



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**EFFECTO DE UNA PELÍCULA DE QUITOSANO CON EXTRACTOS  
NATURALES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS,  
SENSORIALES Y MICROBIOLÓGICAS DE LA CARNE DE POLLO**

Tesis

idónea comunicación de resultados

que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Agropecuarias

Presenta

MVZ Sarahy Karina León Palacios

Comité tutorial

Director: Dr. Francisco Héctor Chamorro Ramírez

Co-directora: Dra. Aída Hamdan Partida

Asesor: Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez

**Ciudad de México, México, enero 2020**

## COMITÉ TUTORAL

---

### **DIRECTOR**

**Dr. Francisco Héctor Chamorro Ramírez**

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Producción Agrícola y Animal

Profesor Investigador Titular "B"

### **CO-DIRECTOR**

**Dra. Aída Hamdan Partida**

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Atención a la Salud

Profesor Investigador Titular "C"

### **ASESOR**

**Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez**

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Profesor Investigador Titular "C"

La Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, pertenece al padrón Nacional de Posgrados de excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) otorgó una beca a la estudiante del posgrado de la Maestría en Ciencias Agropecuarias Sarahy Karina León Palacios con número (CVU):868390

Jurado designado por la Comisión académica de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana para la tesis titulada:

**“EFECTO DE UNA PELÍCULA DE QUITOSANO CON EXTRACTOS NATURALES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS, SENSORIALES Y MICROBIOLÓGICAS DE LA CARNE DE POLLO”**

Que presentó:

MVZ Sarahy Karina León Palacios

**JURADO DEL EXAMEN**

**PRESIDENTE**

Dra. Edith Ponce Alquicira

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa  
DCBS, Departamento Biotecnología, Profesor Investigador Titular C

**SECRETARIO**

Dr. Jaime Amadeo Bustos Martínez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco  
DCBS, Departamento de Atención a la Salud, Profesor Investigador Titular C

**VOCAL**

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco  
DCBS, Departamento de Sistemas Biológicos, Profesor Investigador Titular C

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco y a la Maestría en Ciencias Agropecuarias por permitirme cursar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) México, por el apoyo económico brindado con la beca (CVU: 868390, Becario: 636813).

Al Dr. Francisco Héctor Chamorro Ramírez y al Dr. José Fernando González Sánchez quienes me han brindado su apoyo, consejos, paciencia, orientación y amistad desde que inicie el servicio social en el Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública.

A la Dra. Aida Hamdan Partida y al Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez por la orientación, el apoyo y la paciencia durante el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Esmeralda Mónica Peña González por su amistad, confianza y apoyo durante este poco tiempo de conocernos.

Al Dr. Francisco Ramón Gay Jiménez por sus consejos y pláticas acerca de cómo mejorar e innovar en la tarea de adquirir conocimiento y llevarlo a la práctica.

Al M. en C. José Manuel Huitrón Rodríguez por la amistad y consejos durante el posgrado.

Al Laboratorio de Pruebas mecánicas perteneciente al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales y al M.I. Gerardo Antonio Fonseca Hernández por el apoyo técnico especializado en las pruebas mecánicas de las películas elaboradas en este trabajo.

## DEDICATORIA

A mis padres Rocío Palacios Santos y Nicolás León Salgado por la paciencia y el apoyo durante cada etapa en la vida, gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos profesionales.

A mi mejor amiga Valeria Anadyid Aguilera Tadeo gracias por apoyarme, brindarme tu amistad y darme tu confianza, además de los momentos divertidos que hacen más amena la vida.

A mi mejor amigo Jonathan Javier García Cruz gracias por creer en mí siempre, por la confianza, el apoyo, tu tiempo y los consejos. La vida no sería lo mismo sin ti.

Al Dr. Francisco Héctor Chamorro Ramírez gracias por la confianza, el apoyo y los consejos tanto a nivel académico como a nivel personal.

# Índice

1. RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
2. INTRODUCCIÓN.....	10
3. MARCO TEÓRICO.....	11
3.1 Pérdida y desperdicio de alimentos .....	11
3.2 Características fisicoquímicas/sensoriales de la carne.....	11
3.3 Contaminación microbiológica .....	13
3.4 Extractos naturales como conservadores naturales .....	13
3.5 Quitosano como recubrimiento para alimentos.....	17
4. OBJETIVOS .....	20
4.1 Objetivo general.....	20
5. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	21
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
6.1 Colección y preparación del material biológico.....	22
6.2 Elaboración de los extractos .....	22
6.3 Evaluación de características de los extractos.....	23
6.4 Determinación del efecto antimicrobiano de los extractos .....	24
6.5 Obtención de la biopelícula .....	25
6.6 Caracterización de las películas .....	26
6.7 Evaluación del efecto de los extractos y la biopelícula adicionada con extractos en características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de la carne.....	28
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
7.1 Rendimiento y Contenido total de compuestos fenólicos de los extractos .....	32
7.2 Determinación del efecto antimicrobiano de los extractos .....	34
7.3 Caracterización de las películas .....	38
7.4 Efecto de los extractos en características fisicoquímicas y microbiológicas de la carne .....	41
7.5 Evaluación del efecto de la biopelícula adicionada con extractos en características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de la carne.....	49
8. Conclusiones.....	58
9. Literatura citada.....	59

## 1. RESUMEN

La aplicación de extractos naturales sobre alimentos de origen animal se ha incrementado debido a las propiedades antioxidantes y antimicrobianas que poseen, mientras que el quitosano se ha propuesto como un empaque con propiedades antimicrobianas, por lo que una combinación de estos podría disminuir la carga microbiana y conservar las características fisicoquímicas de la carne. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de películas de quitosano con extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina), sobre las características fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas de la carne de pollo. A las soluciones de extractos se les realizaron pruebas de contenido de polifenoles, actividad antioxidante, determinación de la concentración mínima inhibitoria, sensibilidad antimicrobiana y cinética de crecimiento. A las películas de quitosano se les midió el grosor, color, se realizó determinación del módulo elástico, resistencia a la tensión, porcentaje de elasticidad, pruebas de solubilidad, contenido de humedad, grado de absorción, permeabilidad al vapor de agua y microscopía electrónica para evaluar la morfología. A las muestras cárnicas asperjadas con extractos se les realizaron determinaciones de pH, capacidad de retención de agua, esfuerzo al corte, evaluación del color; a las muestras cubiertas con películas se les realizaron las mismas evaluaciones y el análisis sensorial. Se utilizaron 632 músculos de pollo (gastrocnemio y peroneo largo) que se dividieron en 7 grupos de 56 piezas cada uno (32 piezas para análisis fisicoquímicos y 24 para microbiológicos), dos grupos control, dos grupos asperjados con extractos y tres grupos cubiertos con las películas, se almacenaron a 4 °C por 21 días. Para el análisis sensorial se utilizaron 240 piezas divididas en cuatro grupos (un control y tres con películas). Los resultados obtenidos de las evaluaciones de las soluciones de extractos mostraron que el extracto de capuchina tuvo mayor contenido de polifenoles y una mayor capacidad antioxidante respecto del extracto de albahaca ( $p < 0.05$ ). Se observó que los extractos poseen efecto inhibitorio, sin embargo, este fue dependiente del tiempo. Las películas demostraron tener un grosor uniforme, una mayor coloración y menor luminosidad en la película de capuchina ( $p < 0.05$ ), además todas las películas mostraron en general buenas propiedades mecánicas y físicas. Se observó que al asperjar las muestras, el pH de todas las muestras aumento durante el almacenamiento ( $p > 0.05$ ), mientras que la capacidad de retención de agua y el esfuerzo al corte fue mayor para el tratamiento con extracto de capuchina. La luminosidad disminuyó para todos los tratamientos al final del almacenamiento. En cuanto al color rojo la muestra más estable fue la adicionada con extracto de albahaca, mientras que en color amarillo, este es mayor para las muestras con extracto ( $p < 0.05$ ). En el análisis microbiológico, no se observó efecto por parte de los extractos ( $p > 0.05$ ). Las muestras de pollo cubiertas con las películas de quitosano mostraron un pH más estable ( $p < 0.05$ ) durante los 21 días de almacenamiento. En la cantidad de agua en el alimento y la terneza se observaron disminuciones significativas respecto al control ( $p < 0.05$ ). La luminosidad se afectó negativamente con la adición de las películas ( $p < 0.05$ ). En cuanto al crecimiento microbiano, este fue menor al cubrir las muestras con las películas ( $p < 0.05$ ). Por último el análisis sensorial indicó que el mayor nivel de agrado se encuentra en las muestras control y la muestra con la película de quitosano combinado con capuchina ( $p < 0.05$ ).



