerobios presentes en el músculo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Mexicana “recuento de microorganismos aerobios en placa” (NOM-092-SSA1-1994, 1994). Se tomaron 10 g de músculo de sierra, los cuales fueron homogenizados con 90 mL de agua peptonada al 1% (p/v) estéril con ayuda de una licuadora convencional previamente esterilizada. Posteriormente se prepararon 5 diluciones seriadas tomando 1 mL de la dilución mayor y mezclando con 9 mL de agua peptonada al 1% (p/v) estéril. El tubo fue mezclado manualmente durante 7 segundos con 25 movimientos en un arco de 30 cm aproximadamente. Se tomó 1 mL de cada dilución y se colocó en una caja Petri estéril, después, se vaciaron 20 mL de Agar Plate Count (APC). De cada una de las diluciones, se inocularon por triplicado siguiendo la misma metodología. El agar y el inóculo se homogenizaron según la NOM-092-SSA1-1994, efectuando 6 movimientos circulares derecha a izquierda, 6 movimientos en sentido de las manecillas del reloj, 6 movimientos de derecha a izquierda y 6 movimientos de frente a atrás. Las placas fueron incubadas en posición invertida a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 48 h. Finalmente, se realizó un conteo en la dilución donde se encontraban entre 25 y 250 unidades formadoras de colonia (UFC). Los resultados se expresaron como Log UFC/g de músculo.

### Psicrófilos Aerobios

La evaluación de psicrófilos aerobios presentes en el músculo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Mexicana “recuento de

microorganismos aerobios en placa” (NOM-092-SSA1-1994, 1994). Se tomaron 10 g de músculo de sierra, los cuales fueron homogenizados con 90 mL de agua peptonada al 1% (p/v) estéril con ayuda de una licuadora convencional previamente esterilizada. Posteriormente se prepararon 5 diluciones seriadas tomando 1 mL de la dilución mayor y mezclando con 9 mL de agua peptonada al 1% (p/v) estéril. El tubo fue mezclado manualmente durante 7 segundos con 25 movimientos en un arco de 30 cm aproximadamente. Se tomó 1 mL de cada dilución y se colocó en una caja Petri estéril, después, se vaciaron 20 mL de Agar Plate Count (APC). De cada una de las diluciones, se inocularon por triplicado siguiendo la misma metodología. El agar y el inóculo se homogenizaron según la NOM-092-SSA1-1994, efectuando 6 movimientos circulares derecha a izquierda, 6 movimientos en sentido de las manecillas del reloj, 6 movimientos de derecha a izquierda y 6 movimientos de frente a atrás. Las placas fueron incubadas en posición invertida a  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 7-10 días. Finalmente, se realizó un conteo en la dilución donde se encontraban entre 25 y 250 unidades formadoras de colonia (UFC). Los resultados se expresaron como Log UFC/g de músculo.

### **Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron con las herramientas estadísticas clásicas como promedio y desviación estándar. Asimismo, se realizó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Tukey. Para ello, se utilizó el programa estadístico NCSS (Versión 6.0.22) (Kaysvill, Utah). Para cada determinación se realizaron 4 repeticiones a excepción de las determinaciones microbiológicas donde se emplearon solo 2 repeticiones. Para analizar los datos se empleó un nivel de significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

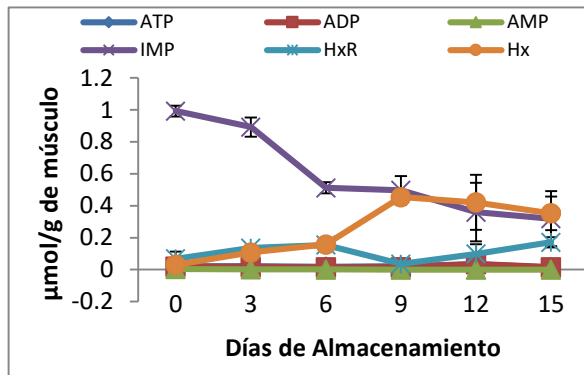
### Efecto Sobre la Bioquímica *Posmortem* del Músculo de Sierra

#### Catabolismo de Nucleótidos

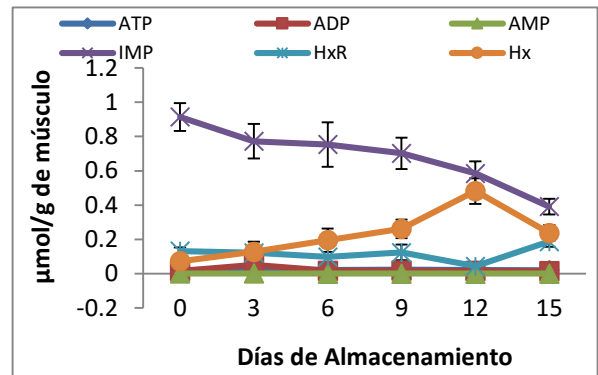
En el músculo de los organismos acuáticos, la degradación de la adenosina-5'-trifosfato (ATP) representa uno de los cambios *posmortem* más significativos.

La concentración de ATP y sus productos de degradación hasta Hx, ha sido utilizado como un buen indicador de frescura en los productos marinos (Massa et al., 2005). En las figuras 5a, 5b, 5c y 5d se pueden observar valores iniciales de ATP de  $0.021 \pm 0.001$ ,  $0.020 \pm 0.001$ ,  $0.024 \pm 0.001$  y  $0.021 \pm 0.001$   $\mu\text{moles/g}$  para los tratamientos Control (C), Quitosano (Q), Quitosano-Extracto (QE) y Extracto (E), respectivamente. Estos valores son menores a los encontrados por Montoya-Camacho (2013) y Ocaño-Higuera et al. (2009) quienes reportaron valores iniciales de 0.26 y 0.15  $\mu\text{moles/g}$  para *Oreochromis niloticus* y cazón, respectivamente. Los bajos valores iniciales de ATP en el músculo de sierra pueden atribuirse al gasto energético del organismo durante el forcejeo en la red.

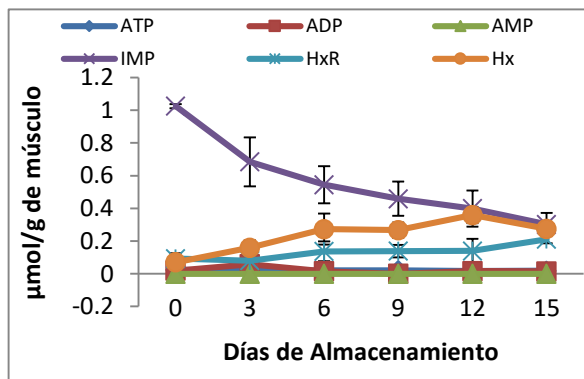
Por otro lado, el nucleótido predominante en el músculo de sierra en los cuatro tratamientos fue el IMP, presentando valores iniciales de  $0.99 \pm 0.03$ ,  $0.91 \pm 0.08$ ,  $1.03 \pm 0.01$  y  $0.98 \pm 0.06$   $\mu\text{moles/g}$  para los tratamientos C, Q, QE y E, respectivamente. Sin embargo, estos valores son menores a los encontrados por Batista et al. (2004) y Castillo-Yáñez et al. (2006), quienes reportaron 7.0 y 11.3  $\mu\text{moles/g}$  para los músculos de *Brycon cephalu* y sierra, respectivamente. Después de 15 días de almacenamiento, no se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en los valores finales de ATP entre los tratamientos C, Q, QE y E. Sin embargo, la concentración de IMP disminuyó ( $p < 0.05$ ) a  $0.31 \pm 0.17$ ,  $0.39 \pm 0.04$ ,  $0.30 \pm 0.06$  y  $0.41 \pm 0.13$   $\mu\text{moles/g}$  para los tratamientos C, Q, QE y E, respectivamente.



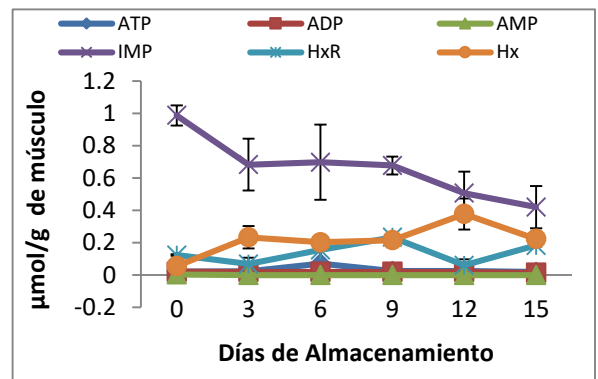
5 (a). Control



5 (b). Tratamiento con quitosano



5 (c). Tratamiento con quitosano-extracto



5 (d). Tratamiento con extracto

Figura 5. Contenido de ATP, ADP, AMP, IMP, HxR y Hx en los filetes de sierra aplicados con los diferentes tratamientos (control (a), quitosano (b), quitosano-extracto (c) y extracto (d)) almacenados durante 15 días en hielo. Los valores son la media de  $n = 4 \pm$  la desviación estándar.

Además, se encontraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos Q y QE. Por otra parte, la concentración de Hx aumentó ( $p < 0.05$ ) en cada uno de los tratamientos a valores de  $0.35 \pm 0.10$ ,  $0.23 \pm 0.04$ ,  $0.27 \pm 0.02$  y  $0.22 \pm 0.02$   $\mu\text{moles/g}$  para los tratamientos de C, Q, QE y E, respectivamente. No se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en los valores de Hx entre los tratamientos. La Hx contribuye a la progresiva pérdida de la calidad, ya que su acumulación en el músculo de pescado refleja la fase inicial de la degradación autolítica así como el deterioro bacteriano (Montoya-Camacho, 2013).