## ABSTRACT

The application of natural extracts on foods of animal origin has increased due to the antioxidant and antimicrobial properties they possess, while chitosan has been proposed as a package with antimicrobial properties, so a combination of these could decrease the microbial load and preserve the physicochemical characteristics of meat. The objective of this work was to evaluate the effect of chitosan films with extracts of *Ocimum basilicum* (Basil) and *Tropaeolum majus* (Capuchina), on the physicochemical, organoleptic and microbiological characteristics of chicken meat. Extract solutions were tested for polyphenol content, antioxidant activity, determination of the minimum inhibitory concentration, antimicrobial sensitivity and growth kinetics. Chitosan films were measured for thickness, color, determination of elastic modulus, tensile strength, elasticity percentage, solubility tests, moisture content, degree of absorption, water vapor permeability and electron microscopy for Evaluate the morphology. The meat samples sprinkled with extracts were made pH, water retention capacity, cutting effort, color evaluation; Samples covered with films were subjected to the same evaluations and sensory analysis. 632 chicken muscles (gastrocnemius and long peroneum) were used that were divided into 7 groups of 56 pieces each (32 pieces for physicochemical analysis and 24 pieces for microbiological), two control groups, two groups sprinkled with extracts and three groups covered with Films were stored at 4 ° C for 21 days. For the sensory analysis, 240 pieces divided into four groups (one control and three with films) were used. The results obtained from the evaluations of the extract solutions showed that the nasturtium extract had a higher polyphenol content and a greater antioxidant capacity compared to the basil extract ( $p < 0.05$ ). It was observed that the extracts have an inhibitory effect, however, this was time dependent. The films proved to have a uniform thickness, a greater coloration and less luminosity in the nasturtium film ( $p < 0.05$ ), in addition all the films generally showed good mechanical and physical properties. It was observed that when spraying the samples, the pH of all the samples increased during storage ( $p > 0.05$ ), while the water retention capacity and the cutting effort was greater for the treatment with nasturtium extract. The brightness decreased for all treatments at the end of storage. As for the red color, the most stable sample was the one added with basil extract, while in yellow, this is larger for samples with extract ( $p < 0.05$ ). In the microbiological analysis, no effect was observed by the extracts ( $p > 0.05$ ). Chicken samples covered with chitosan films showed a more stable pH ( $p < 0.05$ ) during the 21 days of storage. In the amount of water in the food and tenderness, significant decreases were observed with respect to the control ( $p < 0.05$ ). The luminosity was negatively affected with the addition of the films ( $p < 0.05$ ). As for microbial growth, this was lower when covering the samples with the films ( $p < 0.05$ ). Finally, the sensory analysis indicated that the highest level of pleasure is found in the control samples and the sample with the chitosan film combined with nasturtium ( $p < 0.05$ ).

## 2. INTRODUCCIÓN

Los extractos naturales han incrementado su uso como conservadores en alimentos, debido a que pueden prevenir el deterioro del mismo por las características antioxidantes y antimicrobianas que poseen los extractos (Tajkarimi et al., 2010). Por otra parte, el quitosano es un biopolímero con características antimicrobianas que se ha propuesto para desarrollar empaques que eviten la contaminación de los alimentos por microorganismos que afectan la calidad e inocuidad del producto (Mujtaba et al., 2019).

La producción y consumo de carne ha aumentado durante los últimos 50 años, sin embargo, la pérdida y desperdicio también han aumentado (FAO, 2019). En México, el problema es la pérdida que se presenta principalmente en el punto de venta, debido a los retiros anticipados de los productos. Estas pérdidas se deben a que la carne es uno de los alimentos con menor vida de anaquel debido a que su composición crea el ambiente idóneo para el desarrollo de microorganismos (Doulgeraki et al., 2012), además de la pérdida de calidad debido a las reacciones químicas propias del alimento, como la oxidación de lípidos y proteínas (Kumar et al., 2015; Lorenzo et al., 2018). Como alternativa para disminuir estas pérdidas, se ha estudiado el uso de extractos naturales obteniendo resultados favorables. Yuan y Yuk (2018) reportan que el extracto de *Syzygium antisepticum* fue efectivo para disminuir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en pollo, mientras que Wright et al., (2019) utilizaron extracto de *Terminalia ferdinandiana* para inhibir el crecimiento de *Shewanella spp.* en pescado, reportando hasta un 95% menos de crecimiento microbiano. En cuanto a los efectos del quitosano, se ha reportado (Chang et al., 2019) que al cubrir la carne con películas de quitosano, se mantuvieron las características de calidad hasta por 10 días. También se ha reportado que la combinación de extractos con quitosano mejora el efecto antimicrobiano y antioxidante (Vasilatos y Savvaidis, 2013; Abdelghany et al., 2019). En este contexto, la información acerca del uso de películas de quitosano combinadas con extractos sobre matrices cárnicas en condiciones comerciales de almacenamiento es limitada, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de películas de quitosano con extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus*

(Capuchina), sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de la carne de pollo.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1 Pérdida y desperdicio de alimentos**

La preferencia por los productos de origen animal ha propiciado que la producción de carne vaya en aumento, concentrándose principalmente en la carne de bovino, cerdo y pollo. Esta última es la que presenta el mayor incremento en producción y consumo tanto a nivel mundial como en México, en este último se reporta una producción de 294 mil toneladas y un consumo per cápita de 29.2 kg (OECD, 2019; SIAP, 2019). Al mismo ritmo en que se incrementa la producción y consumo, también se incrementan la pérdida y desperdicio de alimentos, de acuerdo con la FAO (2019), 13.8 % de los alimentos producidos en 2016 fueron pérdidas, mientras que por grupo de alimentos, la carne obtuvo un 12 %. La pérdida de alimentos es causada por el retiro prematuro del producto debido a la alteración de las características fisicoquímicas y microbiológicas que cambian la calidad y comprometen la inocuidad del alimento (Casaburi et al., 2015).

#### **3.2 Características fisicoquímicas/sensoriales de la carne**

La calidad de la carne está influenciada por factores físicos, químicos, morfológicos, sensoriales, bioquímicos, microbiológicos, nutricionales y de propiedades culinarias. Estos factores tienen influencia sobre atributos como la textura, la jugosidad, el sabor, el olor y color, por lo que la aceptación por parte de los consumidores está en función de la preservación de estos atributos. Mientras que para el sector industrial, las propiedades que se buscan y que están relacionadas a los factores antes mencionados, son la capacidad de retención de agua, la pérdida por goteo, pH, color y la cantidad de colágeno que contenga para poder procesar la carne y obtener productos de calidad y rentables (Mir et al., 2017).