## Índice K

La cuantificación de la concentración de ATP y sus productos de degradación hasta Hx ha sido la base para calcular el índice K o índice de frescura, el cual es definido como la proporción (x 100) de los productos de degradación del ATP no fosforilados y el total de los productos de degradación del ATP (Ehira y Uchiyama, 1987).

En la Figura 6 se presenta el comportamiento del índice K en el músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Los organismos presentaron valores iniciales de  $8.63 \pm 3.05$ ,  $13.25 \pm 1.71$ ,  $15.92 \pm 2.09$  y  $14.81 \pm 1.36$  % para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Estos valores iniciales son similares a los descritos por Khalid et al. (2007) y Liu et al. (2010) quienes reportaron 13.8 y 12 % para los músculos de salmón del pacífico (*Onchrrhynchus nerka*) y tilapia (*Oreochromis niloticus*), respectivamente. Sin embargo, estos datos son menores a los encontrados por Castillo-Yáñez et al. (2006) quienes reportaron un valor inicial de 21.23 % para el músculo de sierra.

Después de 15 días de almacenamiento, se observó un aumento ( $p < 0.05$ ) en los valores finales del índice K encontrando  $61.61 \pm 5.91$ ,  $59.38 \pm 4.83$ ,  $50.04 \pm 2.72$  y  $48.07 \pm 5.32$  % para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Estos valores son similares a los encontrados por Li et al. (2012) y Ocaño-Higuera et al. (2009) quienes reportaron 54.5 y 58.9 % para los músculos de carpa (*Carassius auratus*) y cazón, respectivamente. Además, estos valores son menores a los encontrados por Özoğul et al. (2006) y Castillo-Yáñez (2006) quienes reportaron un valor final de 90.0 y 80.6% para los músculo de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) y sierra, respectivamente. Finalmente se encontraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos Q y E con respecto al C y QE. En la Figura 6 se



observa que el Índice K presentó un comportamiento lineal ( $p < 0.05$ ), lo cual puede utilizarse para predecir el tiempo de deterioro mediante una ecuación de primer orden.

Los productos marinos con un Índice K comprendido entre 0-20% son considerados como un producto muy fresco, del 21-50% como moderadamente fresco, mientras que un filete con un Índice K mayor al 70% no es recomendable para el consumo humano (Saito et al., 1959).

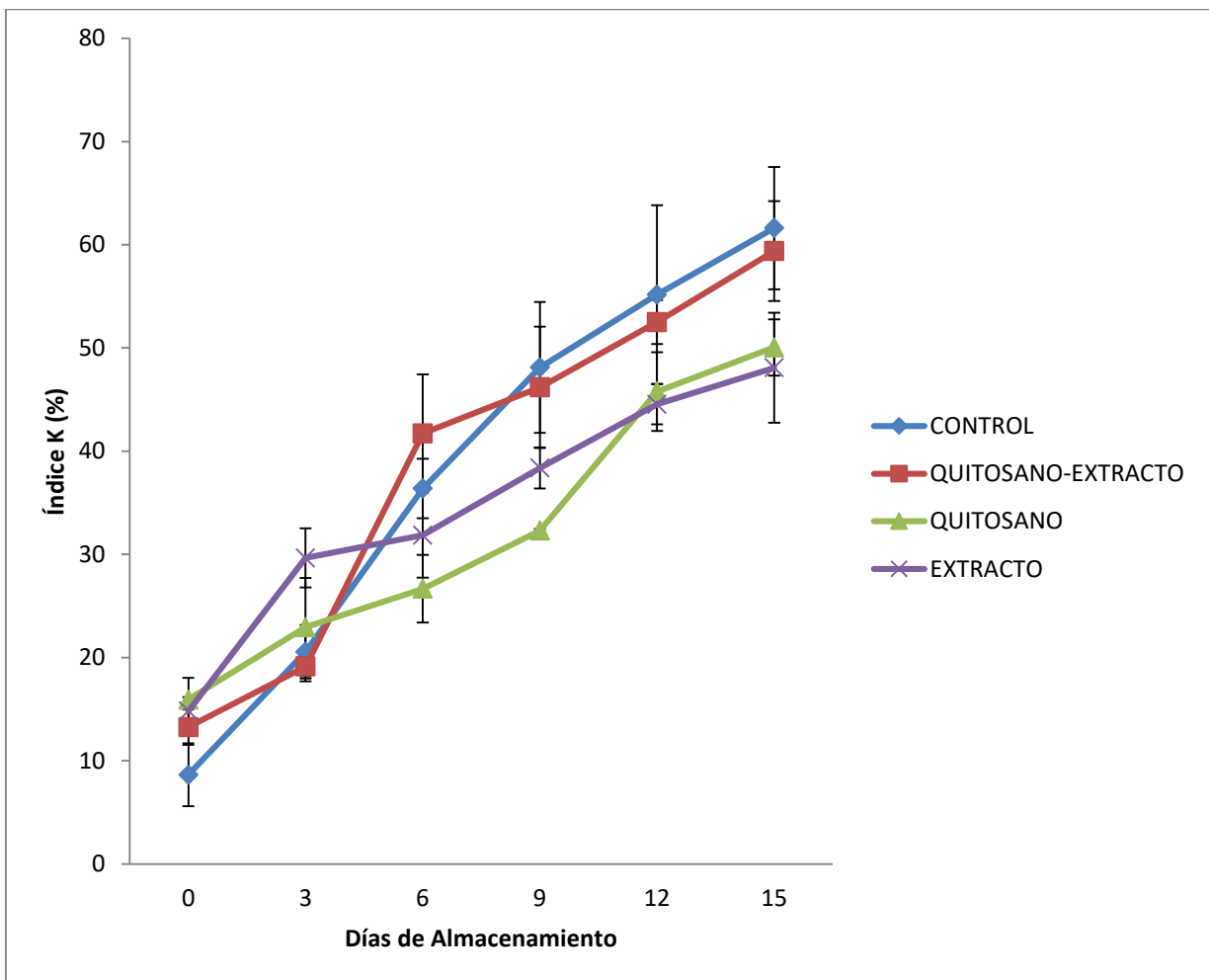


Figura 6. Comportamiento del índice K en el músculo de sierra (*Scomberomorus sierra*) almacenado en hielo durante 15 días. Los valores son la media de  $n = 4 \pm$  la desviación estándar.

## Efecto Sobre la Calidad Física del Músculo de Sierra

### pH

En la industria pesquera, un parámetro que reviste gran importancia al juzgar la frescura y calidad de los productos es la determinación del pH muscular (Copes et al., 2008).

En la Figura 7 se ilustra el comportamiento del pH del músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Se puede observar que el valor inicial de pH en el lote C fue de  $6.44 \pm 0.09$ . Este valor es similar a los descritos por Tomé et al. (2000) y Ocaño-Higuera et al. (2009), quienes describieron valores iniciales de pH de 6.48 y 6.43 en el músculo de tilapia (*Oreochromis spp.*), y cazón (*Mustelus lunulatus*), respectivamente. Sin embargo, es menor a los descritos por Montoya-Camacho (2013) y Ocaño-Higuera et al. (2010), quienes reportaron valores iniciales de 6.77 y 6.78 en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y mantarraya (*Raja clavata*), respectivamente.

Además, se encontraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en los valores de pH de los diferentes tipos de tratamientos comparados con el lote C los cuales fueron de  $6.24 \pm 0.05$ ,  $6.25 \pm 0.08$  y  $6.14 \pm 0.05$  para los tratamientos de QE, Q y E, respectivamente. Los bajos valores de pH iniciales pueden ser atribuidos al proceso al cual fueron sometidos los filetes de sierra, debido a la solución de ácido acético que se empleó para solubilizar el quitosano y el extracto etanólico para su posterior aplicación en el filete.

En la Figura 7, también se pueden observar valores mínimos de pH de  $6.30 \pm 0.11$  y  $6.16 \pm 0.17$  al día tres de almacenamiento, para los tratamientos C y QE, respectivamente, mientras que para los tratamientos de Q y E, los valores mínimos se encontraron al sexto día del almacenamiento obteniendo valores de  $6.01 \pm 0.06$  y  $6.08 \pm 0.10$ , respectivamente.

La velocidad y el descenso del pH muscular se debe a la acumulación de ácido láctico y su disociación en condiciones anaeróbicas *posmortem*, lo cual está en función a la cantidad inicial de glucógeno presente en el músculo, de la especie, estrés *antemortem*, etc. (Tomé et al., 2000; Batista et al., 2004; Durán et al., 2008; Ocaño-Higuera et al., 2009).

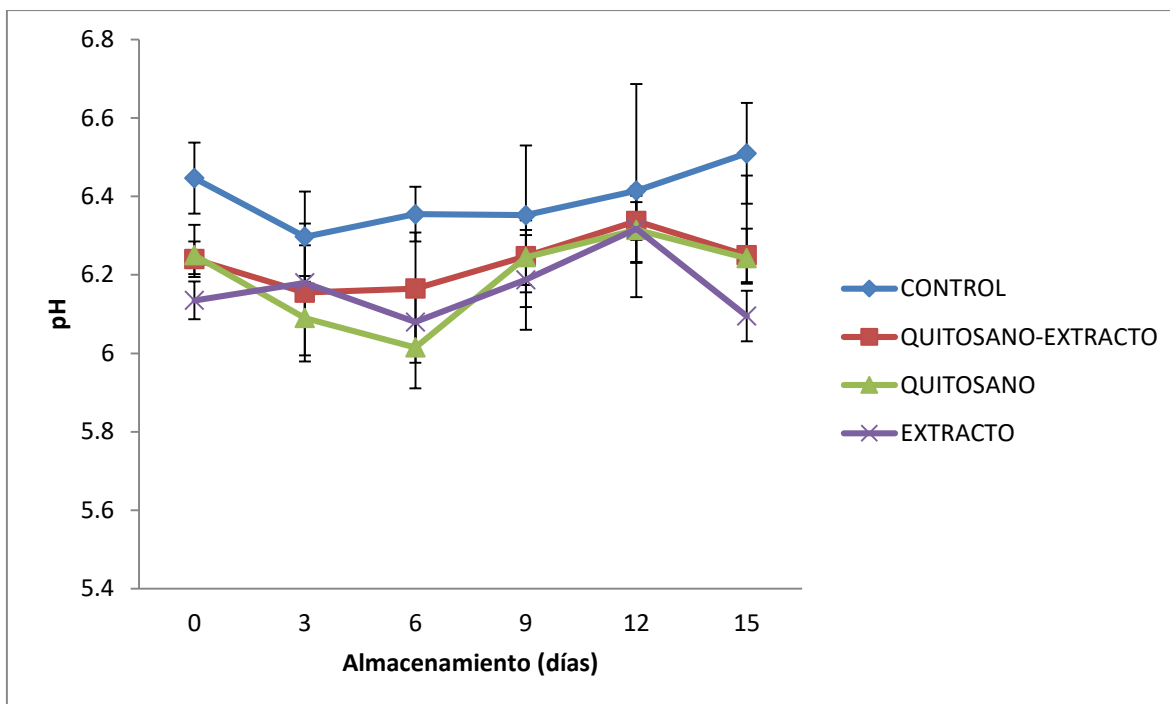


Figura 7. Comportamiento del pH en el músculo de sierra de los tratamientos C, QE, Q y E almacenados en hielo. Los valores son la media de  $n = 4 \pm$  la desviación estándar.

Después de 15 días de almacenamiento, se determinó que el pH final fue de  $6.51 \pm 0.13$  para el lote C. Este valor es menor a los descritos por Attouchi y Sadok (2009) y Tomé et al. (2000), quienes reportaron valores finales de pH de 6.80 y 6.73 para los músculos de *Spaurus aurata* y *Oreochromis spp*, respectivamente.

Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de los valores finales de pH de los diferentes tipos de tratamientos comparados con el lote C, reportando valores de  $6.25 \pm 0.07$ ,  $6.24 \pm 0.21$  y  $6.01 \pm 0.06$  para los tratamientos QE, Q y E, respectivamente.

Las variaciones en los valores iniciales y finales de pH en el lote C pueden ser atribuidos a la especie, estación del año, dieta, nivel de actividad o estrés durante la captura, así como también al tipo de músculo estudiado (Ocaño-Higuera et al., 2010). Las variaciones en los valores iniciales y finales de pH en los diferentes tipos de tratamientos (QE, Q y E) pueden ser explicados debido a que los componentes de los extractos antimicrobianos y aceites esenciales naturales interactúan con las membranas celulares del alimento (de

origen vegetal u origen animal), lo cual afecta directamente a la actividad metabólica del mismo (Sánchez-González et al., 2011).

El aumento del pH presente en el músculo durante el almacenamiento se asocia principalmente a la generación de compuestos volátiles como amoniaco y aminas (histamina, putrescina, cadaverina y tiramina) producida por vía autolítica (Huss, 1998) así como también por la acción bacteriana sobre los aminoácidos libres (Liu et al., 2010). Los valores de pH descritos en el presente estudio se encuentran por debajo de los valores que indican deterioro bacteriano, los cuales tienden a ser mayores de 7.0 (Woyewoda et al., 1986).

## Color

El color es uno de los parámetros más importantes para evaluar la calidad de un producto marino (Ocaño-Higuera, 2009). En la Figura 8 se presentan los valores obtenidos en función de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del músculo de sierra en cada uno de los cuatro tratamientos utilizados.

**Parámetro  $L^*$ .** Para el caso del parámetro  $L^*$  se observaron valores iniciales de  $56.76 \pm 4.81$ ,  $57.60 \pm 1.07$ ,  $60.78 \pm 2.55$  y  $58.96 \pm 2.40$  para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. El valor inicial reportado para el tratamiento C es menor al descrito por Ocaño-Higuera et al. (2010), quienes reportaron 51.54 para el músculo de *Raja clavata*. Después de 15 días de almacenamiento en hielo, los valores finales encontrados fueron de  $47.43 \pm 5.90$ ,  $58.34 \pm 3.51$ ,  $55.52 \pm 2.41$  y  $54.01 \pm 2.10$  para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el lote C y el tratamiento QE, obteniendo valores finales de  $47.43 \pm 5.90$  y  $58.34 \pm 3.51$  para ambos tratamientos, respectivamente, mientras que para los lotes Q y E no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) durante el almacenamiento en hielo con respecto a los demás tratamientos. El aumento del parámetro  $L^*$  se puede deber a que el músculo presenta pérdida de fluidos por exudación, lo cual genera un aspecto acuoso y con ello un aumento de la luminosidad (Montoya-Camacho, 2013), sin embargo, en el presente estudio no se encontró un aumento en este parámetro al final de los días del almacenamiento.

**Parámetro a\*.** Con respecto al parámetro a\*, se encontraron valores iniciales de  $7.45 \pm 1.06$ ,  $6.29 \pm 1.26$ ,  $5.82 \pm 1.08$  y  $6.80 \pm 1.15$  para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Estos valores son menores a los reportados por Ocaño et al. (2010) para el músculo de mantarraya (*Raja clavata*) obteniendo un valor inicial de  $19.33 \pm 5.06$ . Esta diferencia se debe principalmente al tipo de especie, sexo, edad, temporada, etc. Se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) durante el tiempo de almacenamiento. Por otra parte, se encontraron valores finales para los tratamientos de C, QE, Q y E de  $6.27 \pm 0.99$ ,  $7.14 \pm 1.41$ ,  $8.00 \pm 1.70$  y  $7.59 \pm 2.34$ , respectivamente. Además, se encontró un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos Q y QE, mientras que para los lotes C y E no se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) durante el almacenamiento.

La disminución del parámetro a\* se puede atribuir a que algunas proteínas sarcoplásmicas, como la mioglobina y la hemoglobina, se solubilizan en el agua que pierde el músculo durante su almacenamiento (Montoya-Camacho, 2013).

**Parámetro b\*.** En la Figura 8 se observa que los valores iniciales para los tratamientos C, QE, Q y E fueron de  $14.56 \pm 1.12$ ,  $16.05 \pm 1.65$ ,  $13.01 \pm 1.28$  y  $14.42 \pm 0.79$ , respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por Mantilla et al. (2008), quienes reportaron un valor inicial de b\* de 12 para el músculo de *Oreochromis niloticus*. Por otra parte, se encontraron valores finales de  $14.57 \pm 1.10$ ,  $17.77 \pm 1.72$ ,  $16.96 \pm 1.76$  y  $17.70 \pm 2.16$  para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) durante el tiempo de almacenamiento del músculo de sierra. Además se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el tratamiento C y los tratamientos QE y E al final del almacenamiento.

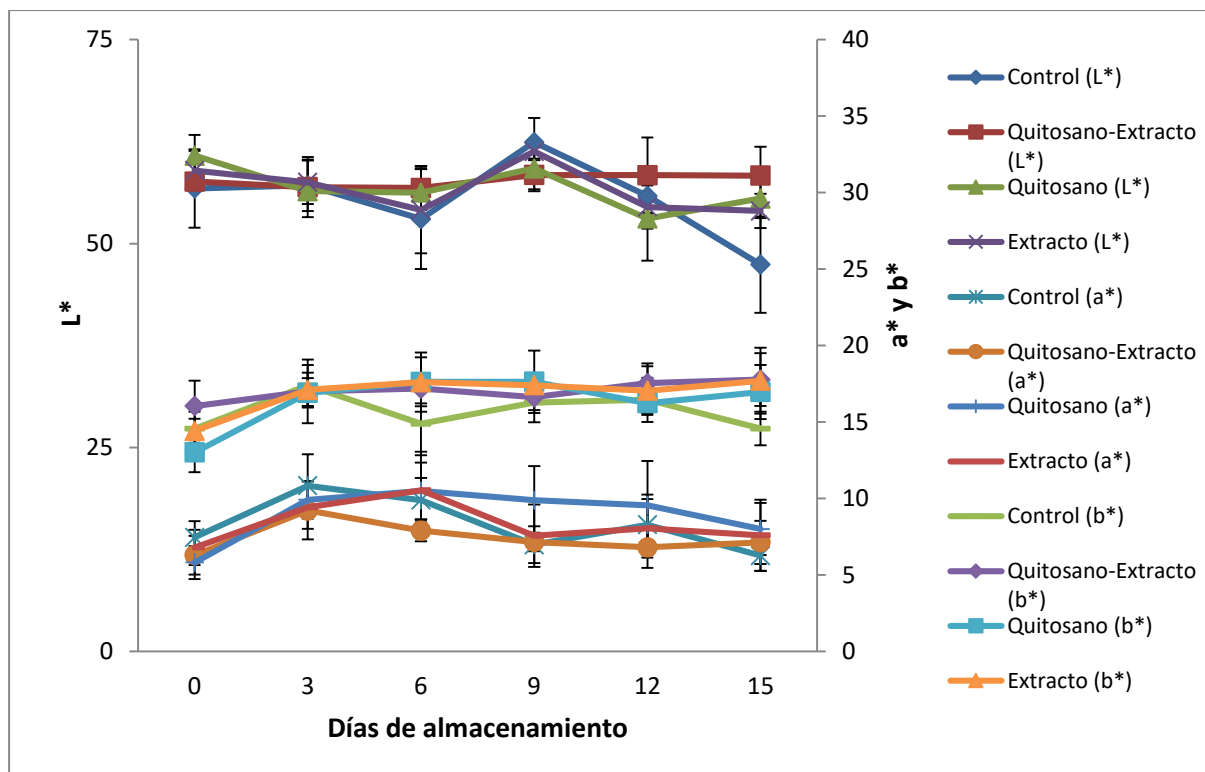


Figura 8. Cambio de color en función de los parámetro L\*, a\* y b\* del músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Los valores son la media de n=4 ± la desviación estándar.