**Color.** En la carne el color depende de la cantidad y estado de la mioglobina presente. Los principales estados químicos de la mioglobina que afectan el color de la carne, son la deoximioglobina, la cual se forma cuando el ion  $Fe^{2+}$  interactúa con el agua formando enlaces covalentes a una presión baja de oxígeno, siendo visible como un color rojo-púrpura, característico de la carne recién cortada. La oximioglobina, se presenta al exponer la mioglobina al oxígeno por un periodo corto de tiempo, el color que ahora se percibe es rojo cereza o brillante. Cuando el pH es bajo se acelera la conversión de  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ , si este se oxida se forma la metamioglobina, la cual dará un color café o marrón (Brewer, 2004).

**Potencial de Hidrógeno (pH).** El valor de pH en la carne dependerá de los procesos ante mortem y este valor puede afectar a su vez otras características, por ejemplo, un  $pH \leq 6$  hará que exista una desnaturalización mínima de las proteínas, por lo que habrá menos dispersión de luz haciendo que la apariencia de la carne sea traslúcida y tendrá poca Capacidad de Retención de Agua, además un pH bajo es responsable de la liberación de enzimas prooxidantes post-mortem (Carvalho et al., 2017; Mir et al., 2017).

**Capacidad de Retención de Agua (CRA).** La Capacidad de Retención de Agua es la habilidad que posee la carne para retener su propia agua durante procesos como corte, cocción, molido y la presión ejercida durante el transporte y el almacenamiento. El pH tiene influencia sobre la CRA debido a que al desnaturalizar las proteínas el agua ya no interacciona con los grupos hidrófilos de las proteínas y por lo tanto no se une a ellas. El agua que no es retenida entre las fibras de la carne es liberada al exterior, afectando el peso de las canales y la apariencia de la carne, ya que la dispersión de la luz será menor por lo que la cantidad de luz reflejada será mayor, dando la apariencia de una carne más pálida (Hughes et al., 2014; Mir et al., 2017).

**Textura.** La textura es un atributo sensorial y funcional de los alimentos, que posee propiedades mecánicas, estructurales y de superficie que se pueden percibir y evaluar a través de la vista y el tacto principalmente (Szczeniak., 2002). Es uno de los atributos principales que determinan la calidad de los alimentos e influye directamente en la aceptación o rechazo por parte de los consumidores. La textura y el grado de firmeza de la carne son en gran parte resultado del pH y la CRA, debido a que al existir mayor unión e interacción entre las proteínas musculares y el agua, el espacio entre las miofibrillas disminuye, otorgándole a la carne mayor firmeza (Font-i-Furnols y Guerrero., 2014; Mir et al., 2017).

### **3.3 Contaminación microbiológica**

La carne es uno de los alimentos con mayor aportación de nutrientes, sin embargo, es también uno de los más perecederos y con menor vida de anaquel. La presencia de microorganismos es la causa más frecuente de deterioro en la carne y se observa a través de alteraciones fisicoquímicas y de apariencia (Doulgeraki et al., 2012). Estos microorganismos suelen encontrarse en toda la cadena de producción de la carne de pollo, principalmente *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* y presentan dos problemas importantes, el primero de ellos son las pérdidas ocasionadas por el deterioro de las características de los productos debido a que los microorganismos producen compuestos como ésteres, cetonas, aldehídos, compuestos de azufre, aminas y ácidos grasos volátiles que afectan la calidad sensorial de la carne debido a la presencia de viscosidad, cambios en la textura y el pH, color y olor desagradables (Gram et al., 2002; Casaburi et al., 2015; Davidson et al., 2015; Höll et al., 2016). El segundo problema que se presenta es el posible riesgo a la salud humana debido a las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), de las cuales se han registrado hasta 230 mil muertes causadas por agentes diarreicos; dentro de esta cifra el 81.3% fueron causadas por bacterias como *Campylobacter spp.*, *E. coli* EPEC, *E. coli* ETEC, *E. coli* STEC, *Salmonella entérica* no tifoidea, *Shigella spp* y *Vibrio cholerae* (OMS, 2015).

### **3.4 Extractos naturales como conservadores naturales**

La tendencia creciente por mantener la calidad e inocuidad de los alimentos a través de métodos más naturales, ha impulsado la investigación de recursos que ya se

utilizan en otras áreas, y que generan interés por sus propiedades que permiten la conservación de las características organolépticas del producto. Las flores comestibles y las plantas medicinales han generado interés debido a que poseen compuestos bioactivos, denominados metabolitos secundarios, tales como fenoles, polifenoles, flavonoides, terpenos, saponinas, taninos, sesquiterpenos y alcaloides que funcionan como mecanismo de auto-defensa contra depredadores herbívoros e insectos (Sharma et al., 2017; Shin et al., 2018). Estos compuestos pueden utilizarse como antioxidantes y antimicrobianos, funcionando como alternativa a los compuestos sintéticos empleados hoy en día (Benvenuti et al., 2016; Fernandes et al., 2017).

**Mecanismo de acción de los metabolitos secundarios.** Los metabolitos secundarios más abundantes después de los terpenos son los polifenoles, los cuales son compuestos orgánicos que se caracterizan por tener al menos un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo (Papuc et al., 2017). Dentro de este grupo se pueden encontrar alrededor de 10 000 compuestos que se pueden clasificar en subfamilias dependiendo del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a estos anillos, estos compuestos se pueden encontrar distribuidos en todas las partes que componen la planta, y en diferentes concentraciones de cada uno de ellos (Gutiérrez-del Río et al., 2018). Están involucrados en funciones de defensa de las plantas y frutos contra factores bióticos y abióticos (Zaynab et al., 2018). Estos compuestos poseen actividad antimicrobiana y antioxidante. La actividad antimicrobiana consiste en:

- Alteración de la membrana celular. Los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos aumentan la permeabilidad de la membrana celular debido a la disolución de la bicapa de fosfolípidos, alineando entre los ácidos grasos cadenas de ácidos, por lo que hay fuga de ATP y de otros componentes celulares (Papuc et al., 2017).
- Interferencia en la funcionalidad de la membrana. En este caso se ve alterado el transporte de electrones, el consumo de nutrientes, la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos, así como la actividad enzimática (Karaca y Newman, 2015).

- Reducción del pH. Los grupos hidroxilo promueven la deslocalización de electrones actuando como intercambiadores de protones, disminuyendo el gradiente de pH de la membrana citoplasmática y provocando la muerte celular (Pisoschi et al., 2018).

Sin embargo, la actividad antibacteriana de estos compuestos polifenólicos depende principalmente de tres factores: la concentración, el método de extracción y el tipo de microorganismo (Gyawali e Ibrahim, 2014; Gyawali et al., 2015; Karaca y Newman, 2015; Bilal et al., 2017; Pisoschi et al., 2018).

La actividad antioxidante está mediada por la presencia de grupos hidroxilo, eliminando los radicales libres, por lo que el potencial REDOX del medio de crecimiento disminuye, afectando por consiguiente el desarrollo de microorganismos (Gyawali e Ibrahim, 2014). Estos compuestos fenólicos son responsables también de evitar la oxidación de lípidos y proteínas presentes en la carne, al inhibir la generación de las especies reactivas al oxígeno (ROS) y las especies reactivas al nitrógeno (RNS) (Lorenzo et al., 2018).