## Textura

La textura es una característica importante para la evaluación de la calidad en los productos de la pesca (Pornrat et al., 2007) y se considera como uno de los principales atributos sensoriales durante la evaluación de la calidad en productos frescos (Nunak et al., 2011).

En la Figura 9 se observa que la textura inicial del tratamiento C fue de  $6.7 \pm 1.7$  N. Este valor es similar al obtenido por Montoya-Camacho (2013) para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), quien reportó un valor inicial de  $6.52 \pm 0.22$  N. Con respecto al tiempo de almacenamiento en hielo se encontró una disminución ( $p < 0.05$ ) de la textura del músculo

de sierra; sin embargo, no se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) entre los diferentes tipos de tratamientos, alcanzando al final del almacenamiento valores de  $3.9 \pm 1.0$ ,  $4.2 \pm 2.0$ ,  $3.9 \pm 1.4$  y  $3.3 \pm 0.5$  N para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Estos resultados son mayores a los reportados por Coronado y Moreno (2011), quienes encontraron un valor final de 0.06 N en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) después de 14 días de almacenamiento a 0°C.

La suavidad del músculo está asociada con la desaparición de los discos Z, la disociación del complejo actinmiosina, la destrucción de conectina y la desnaturalización del tejido colagenoso. La actividad *posmortem* de las proteasas endógenas sobre las proteínas miofibrilares parece ser la principal causa que produce la suavidad del músculo, debido a que algunas de ellas son totalmente activas en el pH *posmortem* entre 5.5 y 6.5 (Ashie et al., 1996)

Los diferentes valores encontrados al inicio y al final del almacenamiento para los filetes de sierra, pueden deberse principalmente a los componentes utilizados en los recubrimientos comestibles (quitosano y extracto etanólico), los cuales pueden afectar directamente la bioquímica *posmortem* interactuando con proteínas, enzimas, microorganismos, etc. Además, el recubrimiento comestible puede afectar en la textura inicial debido a la rigidez que se presenta al formar el polímero en el alimento.

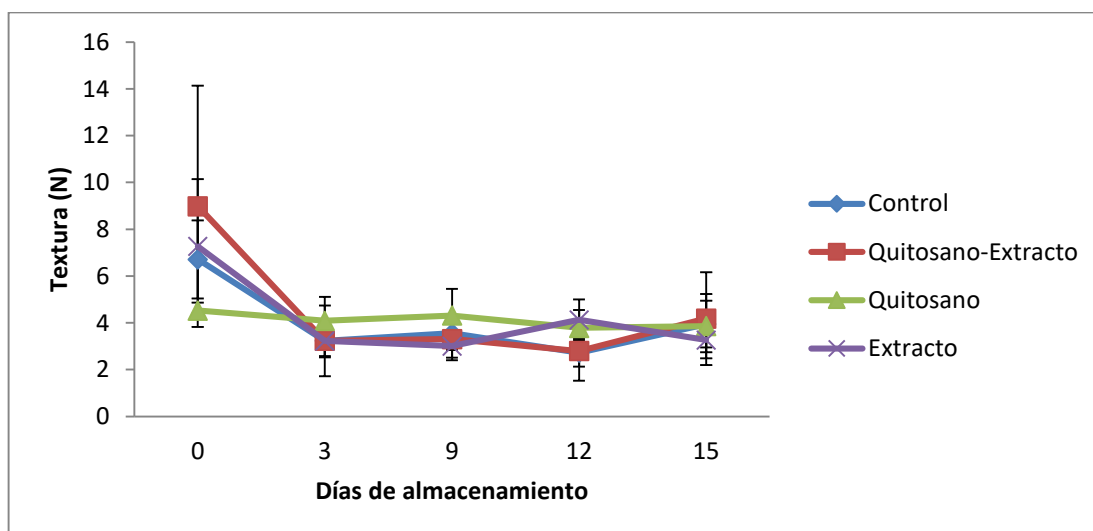


Figura 9. Cambios en la textura del músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Los valores son la media de  $n=4 \pm$  la desviación estándar.

Por otra parte, al no encontrar una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los valores finales entre los tratamientos, se puede deducir que los componentes utilizados en el músculo de sierra para llevar a cabo el presente estudio, no afectan a las enzimas autolíticas encargadas de la degradación de las fibras musculares.

### **Capacidad de Retención de Agua (CRA)**

La CRA se define como la capacidad de la carne para retener fuertemente el agua propia durante la aplicación de fuerzas externas (Olsson et al., 2003). En la Figura 10 se observa el comportamiento de la CRA durante el almacenamiento en hielo de los cuatro tratamientos. Se encontraron valores iniciales de  $95.86 \pm 3.00$ ,  $91 \pm 1.77$ ,  $93.60 \pm 3.18$  y  $92.95 \pm 2.43$  % para los tratamientos C, QE, Q y E, respectivamente. Valores similares fueron encontrados por Montoya-Camacho (2013) quien reportó 95.4 % para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Después de 15 días de almacenamiento, los valores finales de los tratamientos C, QE, Q y E fueron de  $89.12 \pm 3.59$ ,  $91.77 \pm 3.36$ ,  $92.35 \pm 0.95$  y  $94.52 \pm 2.00$ , respectivamente. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos al final del almacenamiento en hielo.

Por otra parte, se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en la CRA del músculo del tratamiento C con respecto a los valores iniciales encontrando un valor final de  $89.12 \pm 2.10$  %. Resultados similares fueron descritos por Coronado y Moreno (2011), quienes reportaron un valor final de 88.5 % para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

La pérdida en la CRA del tejido muscular se debe principalmente a la desnaturalización (agregación y/o hidrólisis) que ocurre en la proteína miofibrilar del músculo durante el almacenamiento (Ocaño-Higuera et al., 2009). A demás, la CRA se ha utilizado como un buen indicador en la evaluación de la calidad del músculo de pescado, su disminución a través del tiempo se ha relacionado con la pérdida de textura del músculo (Saito et al., 1991)



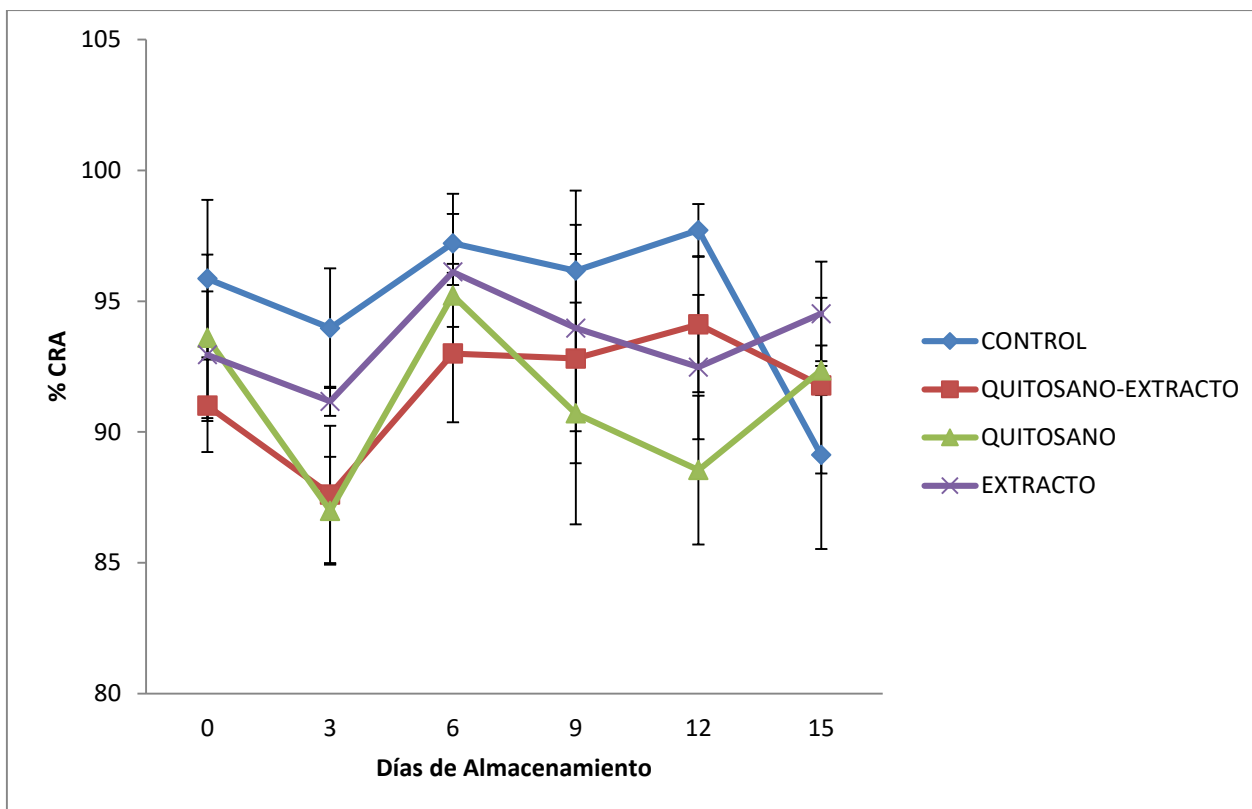


Figura 10. Efecto de la CRA en el músculo de sierra almacenado en hielo durante 15 días. Los valores son la media de  $n=4 \pm$  la desviación estándar.

### Efecto Sobre la Calidad Microbiológica

Actualmente, la industria de la pesca y de la agricultura sufren grandes pérdidas económicas debido al rápido deterioro de este grupo de alimentos como consecuencia de la microbiota que presentan, en donde en su mayoría son bacterias Gram negativa de origen deteriorativo (Huss, 1995). En general, la carga microbiana de los productos pesqueros está estrechamente relacionada con las condiciones del ambiente acuático y el nivel inicial de contaminación bacteriana, así como el método de preservación aplicada, lo que influye en el crecimiento y supervivencia de las bacterias (Calo-Mata et al., 2008).

En la Figura 11 se puede observar el comportamiento de la carga microbiana mesófila durante el almacenamiento en hielo del músculo de sierra. Al inicio, el músculo de sierra presentó una carga microbiana de  $5.3 \pm 0.13$  Log UFC/g. Este valor es mayor al reportado por Coronado y Moreno (2011) quienes encontraron un valor inicial de 3.2 Log UFC/g para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Por otra parte, se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los valores finales del almacenamiento para los tratamientos QE, Q y E con respecto al tratamiento C, obteniendo valores finales de  $4.81 \pm 0.10$ ,  $5.20 \pm 0.44$ ,  $5.59 \pm 0.56$  y  $6.98 \pm 0.69$  Log UFC/g, respectivamente. Sin embargo, se observó un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los valores del tratamiento C durante el tiempo de almacenamiento.

En la Figura 12 se observa el comportamiento de la carga microbiana psicrófila del músculo de sierra. Se encontró un valor inicial de  $3.95 \pm 0.04$  Log UFC/g. Al final del almacenamiento se observaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos QE, Q y E con respecto al tratamiento C, obteniendo valores finales de  $6.08 \pm 0.07$ ,  $6.22 \pm 0.55$ ,  $6.45 \pm 0.12$  y  $8.71 \pm 0.01$  Log UFC/g, respectivamente. La carga microbiana psicrófila para el día 15 de almacenamiento del tratamiento C es similar a los valores reportados por Montoya-Camacho (2013) quien encontró un valor final de 8.10 Log UFC/g para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) almacenado a 5°C.

Con respecto a la cuenta total de mesófilos y psicrófilos aerobios, el incremento más pronunciado que se observó fue el del tratamiento C, por lo que se relaciona bien a los incrementos en el pH e hipoxantina encontrados en el músculo para el mismo tratamiento. El hecho de que el tratamiento C tuviera valores finales mayores a los demás tratamientos, podría deberse a los componentes de cada uno de los lotes utilizados para el presente estudio. El quitosano y el extracto etanólico poseen actividad antimicrobiana debido a las características fisicoquímicas naturales que presentan en sus estructuras, las cuales pueden tener interacción con componentes celulares importantes (enzimas, ADN, ARN, pared celular, membrana celular, etc.) evitando la reproducción o crecimiento de ciertos microorganismos. Además, la utilización del ácido acético, para poder solubilizar el quitosano, pudo tener un efecto directo con la actividad antimicrobiana, debido al cambio de pH que se presentó en el músculo de sierra.

El pH y la concentración de hipoxantina, al igual que la cuenta total de microorganismos, han sido considerados como indicadores de deterioro en productos pesqueros (Montoya-Camacho, 2013)

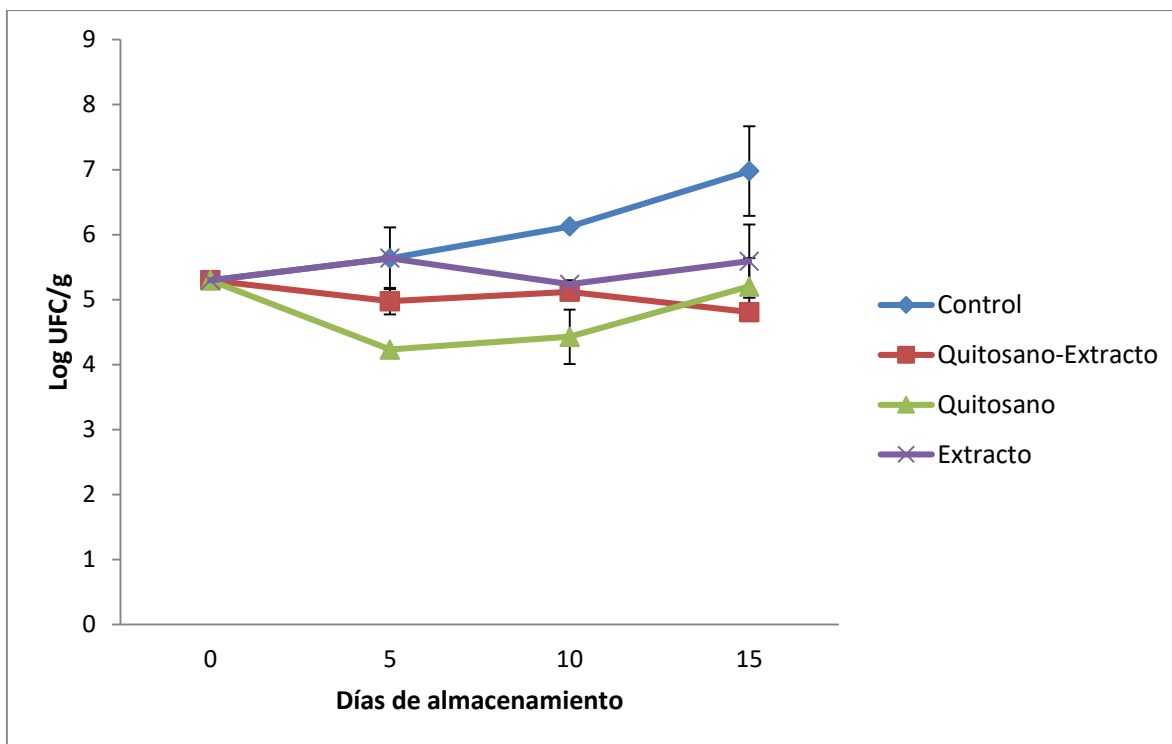


Figura 11. Cambios en la carga microbiana mesófila durante el almacenamiento en hielo del filete de sierra durante 15 días. Los valores son la media de  $n=2 \pm$  la desviación estándar.

Los resultados de la actividad antimicrobiana durante el almacenamiento del músculo de sierra, muestran que el mejor tratamiento para reducir la actividad antimicrobiana mesófila y psicrófila fue el lote quitosano-extracto (QE), esto podría deberse al sinergismo que ocurre al combinar los dos compuestos mejorando así el poder antimicrobiano.

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-027-SSA1-1993) establece como valor máximo permitido 7 Log UFC/g o 10 000 000 UFC/g de microorganismos para pescado fresco y/o refrigerado. En base a esto, se puede deducir que el músculo de sierra del tratamiento C alcanza el valor máximo permitido a los 10 días del almacenamiento, aproximadamente. Por otro lado, en el músculo de los tratamientos QE, Q y E se observan valores por debajo de 7 Log UFC/g al día 15 del almacenamiento en hielo.