**Capuchina.** La capuchina (*Tropaeolum majus*), también llamada mastuerzo, es una planta nativa de México y Sur América; posee flores de color amarillo, rojo y naranja, siendo este último el color más común. Es utilizada de forma ornamental y como ingrediente para ensaladas, sopas y pasta por su sabor parecido a la mostaza. Otro de los usos que se le dan es como cicatrizante, auxiliar en problemas respiratorios y del tracto urinario, antiescorbútico y para tratar enfermedades dermatológicas (Garzón y Wrolstad., 2009; Bazylo et al., 2013). Posee compuestos como glucotropaeolina, flavonoides, antocianinas, glucosinolatos, carotenoides, ácidos fenólicos y vitamina C (Fernandes et al., 2017). La actividad antioxidante de la capuchina se atribuye a las antocianinas presentes, las cuales le dan el color a los pétalos de la flor, mientras que la actividad antimicrobiana se relaciona a la acción del isotiocianato de bencilo ( $C_8H_7NS$ ) el cual es un compuesto organosulfurado con peso molecular de 149.211 g/mol y que se genera a partir de la reacción de los glucosinolatos y la enzima mirosinasa, la cual se libera al existir ruptura de los tejidos vegetales (Butnariu et al., 2011; Carvalho et al., 2015). La mirosinasa cataliza la

hidrolisis de los glucosinolatos formando aglicona, posteriormente la aglicona se reordena y pierde un sulfato, y dependiendo de las condiciones de hidrólisis y de la cadena glucosinolada se obtienen diversos productos, entre ellos los isotiocianatos (alil isotiocianato, benzyl isotiocianato y feniletil isotiocianato) (Dufour *et al.*, 2015; Kaiser *et al.*, 2017).

**Albahaca.** La albahaca (*Ocimum basilicum*) es una planta perteneciente a la familia de las Lamiaceae, se puede encontrar en regiones tropicales y sub tropicales de Asia, África, Sur y Centro América. Es utilizada como planta culinaria y ornamental, mientras que en la medicina tradicional se utiliza para tratar enfermedades o malestares como hipertensión, migraña, problemas renales, cólicos menstruales e insomnio (Khan *et al.*, 2015; Teofilović *et al.*, 2017). Posee una alta proporción de derivados fenólicos como eugenol, linalool, ácido vanílico, linoleno, ácido rosmarínico, cinamato de metilo, estragol y ácido hidroxibenzoico. La actividad antimicrobiana de la albahaca es atribuida a la presencia de eugenol ( $C_{10}H_{12}O_2$ ; 164.20 g/mol) y linalool ( $C_{10}H_{18}O$ ; 154.25 g/mol) principalmente, y la actividad antioxidante a compuestos como el ácido rosmarínico ( $C_{18}H_{16}O_8$ ; 360.31 g/mol) y el ácido vanílico ( $C_8H_8O_4$ ; 168.14 g/mol) (Bhuvaneshwari *et al.*, 2016; Baldim *et al.*, 2018).

**Aplicaciones de extractos naturales en alimentos.** Dannenberg *et al.*, (2016) examinaron el efecto antioxidante y antimicrobiano del árbol de pimienta rosa en queso fresco almacenado durante 30 días a 4°C. Los resultados mostraron que al aplicar mayor concentración del extracto, la capacidad antioxidante incrementaba, en cuanto a la actividad antimicrobiana observaron que se incrementaba al aumentar la concentración de extracto, logrando disminuir hasta 30% el crecimiento microbiano. .

Los extractos pueden utilizarse en alimentos que ya han sido sometidos a procesos de eliminación de microorganismos, pero cuyo riesgo de contaminación puede hacerse presente; tal como lo plantean Pinilla & Brandelli (2016), quienes probaron la actividad antimicrobiana de nanoliposomas que encapsulan nisina y extracto de



ajo (GE) contra *L. monocytogenes* en leche UHT, reportando un efecto bacteriostático durante los 25 días de almacenamiento por parte del extracto de ajo.

Mhalla et al, (2017) inocularon carne de res molida almacenada a 4 °C durante 30 días, con *L. monocytogenes*, para probar el efecto inhibitorio de *Rumex tingitanus* contra este microorganismo patógeno. Al finalizar el periodo de almacenamiento, concluyeron que el extracto inhibió el crecimiento de *L. monocytogenes*, de bacterias mesófilas y psicrófilas.

### **3.5 Quitosano como recubrimiento para alimentos**

Como alternativa se ha impulsado el uso de materiales que provengan de fuentes naturales que les permitan ser reutilizables, reciclables o biodegradables. Uno de los más utilizados actualmente son las películas y recubrimientos comestibles, provenientes de biopolímeros como la celulosa, la quitina, el almidón y la pectina por mencionar algunos, y cuyas características les permiten preservar los alimentos, funcionando como barreras para evitar la oxidación y el deterioro por acción de microorganismos. Las ventajas que ofrecen estos materiales por encima de los tradicionalmente utilizados son: la bio compatibilidad con otros materiales naturales, no son tóxicos, son comestibles y bio degradables, lo que los hace menos contaminantes; además se pueden obtener de desperdicios de otros sectores (Elsabee y Abdou, 2013; Yuan *et al.*, 2016; Cazón *et al.*, 2017; Schumann y Schmid, 2018).

La quitina es el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa, se encuentra presente en el exoesqueleto de crustáceos, insectos y la pared celular de los hongos. Al realizar el proceso de desacetilación de la quitina se obtiene el quitosano ( $C_{56}H_{103}N_9O_{39}$ ), el cual es un material comestible, no tóxico, bio degradable, bio compatible, con baja permeabilidad al oxígeno y con actividad antibacteriana contra Gram positivas y Gram negativas (Abdallah *et al.*, 2017; Alnoman *et al.*, 2017; Cazón *et al.*, 2017). Tiene un peso molecular entre 3.8 a 20 kDa y un grado de desacetilación que va del 66 al 95% (Ma *et al.*, 2017).

**Mecanismo de acción del quitosano.** La actividad antibacteriana del quitosano se basa en la interacción electrostática de los grupos amino con carga positiva del quitosano, y las cargas negativas presentes en la pared celular de las bacterias, esto altera la permeabilidad de la membrana teniendo como consecuencia fuga del contenido celular (Elsabee y Abdou, 2013). Otros mecanismos de acción antibacteriana propuestos consisten en la quelación de nutrientes y metales esenciales para la célula, la formación de una membrana alrededor de la bacteria la cual impide el paso de nutrientes y la interacción de los productos de la hidrólisis difusa con el DNA microbiano inhibiendo el mRNA y la síntesis de proteínas (Hosseinnejad y Jafari, 2016; Cazón *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2017; Perinelli *et al.*, 2018).

Las propiedades anteriormente descritas del quitosano lo hacen un buen material para la formación de películas que funcionen como barreras contra las acciones físicas y microbiológicas a las que están expuestas los alimentos, sin embargo, por sí mismo no posee las características mecánicas ideales para utilizarse como empaque en condiciones normales de almacenamiento de productos de origen animal, por lo que se ha investigado la posibilidad de mezclarlo con polímeros sintéticos que ayuden a mejorar las características físicas de las películas de quitosano (Abraham *et al.*, 2016). Dentro de este contexto se encuentra el alcohol polivinílico, el cual es un polímero sintético, soluble en agua, no tóxico, semi cristalino y biodegradable. Debido a que posee excelentes propiedades físicas y químicas, se utiliza para formar películas o recubrimientos dentro de la industria alimenticia, química y médica. Estos recubrimientos presentan elevada flexibilidad y resistencia a la tracción, por lo cual se ha impulsado el uso del alcohol polivinílico a través de mezclas con polímeros naturales, para mejorar las propiedades mecánicas de estos empaques (Bonilla *et al.*, 2014; Thanyacharoen *et al.*, 2018).

**Aplicaciones de películas de quitosano.** Se ha reportado que los recubrimientos de quitosano son una opción viable para aplicar sobre productos de origen animal, debido a que disminuyen el crecimiento microbiano y mantienen las características fisicoquímicas del alimento. Por ejemplo, Abdallah *et al.* (2017) utilizaron quitosano para recubrir carne seca, y observaron que el quitosano disminuye los valores de

TBARS entre 45 y 48%, mantuvo la estabilidad de los colores y la luminosidad y redujó un 32% el crecimiento de bacterias mesofílicas.

Se ha reportado que al mezclar extractos y quitosano, se obtuvieron mejores resultados debido a que mejoraron las características antimicrobianas y antioxidantes, permitiendo mantener las características fisicoquímicas por más tiempo. En este sentido Sogut y Seydim (2018) observaron que al mezclar quitosano con extracto de uva, el pH se mantiene durante el almacenamiento, y se disminuyó el crecimiento de bacterias mesofílicas y coliformes. Merlo et al. (2019) utilizaron quitosano con extracto de pimienta rosa y lo aplicaron sobre filetes de salmón, y reportaron una disminución de 28% en el crecimiento de bacterias psicotróficas, el pH también se observó estable y la apariencia en general del producto no fue diferente del tratamiento control.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de una película de quitosano con extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina), sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de la carne de pollo.

### 4.2 Objetivos específicos

- Elaborar los extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina).
- Valorar la actividad antimicrobiana de los extractos *in vitro* sobre la carne de pollo contra *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Abony* NCTC 6017 y *Escherichia coli*. ATCC 10586
- Sintetizar una película de quitosano con los extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina).
- Evaluar el efecto de la película comestible con los extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina) sobre características fisicoquímicas y sensoriales de la carne de pollo

## 5. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El empleo de películas de quitosano con extractos de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Tropaeolum majus* (Capuchina) para cubrir la carne ayudará a disminuir la presencia de microorganismos, sin afectar las características sensoriales y fisicoquímicas de la carne.

## **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Colección y preparación del material biológico**

La capuchina (*Tropaeolum majus*) se colectó en el área natural de la colonia San Andrés Totoltepec en la Delegación Tlalpan, Ciudad de México, mientras que la albahaca (*Ocimum Basilicum*) fue obtenida de un mercado local en la Delegación Tlalpan, Ciudad de México. Las plantas fueron autenticadas por la M. en C. Beatriz González Hidalgo responsable-curadora del herbario UAM-X. Las muestras se llevaron al Laboratorio de Ensayos Metabólicos de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, ahí se dejaron secar en una estufa de aire forzado a 35°C por 48 h. Una vez seco el material se molió y se almacenó en bolsas herméticas hasta el momento de utilizarlas.

### **6.2 Elaboración de los extractos**

La obtención de los extractos se realizó en el Laboratorio de Investigación de Química Orgánica y Productos Naturales de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Se utilizó la técnica calentamiento a temperatura de reflujo propuesta por Hoque *et al.*, (2011) con algunas modificaciones. El procedimiento fue el mismo para ambas plantas. Se pesaron en una balanza 100 g de la planta previamente molida, y se depositaron dentro de un matraz de bola de 5000 ml, adicionando 2000 ml de hexano, posteriormente se colocó en la canastilla de calentamiento y se conectó al reóstato y a la corriente eléctrica.

Se realizó la extracción a temperatura de reflujo durante cuatro horas, posteriormente se dejó enfriar y se filtró mediante el uso de un embudo Büchner y un papel filtro Whatman No. 1. El disolvente se eliminó en un rotavapor a 38° C y se almacenó en un frasco de cristal. La planta se dejó secar por 24 horas a temperatura ambiente y se realizó una segunda extracción con metanol, siguiendo el procedimiento anteriormente descrito. El residuo se colocó en baño maría por 48 horas y por último se colocó en una estufa de vacío por 48 horas para eliminar el disolvente en su totalidad, por último se pesó para calcular el rendimiento del extracto, se conservó y almacenó en un frasco de cristal hasta su uso. El rendimiento de los extractos se calculó de la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{peso del extracto}}{\text{peso de la muestra inicial}} \times 100$$

### **6.3 Evaluación de características de los extractos**

#### **Contenido total de compuestos fenólicos de los extractos**

Se midió el contenido total de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu siguiendo la metodología propuesta por Alhakmani et al. (2013) con ligeras modificaciones. Se utilizó ácido gálico como referencia estándar para realizar la curva de calibración. Se tomó un volumen de 0.5 ml de cada extracto (100 µg/ml) y se mezcló con 2 ml de la solución del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10) y 4 ml de solución de carbonato de sodio al 20 %. Se dejó por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, una vez pasado este periodo se midió la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm con un espectrofotómetro UV- Vis (Shimadzu UV-1800). El resultado final se expresó en mg/g de ácido gálico. La curva de calibración y las muestras se hicieron por triplicado.

**Actividad antioxidante de los extractos.** Se utilizó el método del radical libre 2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo (DPPH) siguiendo la metodología propuesta por Sulastri et al. (2018). En una placa ELISA de 96 pozos los extractos se evaluaron por triplicado los extractos de capuchina y albahaca a concentraciones de 6.25, 12.5, 25 y 50 µg/ml. Se utilizó quercetina como referencia y metanol como blanco. La mezcla de ensayo consistió en 100 µl de la solución de DPPH y 100 µl de la muestra a evaluar, se incubó la mezcla a temperatura ambiente en la oscuridad por 30 minutos, posteriormente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 520 nm. A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de actividad antioxidante} = \frac{\text{Control A} - \text{Muestra A}}{\text{Control A}} \times 100$$

Donde:

Control A: Absorbancia de DPPH y metanol

Muestra A: Absorbancia de las muestras

#### **6.4 Determinación del efecto antimicrobiano de los extractos** **Preparación de material biológico**

Se utilizaron cepas de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Abony* NCTC 6017 y *Escherichia coli* ATCC 10586. Las cepas de las bacterias se cultivaron en tubos con caldo soya tripticaseína (10 ml) y se incubaron por 24 horas a 36°C. Posteriormente se realizó la estandarización a  $10^8$  UFC/ml a un patrón 0.5 de Mc Farland, esto se realizó diluyendo la suspensión inicial de con caldo soya tripticaseína, hasta obtener una absorbancia de 0.7 utilizando un espectrofotómetro Densimat de Biomerieux.

**Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).** Se realizó siguiendo la técnica de macro dilución en caldo de acuerdo a la guía CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, 2017). Las diluciones se realizaron utilizando una solución madre del extracto metanólico disuelto en agua destilada (EMA) y se siguió el procedimiento que se describe a continuación. Se pesó un gramo del extracto y se añadieron 99 ml de agua destilada para obtener las soluciones madre. Posteriormente se tomó 1 ml de la solución madre de ambos extractos y se transfirió a otro tubo que contenía 1 ml de caldo Muller-Hinton, se agitó y se tomó 1 ml de esa solución, se añadió al tubo siguiente hasta obtener 6 diluciones. Las cepas se estandarizaron a una escala de 0.5 Mc Farland, posteriormente se diluyó a una suspensión de 1:150, que equivale a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/ml. Se llevó a una subsecuente dilución 1:2 con el extracto de las plantas y el medio de cultivo que tuvo un inóculo final de  $5 \times 10^5$  UFC/ml en caldo Muller-Hinton. Se incubaron en la estufa a 36° C por 24 h y se realizaron las lecturas con ayuda del espectrofotómetro.