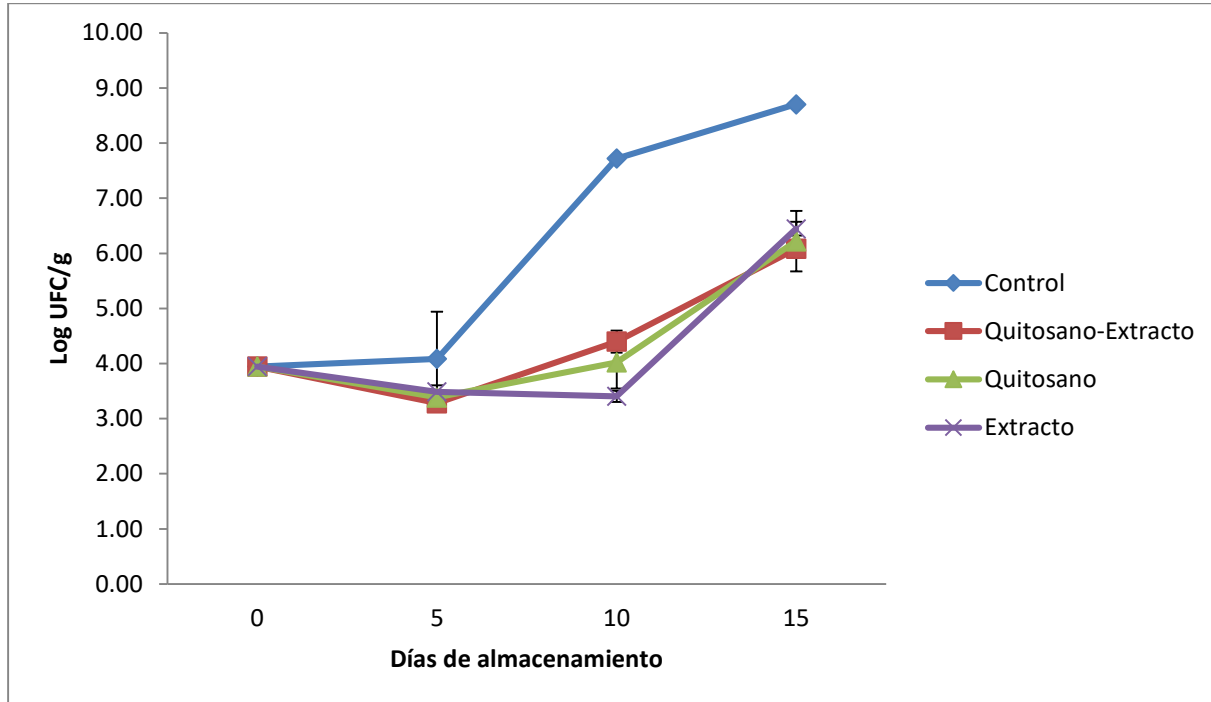


Figura 12. Cambios en la carga microbiana psicrófila durante el almacenamiento en hielo del filete de sierra durante 15 días. Los valores son la media de  $n=2 \pm$  la desviación estándar.

## CONCLUSIONES

La combinación del extracto etanólico obtenido a partir de la planta del tomate y el recubrimiento comestible a base de quitosano, afectó de manera positiva el incremento en la vida de anaquel del músculo de sierra, ya que se observaron cambios en los valores de pH, color, cuenta total de microorganismos, catabolismo de nucleótidos e índice K; sin embargo no se observaron cambios en la textura y la capacidad de retención de agua entre los tratamientos. El quitosano y el extracto etanólico afectaron directamente la actividad microbiana del músculo de sierra debido a que ambos poseen poder antimicrobiano, por otro lado, se observó que estos compuestos pudieron tener un efecto sobre la bioquímica *posmortem* del músculo, ya que ambos poseen la capacidad de interactuar con diferentes estructuras celulares.

De acuerdo al índice K, el quitosano y el extracto fenólico tienen un efecto menor sobre la bioquímica *posmortem* al estar combinados en el músculo de sierra; por otro lado, se observa que la combinación de ambos compuestos aumenta el poder antimicrobiano ya que se observó un posible efecto sinérgico en los valores finales de mesófilos y psicrófilos.

A partir de los resultados de la actividad antimicrobiana, se encontró que la vida útil de los filetes del tratamiento control es de 10 días aproximadamente, debido a que después de este tiempo de almacenamiento se observa un incremento en el Log UFC/g, el cuál sobrepasa el límite máximo establecido por la NOM-027-SSA1-1993 el cual es de 7 Log UFC/g o 10 000 000 UFC/g; sin embargo, para los tratamientos de quitosano, quitosano-extracto y extracto, se observó que al día 15 del almacenamiento en hielo, los filetes de sierra aún se encontraban por debajo de 7 Log UFC/g. Lo anterior indica que los lotes quitosano, quitosano-extracto y extracto, aumentaron la vida de anaquel del músculo de sierra a más de 15 días en almacenamiento en hielo, en comparación al lote control, en el que se observó un máximo de 10 días de almacenamiento.

## RECOMENDACIONES

- Caracterizar el extracto etanólico con el fin de determinar el compuesto con mayor actividad antimicrobiana y evaluar su efecto directo en un alimento.
- Llevar a cabo un análisis sensorial para complementar los resultados obtenidos del presente estudio.
- Evaluar el efecto del quitosano y el extracto fenólico sobre las enzimas directamente relacionadas con la degradación de las proteínas miofibrilares del músculo.

## REFERENCIAS

- Aguilar FJ. 1994. Aplicación del proceso de ahumado en caliente a dos especies de pescado de bajo valor comercial: Lisa (*Mugil cephalus*) y cazón (*Mustelus lunulatus*). Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo, Sonora, México. 47-53.
- Agulló, E., Rodríguez, M., Ramo, V. y Albertengo, L. 2003. Present and future role of chitin and chitosan in food. *Macromol. Biosci.* 3: 521-523.
- Aider, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. *LWT- Food Science Technology.* 43: 837-842.
- Alishahi, A. y Aider, M. 2011. Applications of chitosan in the seafood industry and aquaculture: a review. *Food and Bioprocess Technology.* 5(3): 817-830.
- Aranaz, I., Mengíbar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B. y Acosta, N. 2009. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology.* 3(2): 203-230.
- Ashie, I.N., Smith, J.P. y Simpson, B.K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 36: 87-121.
- Attouchi, M. y Sadok, S. 2009. The effect of powdered thyme sprinkling on quality changes of wilde and farmed gilthead sea bream fillets stored in ice. *Food Chemistry.* 119(2010): 1527-1534.
- Ávila-Sosa, R. y López-Malo, A. 2008. Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.* 2: 4-13.
- Banker, G.S. 1966. Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 55(1): 81-89.
- Bashir, A.A., Alam, M.K., Hossain, M.M.K., Morshed, M.A. y Sarwar, M.G. 2011. Effects of shrimp chitosan on shelf life extension of orange. *International Journal of Biosciences.* 1(3): 14-19.

- Batista, M.G., Lessi, E., Kodaira, M. y Falcao, P.D.T. 2004. Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *brycon cephalus* (Günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4), 573-581.
- Beuchat, L.R. 2001. Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring microorganisms. En: Wilson, C.L. y Droby, S. (Eds). *Microbial Food Contamination*. London. 149-169.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253.
- Cagri, A., Ustunol, Z. y Ryser, E.T. 2004. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*. 67(4): 833-848.
- Calo-Mata, P., Arlino, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A. y Barros-Velázquez, J. 2008. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food and Bioprocess Technology*. 1(1): 43-63.
- Castillo-Yáñez, F.J., Pacheco-Aguilar, R., Márquez-Ríos, E., Lugo-Sánchez, M.E. y Lozano-Taylor, J. 2006. Freshness loss in sierra fish (*scomberomorus sierra*) muscle stored in ice as affected by postcapture handling practices. *Journal of Food Biochemistry*, 31(2007): 56-67.
- Cha, D.S. y Chinnan, M.S. 2004. Biopolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44: 223-237.
- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. y Faustman, C. 2005. Changes of pigments and colour in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food chemistry*, 93(4): 607-629.
- Cheng, C.S., Hamann, D.D., Webb, N.B. y Sidwell, V. 1979. Effects of species and storage time on minced fish gel texture. *J. Food Sci.* 44(4): 1087-1092.
- Chiang, L., Chiang, W., Liu, M. y Lin, C. 2003. In vitro antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *Journal Antimicrobial Chemoth.* 52: 194-198.
- Chien, P.J. y Chou, C.C. 2006 antifungal activity of chitosan and its applications to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan Hayata*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86(12): 1964-1969



- Choi, H.J., Song, J.H., Park, K.S. y Kwon, D.H. 2009. Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Journal Pharmacy Science*. 37: 329-333.
- Compagno, L.J.V. 1995. *Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of sharks species known to date. Parte II Carcharchiniformes*. FAO. 15-20.
- CONAPESCA. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. 2015. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2014. Recuperado de:  
[http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona\\_anuario\\_estadistico\\_de\\_pesca](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca)
- Copes, J., Pellicer, K., del Hoyo, G., Brocado, S. y Gianuzzi, L. (2008) Estudio del comportamiento del pH en filetes de pejerrey de laguna (*Odhonthebes bonariensis*) conservados con y sin vacío, utilizando distintos tratamientos y almacenados a temperaturas de 4, 0 y -5°C. *Analecta veterinaria*, 28(1): 21-25.
- Corbo, M.R., Bevilacqua, A., Campaniello, D., D' Amato, D., Speranza, B. y Sinigaglia, M. 2009. Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches-a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 223-241.
- Coronado, B. A. L. y Moreno, V. M. J. 2011. Evaluación de la calidad física, química y microbiológica de filete de tilapia (*Oreochromis niloticus*) adicionado con antimicrobianos naturales durante su almacenamiento en hielo. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora.
- D'Souza, D.H., Davis, R., Zivanovic, S. y Davidson, P.M. 2011. Effectiveness of chitosan on the inactivation of enteric viral surrogates. *Food Microbiology*. 35: 57-62.
- Darmadji, P. e Izumimoto, M. 1994. Effects of chitosan and nitrite on the properties of fermented meat. *Anim. Science Technol*. 65(7): 639-646.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M. y Chiellini, E. 2011. Chitosan-A versatile semisynthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. 36(8): 981-1014.
- Daum, G., Stober, H., Veltrup, K., Meinhardt, F. y Bisping, B. 2007. Biotechnological process for chitin recovery out of shrimp waste. *Journal of Biotechnology*, 131(2): S188-S188.
- Díaz-Tenorio, L.M. 2006. Cambios *posmortem* en el músculo de camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*) y el efecto de procesos post-cosecha en su textura. Tesis de

Doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, Baja California Sur, México.