**Prueba de sensibilidad antimicrobiana.** Para realizar la prueba de sensibilidad antimicrobiana de los extractos (Fc y Alb) se utilizó el método Kirby-Bauer de acuerdo a la guía de CLSI. Se inocularon cajas Petri de 10cm de diámetro con agar Muller-Hinton, distribuyendo las cepas de manera uniforme sobre la superficie del agar. Se utilizaron discos de papel filtro de 6 mm de diámetro los cuales se impregnaron con la solución de extracto en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100  $\mu$ l a partir de la solución madre (0.01mg/ml). Las cajas se incubaron por 24 horas a 36°C, y pasado este tiempo se procedió a la medición de los halos de inhibición en milímetros. La prueba se realizó por triplicado.

**Cinética de crecimiento bacteriano.** Para realizar la cinética de crecimiento bacteriano, se utilizó la solución madre de los extractos y las soluciones de quitosano que fueron descritas previamente. En tubos de ensayo que contenían 2 ml de caldo BHI, se añadió 1 ml de cada solución madre y 1 ml de las cepas previamente estandarizadas para tener un volumen final de 4 ml en cada tubo. Se realizó una primera lectura con ayuda del espectrofotómetro, la cual se denominó hora cero, posteriormente se realizó una lectura cada hora por doce horas, y después una lectura final a las 24 h. La prueba se realizó por triplicado.

### **6.5 Obtención de la biopelícula**

La obtención de la biopelícula de quitosano se realizó en el Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Se utilizó el método de casting siguiendo la metodología propuesta por Zhuang et al., (2018) con algunas modificaciones. Se utilizó quitosano de densidad media (190-310 kDa) con un grado de desacetilación de 75-85%; y alcohol polivinílico de densidad media (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Se obtuvieron 3 soluciones madre de quitosano disolviendo 2% de quitosano en una solución acuosa de ácido acético al 1%. Se agitó por 6 horas a temperatura ambiente. Para obtener la solución de alcohol polivinílico se disolvieron 5g en 100 ml de agua destilada, se agitó por 4 horas a 85 °C. Posteriormente se añadió glicerol

como plastificante a cada solución (0.75 ml/g) y se agitó por 15 minutos más. Se añadieron los extractos metanólicos de capuchina (ETm) o albahaca (EOb) de acuerdo a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) obtenida para cada planta, a dos de las tres soluciones y se agitaron por 15 minutos más. Las soluciones se colocaron en cajas Petri y se dejaron a temperatura ambiente por 12 horas para eliminar burbujas de aire; por último se secaron en una estufa por 24 horas a 45°C. Se obtuvo una concentración final de en cada película.

### **6.6 Caracterización de las películas**

Se evaluaron las películas para determinar si las películas presentaban características físicas y mecánicas que pudieran afectar la muestra cárnica al estar en contacto directo con esta.

**Grosor y color.** Para obtener el grosor de las películas se utilizó el método planteado por Serrano-León et al., (2017). Se eligieron al azar 5 películas de cada tratamiento, a las cuales se les midió el grosor en cinco puntos diferentes utilizando un micrómetro.

Para la obtención del color de las películas se utilizó un espectrofotómetro MINOLTA modelo CM-700d/600d, obteniendo los valores de las coordenadas CIE L\*a\*b\*. Se utilizaron 5 películas de cada tratamiento, realizando las mediciones por triplicado sobre un fondo blanco (Sogut y Seydim., 2018).

**Pruebas mecánicas.** La determinación del módulo elástico (EM), la fuerza de tensión (TS) y el porcentaje de elongación (%E) de las películas, se realizó de acuerdo a la ASTM D882-12. Cinco muestras de cada película (ancho y largo) se colocaron entre las pinzas de tracción, se utilizó una celda de carga de 500 N (Zwick/Roell modelo Z005, Alemania) con una velocidad de cruceta de 50 mm/min.

**Solubilidad, contenido de humedad y grado de absorción.** Se utilizó la metodología propuesta por Souza et al. (2017) con algunas modificaciones. De cada película se obtuvieron cuadros de 2x2 cm, los cuales se pesaron en una balanza

analítica para obtener el primer peso (M1). Después las muestras se secaron en horno a temperatura de 55 °C por 24 h para obtener la masa seca inicial (M2). Después las muestras se colocaron en cajas Petri que contenían 30 ml de agua destilada, se cubrieron y almacenaron a temperatura ambiente por 24 h, después de este periodo el agua que no fue absorbida se deshecho y las muestras se secaron superficialmente con papel filtro y se pesaron nuevamente (M3). Por último se secaron nuevamente a 55 °C por 24 h para obtener la masa seca final (M4). Se realizaron tres mediciones a cada muestra para obtener el promedio, y posteriormente se determinó el contenido de agua, la solubilidad y el grado de absorción utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Contenido de agua (\%)} = \frac{(M1 - M2)}{M1} \times 100$$

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{(M2 - M4)}{M2} \times 100$$

$$\text{Grado de absorción (\%)} = \frac{(M3 - M2)}{M2} \times 100$$

Donde:

M1: Primer peso

M2: Masa seca inicial

M3: Segundo peso

M4: Masa seca final

**Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y Velocidad de transmisión del vapor de agua (VTVA).** La PVA y la VTVA se realizó siguiendo lo descrito por Chang et al. (2019), tomando como base el método ASTM E96, con algunas modificaciones.

Las películas se colocaron en vasos permeables con un diámetro interno de 6.4 cm y una profundidad de 7.5cm con 10 ml de agua desionizada. Los vasos se colocaron en una cámara ambiental con gel de sílice anhidro a 20°C y 51% de HR y un

ventilador dentro para mover el aire interno y asegurar la homogeneidad de las condiciones. La VTVA se determinó usando la pérdida de peso en los vasos en función del tiempo calculado mediante regresión lineal ( $r_2 > 0.99$ ). Los vasos se pesaron cada dos horas por 10 horas continuas y posteriormente cada 24 horas por 3 días. La VTVA ( $\text{g/día m}^2$ ) y PVA ( $\text{g mm/ kPa día m}^2$ ) se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$WVTR = \frac{K}{S}$$

$$WVP = \frac{(WVTR * L)}{\Delta P}$$

Donde:

K: es la pendiente de la variación del peso frente a la función lineal del tiempo ( $\text{g/día}$ )

S: es el área de la superficie de la película expuesta ( $\text{m}^2$ )

L: es el espesor medio de la película ( $\text{mm}$ )

$\Delta P$ : es la diferencia de presión de vapor a través de la película ( $\text{kPa}$ ), calculada en función de la temperatura de la cámara y la humedad relativa dentro y fuera del vaso.

### **6.7 Evaluación del efecto de los extractos y la biopelícula adicionada con extractos en características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de la carne**

**Diseño experimental.** La carne se compró en una comercializadora de pollo (Coyoacán, Ciudad de México), se adquirieron piernas de 200-250 g aproximadamente, se transportaron en un recipiente hermético a  $4^\circ\text{C}$  al Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública, donde se obtuvieron los siguientes músculos: gastrocnemio y peroneo largo.