Domard, A. 2011. A perspective on 30 years research on chitin and chitosan. *Carbohydrate polymers*. 84: 696-703.

Domingo, D. y López-Brea, M. 2003. Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española Quimioterapia*. 16(4): 385-393.

Domínguez, G.T. y Gutiérrez, V. 1993. Elaboración y evaluación de la estabilidad de salchichas ahumadas de tilapia. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 142-143.

Donhowe, I.G. y Fennema, O. 1994. Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions and testing methods. En: Krochta, J.M., Baldwin, E.A. y Nisperos-Carriedo, M.O. (Eds). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster: Technomic Publishing, Basilea. 1-24.

Durán, A., Erdemli, U., Karakaya, M. y Tyilmaz, M. 2008. Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in- or post-rigor periods. *Fisheries Science*. 74(5): 1146-1156.

Ehira, S. y Uchiyama, H. 1987. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. En: D. E. Kramer y J. Liston (Eds), *Seafood quality determination* (185-193).

Eissa, H.A.A. 2007. Effect of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut mushroom. *Journal in Food Quality*. 30(5): 623-645.

Espino-Barr, E., Nava-Ortega, R.A., Gallardo-Cabello, M., Cabral-Solís, E.G., Puente-Gómez, M. y García-Boa, A. 2012. Aspects of *Scomberomorus sierra* fishery from the coast of Colima, México. *Ciencia Pesquera*. 20(1): 77-88.

FAO. Food and Agriculture Organization. 1995. Guía FAO para la identificación de peces para los fines de la pesca. Pacífico Centro Oriental. Volumen II. Vertebrados – Parte I. 648

- FAO. Food and Agriculture Organization. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura: oportunidades y desafíos. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Roma, 2014.
- FAO. Food and Agriculture Organization. 2015. Evaluación de la Calidad del Pescado. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s09.htm>
- Goy, R.C., Britto, D. y Assis, O.B.G. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros Ciencia y Tecnología*. 19(3): 241-247.
- Guilbert, S. 1996. Technology and application of edible protective films. En: Barbosa-Cánovas, G. y Welti-Chanes, J.S. (Eds). *Food preservation by moisture control, fundamentals and applications*. Isopow Practicum II, N.Y. EE. UU. 371-394
- Guilbert, S., Redi, A. y Gontard, N. 2002. Mass transport within edible and biodegradable protein-based materials: Application to the design of active biopackaging. En: Welti-Chanes, J.S., Barbosa-Cánovas, G. y Aguilera, J.M. (Eds) *Engineering and Food for the 21<sup>st</sup> Century*. CRC Press, Boca Ratón EE.UU. 567-577
- Hernández, I. 2004. La quitosana: un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. 25(3): 97-110.
- [https://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CCUQFjABahUKEwjopNn2uMDHAhWJCZIKHXvWA3k&url=http%3a%2F%2Fwww.sagarpa.gob.mx%2Fagronegocios%2FDocuments%2FCONVOCATORIAS%2FTRTIBYRAYAS.pdf&ei=2WLaVajUKomTyAT7rl\\_IBw&usq=AFQjCNEeVrSMwTWaQ1orRaQJSS3DJtu7eg&sig2=RebiUP9ToESVsJ1kDkjVgQ](https://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CCUQFjABahUKEwjopNn2uMDHAhWJCZIKHXvWA3k&url=http%3a%2F%2Fwww.sagarpa.gob.mx%2Fagronegocios%2FDocuments%2FCONVOCATORIAS%2FTRTIBYRAYAS.pdf&ei=2WLaVajUKomTyAT7rl_IBw&usq=AFQjCNEeVrSMwTWaQ1orRaQJSS3DJtu7eg&sig2=RebiUP9ToESVsJ1kDkjVgQ).
- Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO, Documento Técnico de Pesca N° 348. Roma: FAO. (202 p.). 92-5-103507-5
- Huss, H.H. 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/V7180S00.HTM>.
- Kester, J.J y Fennema, O.R. 1986. Edible films and coatings: a review. *Food Technology*. 47:59.

- Khalid, I.S. 2007. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. *Food Chemistry*. 101(2): 592-600.
- Kim, K.W. y Thomas, R.L. 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Food Chemistry*. 101: 308-313.
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K. y Park, H.J. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. 144: 51-63.
- Kristoffersen, S., Vang, B., Larsen, R. y Olsen, R.L. 2007. Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*. 36(16):1721-1731.
- Kurita, K. 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*. 8(3): 203-226.
- Labuza, T. y Contreras-Medellín. 1981. Prediction of moisture protection requirements for food. *Cereal foods world*. 26:235.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J. y Nychas, G.J.E. 2001. A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 453-462.
- Lee, H., Park, S. y Ahn, D. 2003. Effect of storage properties of pork dipped in chitosan solution. *Journal Korean Society. Food Science Nutrition*. 32(4): 519-525.
- Leistner, L. 1995. Principles and applications or hurdle technology. En: Gould, G.W. (Ed.). *New Methods of Food Preservation*. London. 1-21.
- Li, D., Beart, L. y Uyttendaele, M. 2013. Inactivation of food-borne viruses using natural biochemical substances. *Food Microbiology*. 35: 1-9.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X. y Zhao, J. 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*. 135: 140-145.

- Lin, D. y Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 6: 60-74
- Liu, S., Fan, W., Zhong, S., Ma, C., Li, P., Zhou, K. y Zhu, M. 2010. Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0°C based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*. 9(5): 692-701.
- López-Caballero, M.E., Gómez-Guillen, M.C., Pérez-Mateos, M. y Montero, P. 2005. A chitosan gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*. 19: 303-311.
- López-Mata, M.A., Ruiz-Cruz, S., Navarro-Preciado, C., Ornelas-Paz, J.J., Estrada-Alvarado, M.I., Gassos-Ortega, L.E. y Rodrigo-García, J. 2012. Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 14(1): 33-43.
- Luna-Raya, M.C., Urciaga-García, I.J., Salinas-Zabala, C.A., Cisneros-Mata, M.A. y Beltrán-Morales, F.L. 2006. Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora. *Economía, Sociedad y Territorio*. 6(22):308-313.
- Magdaleno, P. J. y Valdez, B. 1994. Elaboración de bolonia a partir de músculo de tilapia (*Tilapia sp.*) y evaluación de vida de anaquel. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo, Sonora, México. 153.
- Majeti, N. y Kumar, R. 2000. A review: chitin and chitosan applications. *React. Funct. Polym.* 46(1): 1-27.
- Mantilla, D., Kristinsson, H.G., Balaban, M.O., Otwell, W.S., Chapman, F.A. y Raghavan, S. 2008. Carbon monoxide treatments to impart and retain muscle color in tilapia fillets. *Food Chemistry*. 73(5): 390-399.
- Márquez-Ríos, E., Castillo-Yáñez, F. J., Graciano-Verdugo, A. Z., Jiménez-Ruíz, E. I., Lugo-Sánchez, M. E., Maeda-Martínez, A. N. y Ocaño-Higuera, V. M. 2011. Impacto de las prácticas artesanales de captura y manejo poscaptura en la calidad del músculo de cazón. *Interciencia*. 36(9): 672-676.

- Massa, A.E., Palacios, D.L., Paredi, M. A. y Crupkin, M. 2005. Postmortem changes in quality indices of ice stored flounder (*Oaralichthys patagonicus*). Journal of Food Biochemistry. 29: 570-590.
- Min, S. y Krochta, J.M. 2005. Inhibition of *Penicillium commune* by edible whey proteins films incorporating lactoferrin, lactoferrin hydrolysate and lactoperoxidase systems. Journal of Food Science. 70(2): M87-M94.
- Montemayor-López, G., Cisneros-Mata, M.A., Morga-López, A., Castro-Longoria, R. y Molina-Ocampo, R. 1999. Investigación para el manejo del recurso “sierra” en el área de la costa de Sonora. Resúmenes VII Congreso Nacional y I Simposio Internacional sobre el Mar de Cortés. Hermosillo, Sonora. 25-27 de mayo 1999.
- Montemayor-López, G. y Cisneros-Mata, M.A. 2000. La sierra del Golfo de California. 259-274. En: Cisneros-Mata, M.A., Beléndez-Moreno, L.F., López-González, L.C., Saucedo-Ruíz, C. y Tovar-Ávila, J. (Eds). Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y manejo 1999-2000. INP-SEMARNAP. 1047p.
- Montoya-Camacho, N. 2013. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis* y la calidad del músculo de tilapia *Oreochromis niloticus*. Tesis de maestría. Universidad de Sonora. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Hermosillo, Sonora, México.
- Navia, A., Giraldo, A. y Mejía, P. 2006. Notas sobre la biología y dieta del toyo vieja (*Mustelus lunulatus*) en la zona central de la pesca del Pacífico colombiano. Tesis de licenciatura. Universidad del Valle. Departamento de Biología. Cali, Colombia. 59-62.
- Norma Oficial Mexicana. 1993. NOM-027-SSA1-1993 “Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias”
- Norma Oficial Mexicana. 1994. NOM-092-SSA1-1994 “Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa”.
- Nunak, N. y Scheining, G. 2011. Instrumental textural changes in raw white shrimp during iced storage. Journal of Aquatic Food Product Technology. 20(4):350-360.