Para asegurar que las muestras tenían los microorganismos de interés para realizar el análisis microbiológico, se inoculó la carne siguiendo la metodología propuesta

por Yang *et al.*, (2016) con algunas modificaciones. Se inocularon con 0.07 ml de la suspensión bacteriana con una concentración de  $1 \times 10^3$  UFC/g, se utilizó una pipeta para añadir la suspensión en 7 puntos de la superficie de la muestra de cada lado, y así cubrir toda la superficie. Se dejaron secar por 5 minutos en la campana de flujo laminar y posteriormente se trataron y almacenaron como se describe a continuación

Se realizaron dos etapas de evaluación; la primera consistió en evaluar los extractos únicamente, para esto se utilizaron 168 piezas de pollo las cuales se dividieron en tres tratamientos (tabla 1) de 56 piezas cada uno (32 para análisis fisicoquímicos y 24 para microbiológico), las piezas fueron asperjadas con 2 ml de las soluciones de los extractos y empacadas en charolas de unicel y cubiertas con una película de PVC, se almacenaron a 4° C por 21 días, realizando las evaluaciones por triplicado los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento.

**Tabla 1.** Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Descripción
Ct	Control: sin adición de extractos
Cp	Asperjado con extracto de capuchina ( <i>Tropaeolum majus</i> )
Alb	Asperjado con extracto de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> )
Ctr	Control: sin película de quitosano
Qt	Cubierto con película de quitosano
QtCp	Cubierto con película de quitosano adicionada con extracto de capuchina ( <i>Tropaeolum majus</i> )
QtAlb	Cubierto con película de quitosano adicionada con extracto de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> )

En la segunda etapa se evaluaron las películas de quitosano adicionadas con los extractos por lo que las piezas de pollo se dividieron en 4 tratamientos (Tabla 1) de 56 piezas cada uno (32 piezas para análisis fisicoquímicos y 24 para análisis microbiológicos). Las muestras se cubrieron de cada lado con las películas, se empacaron en charolas de unicel y se cubrieron con una película de PVC y fueron almacenadas a 4°C por 21 días, realizando las evaluaciones fisicoquímicas y bacteriológicas los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento. Todas las evaluaciones se realizaron por triplicado.

**Análisis de las características fisicoquímicas y sensoriales de la carne.** Se realizó en el Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública utilizando las técnicas descritas a continuación:

**Determinación de pH.** Se realizó mediante el método planteado por Zhang *et al.* (2016): Se pesaron 10 gramos de muestra, se homogenizó añadiendo 90 ml de agua destilada y se mezcló durante un minuto, se filtró la mezcla y se realizó la medición de pH al filtrado utilizando un potenciómetro HANNA modelo HI 2210.

**Determinación de la Capacidad de Retención de Agua (CRA).** Mediante el método de compresión entre dos placas de acrílico con algunas modificaciones (SAGARPA, 2011). Primero se pesó el papel filtro (Whatman no. 54) en una balanza analítica, se pesaron 0.3g ( $\pm 0.05$ ) de cada muestra y se colocaron dentro del papel filtro doblado por la mitad. Se colocó el papel filtro con la muestra entre dos placas de acrílico y fue sometido a compresión usando una pesa de 2.25 kg durante 5 minutos, transcurrido ese tiempo se retiró la muestra de carne y se pesó nuevamente el papel filtro. Para realizar los cálculos se utilizará la siguiente fórmula:

$$\text{Jugo liberado (\%)} = \frac{(\text{Peso final papel filtro} - \text{Peso inicial papel filtro})}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

**Determinación de color.** Siguiendo la metodología planteada por Huang *et al.* (2017), utilizando un espectrofotómetro MINOLTA modelo CM-700d/600d, midiendo

los valores de la escala L\* (luminosidad), a\* (color rojo) y b\* (color amarillo) del sistema CIE. Las muestras se sacaron del empaque y se expusieron al ambiente durante 5 minutos. El instrumento se colocó directamente en la superficie de la carne y se realizó la medición en nueve diferentes puntos de la muestra para obtener el promedio.

**Determinación de textura.** Se empleó la metodología propuesta por Jin *et al.*, (2015). La fuerza de corte se estimó utilizando el texturómetro Texture Analyzer/ Portable  $\pm$  2500 NI TMS-Pro, se usó la cuchilla Warner Bratzler y la velocidad se fijó a 100 mm/min, la fuerza de corte se expresó en kgf/cm<sup>2</sup>. Las muestras de carne se cocieron a baño maría hasta que la temperatura interna fue de 70 °C, posteriormente se cortaron para obtener 3 tiras de 1 cm de ancho, 5 cm de largo y 1 cm de altura, y se colocaron de tal forma que el corte de la cuchilla fue perpendicular a las fibras musculares. Se realizaron 3 cortes en cada tira.

**Evaluación Microbiológica.** Para determinar el crecimiento bacteriano en la carne se siguió el método planteado en la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparación y dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Se utilizaron 10 g de cada muestra y se homogenizaron con 90 ml de agua peptonada estéril. Posteriormente se realizaron 3 diluciones seriadas y se sembraron en cajas Petri con agar Mc Conkey y agar Salmonella-Shigella, a continuación se incubaron a 36°C por 24 y 48 h. El conteo se realizó pasado el periodo de incubación y los resultados se expresaron en log UFC/g.

**Evaluación sensorial.** Se realizó una prueba sensorial afectiva, para determinar el nivel de aceptación de las muestras de pollo cubiertas con las películas. Se utilizó la metodología planteada por Stojanović-Radić *et al.* (2018) con algunas modificaciones. Las muestras utilizadas no fueron inoculadas con ningún microorganismo. Cada muestra se cortó en cubos de aproximadamente 5 cm y se cocinaron en baño maría hasta alcanzar una temperatura interna de 80 °C. Las

muestras se sirvieron a temperatura ambiente, en recipientes codificados con tres números aleatorios. Se utilizaron 60 panelistas a los cuales se les pidió evaluar el sabor, color, textura y olor. Las características sensoriales se determinaron mediante la escala hedónica de 9 puntos: me gusta muchísimo (9); me gusta mucho (8); me gusta (7); me gusta ligeramente (6); ni me gusta ni me disgusta (5); me disgusta ligeramente (4); me disgusta (3); me disgusta mucho (2); me disgusta muchísimo (1).

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos fueron analizados a través del análisis de varianza de una sola vía, utilizando el programa estadístico JMP, versión 8, el modelo estadístico utilizado solo se aplicó para las evaluaciones de las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. Para determinar diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey, al nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ . Para el resto de las evaluaciones solo se utilizó estadística descriptiva.

$$y_{ij} = \mu_i + \tau_j + \varepsilon_{ij}$$

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Rendimiento y Contenido total de compuestos fenólicos de los extractos

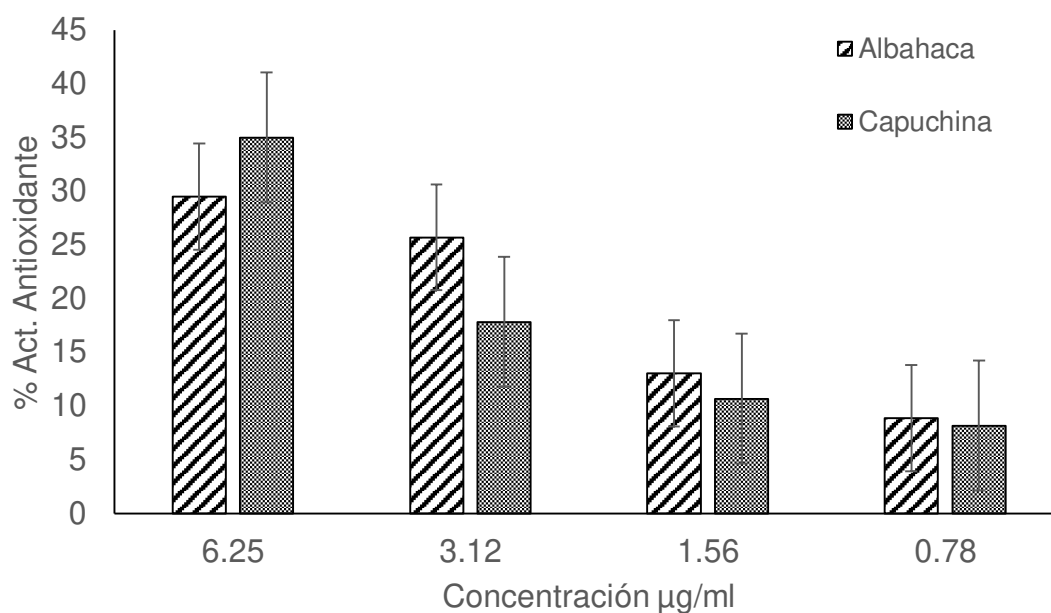
El rendimiento de los extractos fue de 8.94 % para el extracto de albahaca y 28.6 % para el extracto de capuchina. Se observó que la planta de albahaca presentó un rendimiento casi cuatro veces menor que capuchina. El rendimiento obtenido para albahaca se encuentra dentro de los valores reportados por Teofilovic et al. (2017) mientras que capuchina obtuvo un rendimiento similar al obtenido por Zhang et al. (2016) para romero y clavo.