- Nychas, G.J.E., Skamdamis, P.N. y Tassou, C.C. 2003. Antimicrobials from herbs and spices. En: Roller, S. (Ed.). *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. Washington. 177-199.
- Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Márquez-Ríos, E., Canizales-Rodríguez, D.F., Castillo-Yáñez, F.J., Ruíz-Bustos, E., Graciano-Verdugo, A.Z., y Plascencia-Jatomea, M. 2010. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*. 125 (2011): 49-54.
- Ocaño-Higuera, V.M., Márquez-Ríos, E., Canizales-Dávila, M., Castillo-Yáñez, F.J., Pacheco-Aguilar, R. y Lugo-Sánchez, M.E. 2009. *Postmortem* changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*. 116(4): 933-938.
- Ocaño-Higuera, V.M., Pacheco-Aguilar, R., Maeda-Martínez, A.N., Lugo-Sánchez, M.E. y Beltrán-Lugo, A.I. 2007. Fisiología, bioquímica *posmortem* y procesamiento de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. En Maeda-Martínez, A.N. y Lodeiros-Seijo, C. (Eds) *Biología y Cultivo de los Moluscos Pectínidos del Género Nodipecten*. Capítulo 13.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S.H. y Hosseini, S.M.H. 2009. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 120: 193-198.
- Olsson, G. B., Ofstad, R., Lodemel, J. B. y Olsen, R. L. 2003. Changes in water holding capacity of halibut muscle during cold storage. *Food Science Technology*. 36(8): 771-778.
- Ozdemir, M. y Floros, J.D. 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*. 84: 116-123.
- Özoğul, Y., Özoğul, F., Kuley, E., Ozkutuk, A. S., Gökbulut, C. y Köse, S. 2006. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the black sea, during chilled storage. *Food Chemistry*. 99(4): 752-758.
- Park, B.K. y Kim, M.M. 2010. Applications of Chitin and Its Derivatives in Biological Medicine. *International Journal of Molecular Science*. 11(12): 5152-5164.

- Park, S., Marsh, K. y Dawson, P. 2010. Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. *Meat Science*. 85: 493-499.
- Pillai, C.K.S., Paul, W. y Sharma, C.P. 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 34(7): 641-678.
- Plascencia-Jatomea, M., Vélez-Haro, J.M. y Moreno-Villa, F.A. 2014. Quitina y sus derivados a partir de los subproductos de la pesca. En Esquerra-Brauer, J.M. (Eds) *Química, bioquímica y estructura de los subproductos de la pesca*. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 397-425.
- Pornrat, S., Sumate, T., Rommance, S., Sumolaya, K. y Kerr, W.L. 2007. Changes in the ultrastructure and texture of prawn muscle (*Macrobrachium rosenbergii*) during cold storage. *LWT Food Science and Technology*. 40(10): 1747-1754.
- Prashanth, K. V.H. y Tharanathan, R.N. 2007. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in Food Science and Technology*. 18(3): 117-131.
- Qiu, M., Jiang, H., Ren, G., Huang, J. y Wang, X. 2013. Effect of chitosan coatings on postharvest green asparagus quality. *Carbohydrate Polymers*. 92(2): 2027-2032.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. y Pouységu, L. 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie Int Ed*. 50:586-621.
- Ramezani, Z., Zarei, M. y Raminnejad, N. 2014. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control*. 51: 43-48.
- Ramos-García, M. Bósquez-Molina, E., Hernández-Romano, J., Zavala-Padilla, G., Torres-Rojas, E., Alia-Tejacal, I. et al. (2012) Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifera* and *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  in fresh tomatoes. *Crop Protection*. 38:1-6.
- Rinuado, M. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 31(7): 603-632.



- Rodríguez-Sauceda, E.N. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *RaXimhai*, 7 (1): 153-170.
- Rojas-Graü, M.A., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P.R., Martín-Belloso, O., Pan Z. y McHugh, T.H. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. *J. Food Eng.* 81: 634-641 pp.
- Rooney, M.L. 2002. Active packaging: Science and Applications. En: Welti-Chanes, J.S., Barbosa-Cánovas, G. y Aguilera, J.M. (Eds) *Engineering and Food for the 21<sup>st</sup> Century*. CRC Press, Boca Ratón EE.UU. 539-547
- Roth, B., Imsland, A., Gunnarsson, S., Foss, A. y Shelvis-Smit, R. 2006. Slaughterquality and rigor contraction in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*); a comparison between different stunning methods. *Aquaculture*, 272 (1-4), 754-761.
- Ruiz-Cruz, S., Guevara-Gálvez, C.L., Estrada-Alvarado, I., Cira-Chavéz, L.A., Gassós-Ortega, L.E. y Llénez-Samaniego, A.L. 2010. Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y almidón para mantener la calidad sensorial y microbiológica de melón fresco cortado. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología Biomédica*. 1: 1-11.
- Ryder, J.M. 1985. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33(4): 678-680.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2010. Estudio: Ordenamiento para el aprovechamiento de tiburones y rayas de México. Recuperado de:
- Sagedhal, A., Busalmen, J.P., Roldán, H.A., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 1997. Post-mortem changes in adenosine triphosphate and related compounds in mantle of squid (*Illex argentinus*) at different stages of sexual maturation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 6(4): 43-56.
- Saito, T., Arai, K. y Matruyoshi, M. (1959). A new method for estimating the freshness of fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 24, 749-750.

- Salazar, J. 2003. Efecto de los métodos de congelación y descongelación sobre las proteínas miofibrilares y estructura del músculo de cazón. Universidad de Sonora. Tesis de maestría. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Hermosillo, Sonora, México.
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. y Cháfer, M. 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews* 3. 1-16.
- Sato, K., Ohashi, C., Ohtuki, K. y Kawabata, M. 1991. Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 39: 1222-1225.
- Savard, T., Beaulieu, C., Boucher, I. y Champagne, C.P. 2002. Antimicrobial action of hydrolyzed chitosan against spoilage yeasts and lactic acid bacteria of fermented vegetables. *Journal of Food Protection*. 65(5): 828-833.
- Schnitzler, P., Nolkemper, S., Stintzing, F. y Reichling, J. 2008. Comparative in vitro study on the anti-herpetic effect of phytochemically characterized aqueous and ethanolic extracts of *Salvia officinalis* grown at to different locations. *Phytomedicine*. 15: 62-70.
- Shao, X.F., Tu, S. y Tu, J. 2012. A combination of heat treatment and chitosan coating delays ripening and reduces decay in “Gala” Apple fruit. *Journal of Food Quality*. 35(2): 83-92.
- Shepherd, R., Reader, S. y Falshaw, A. 1997. *Glycoconjugate J*. 14: 535-542.
- Silva-Beltrán, N.P., Ruiz-Cruz, S., Chaidez, C., Ornelas-Paz, J.J., López-Mata, M.A., Márquez-Ríos, E. e Isabel-Estrada, M. 2014. Chemical constitution and effect of extracts of tomato plants byproducts on the enteric viral surrogates. *International Journal of Environmental Health Research*. 25(3): 299-311.
- Singh, P. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food applications. *International Journal of Food Microbiology*. 156: 7-17.
- Srinivasa, P.C. y Tharanathan, R.N. 2007. Chitin/Chitosan-safe, ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. *Food Reviews International*. 23: 53-72
- Stratford, R.C. y Eklund, T. 2003. Organic acids and esters. En: Russell, N.J. and Gould, J.W. (Eds). *Food preservatives*. London. 48-84.

- Taveira, M., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, A., Oliveira, L., Valentao, P. y Andrade, P.B. 2012. Fast determination of bioactive compounds from *Lycopersicon esculentum* mil leaves. Food Chemistry. 135: 748-755.
- Tingting, L., Jianrong, L. y Wenzhong, H. 2013. Changes in microbiological, physicochemical and muscle proteins of post mortem large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Food Control. 34 (2013): 514-520.
- Tomé, E., Iglesias, M., Kodaira, M. y González, A. 2000. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el rigor mortis y en la estabilidad de la tilapia (*Oreochromis spp.*) cultivada. Revista Científica. FCV-LUZ. 11(4):373-378.
- Torres-Arreola, W. 2005. Efecto del uso de películas plásticas con antioxidantes sobre la calidad del músculo de sierra (*Scomberomorus sierra*) durante su almacenamiento en congelación. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo Sonora.
- Valenzuela, C. y Arias, J.I. 2012. Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión. Avances de Ciencias Veterinarias. 27(1): 33-47.
- Vargas, M., Albors, A. y Chiralt, A. 2011. Application of chitosan-sunflower oil edible films to pork meat hamburgers. Procedia Food Science. 1: 39-43.
- Wang, H., Liceaga-Gesualdo, A.M. y Li-Chan, E.C.Y. 2006. Biochemical and physicochemical characteristics of muscle and natural actomyosin isolated from young Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at 0 and 4°C. Journal of Food Chemistry and Toxicology. 68(3): 784-789.
- Wasikiewicz, J.M. y Yeats, S.G. 2013. "Green" molecular weight degradation of chitosan using microwave irradiation. Polymer Degradation and Stability. 98(4): 863-867.
- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J. y Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Nova Scotia, Canada.

Yuan, G., Lv, H., Tang, W., Zhang, X. y Sun, H. 2015. Effect of chitosan coating combined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage. *Food Control*. 59: 818-823.

Yu-Hernández, P.A. 2004. Efecto de la mezcla de plastificantes en las propiedades físicas, mecánicas y de transporte de películas de quitosano. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla. 1-8.