El contenido total de polifenoles de los extractos metanólicos de capuchina y albahaca fue de 40.64 y 21.50 mg de AG/g de extracto, respectivamente. Las diferencias en rendimientos y contenido de polifenoles pueden deberse al disolvente utilizado, el método de extracción, el tamaño de las partículas que se utilicen (Zlotek et al., 2015; Noreen et al., 2017; Teofilovic et al., 2017; Ahmed et al., 2019) así como



la parte y tipo de planta que se utilice (Mostafa et al., 2018). Por ejemplo, Garzón y Wrolstad (2009) obtuvieron una cantidad de polifenoles totales de 406 mg AG/g utilizando únicamente las flores de color anaranjado de la capuchina, mientras que Bazylko et al. (2014) obtuvieron una cantidad de 35.6 mg de AG/g en un extracto etanólico de hojas y flores (7:3). Los resultados obtenidos en este trabajo para el extracto de flor capuchina son similares debido a que la proporción utilizada de flores y hojas fue similar a la utilizada por Bazylko et al. (2014). Teofilovic et al. (2017) reportan una mayor concentración de polifenoles en albahaca al utilizar disolventes polares (5.17 a 62.25 mg AG/g), los valores encontrados en este trabajo se encuentran en el rango intermedio, por lo que la cantidad del extracto obtenido fue buena.

**Actividad antioxidante de los extractos.** En la figura 1 se muestran los resultados de la actividad antioxidante de los extractos, se observó que en la concentración de 6.25 µg/ml la actividad fue mayor en el extracto de capuchina respecto al de albahaca, sin embargo, a medida que la concentración disminuye la capacidad antioxidante de capuchina también se reduce lo que podría indicar que a mayor concentración de extracto mayor es la actividad antioxidante. Esto coincide con lo reportado por Bazylko et al. (2013) y Carvalho et al. (2015), quienes observaron un efecto dosis-dependiente para *Tropaeolum majus* ya que reportaron entre 30 y 40 % de actividad antioxidante cuando las concentraciones fueron elevadas. En el extracto de capuchina se ha reportado que los compuestos polifenólicos más abundantes son ácidos cafeoilquínicos (Bazylko et al., 2013; Koike et al., 2015), mientras que en albahaca el compuesto más abundante es el linalool (Baldim et al., 2018; Ahmed et al., 2019), ambos compuestos poseen fuerte actividad antioxidante, sin embargo, Turkmen et al., (2006) reportan que la actividad antioxidante está relacionada a la cantidad y tipo de polifenoles presentes.

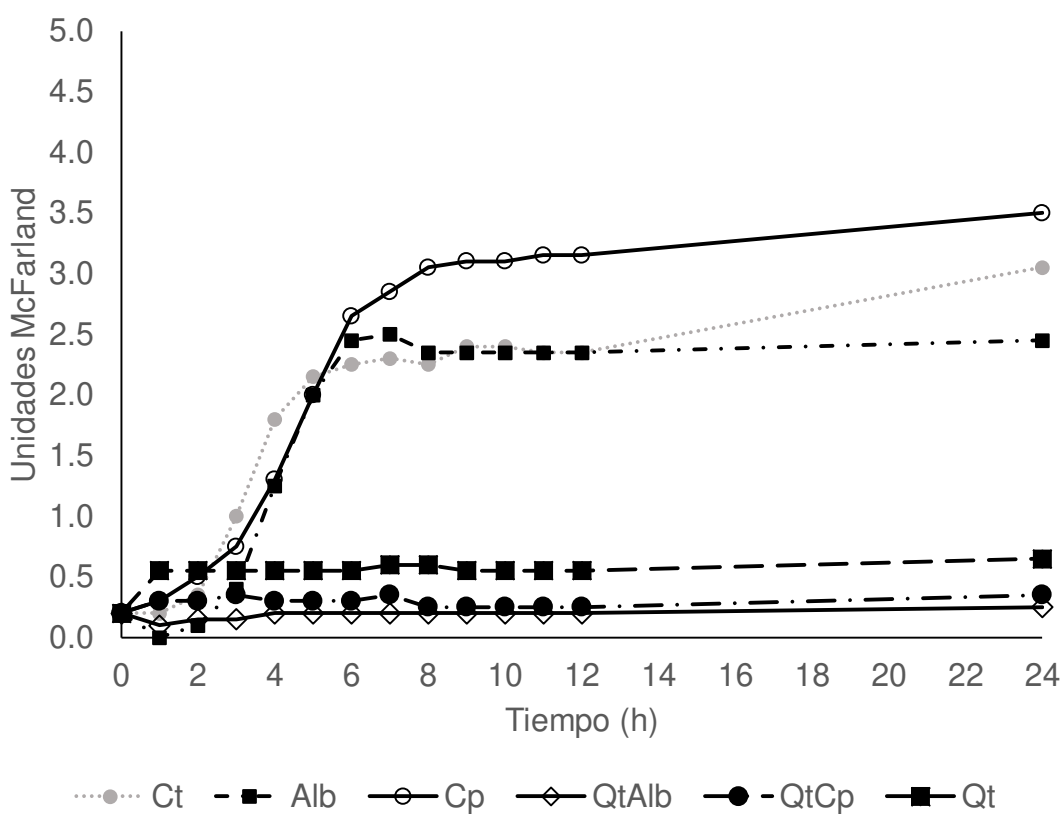


**Figura 1.** Actividad antioxidante de los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*).

## 7.2 Determinación del efecto antimicrobiano de los extractos Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria identificada para ambos extractos fue de 10 µg/ml, concentración considerada baja ya que, en el caso de capuchina se ha reportado para *E. coli* CMI por arriba de 128 µg/ml, mientras que para *Salmonella sp.* han sido superiores a 256 µg/ml (Butnariu et al., 2011). Mientras que para albahaca se reporta una CMI de >2640 mg l<sup>-1</sup> para *E. coli* y *Salmonella infantis* (Alzoreky y Nakahara, 2003). Aunque las concentraciones inhibitorias pueden variar dependiendo el tipo de disolvente utilizado para la extracción (Butnariu et al., 2011), la variedad de planta y estación en la que sea colectada (Hussain et al., 2008) y la cepa microbiana contra la que se prueba (Mostafa et al., 2018), en este caso se observa un efecto inhibitorio en la concentración utilizada, sin embargo, este efecto puede ser dependiente del tiempo de acuerdo a lo que se observó en la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

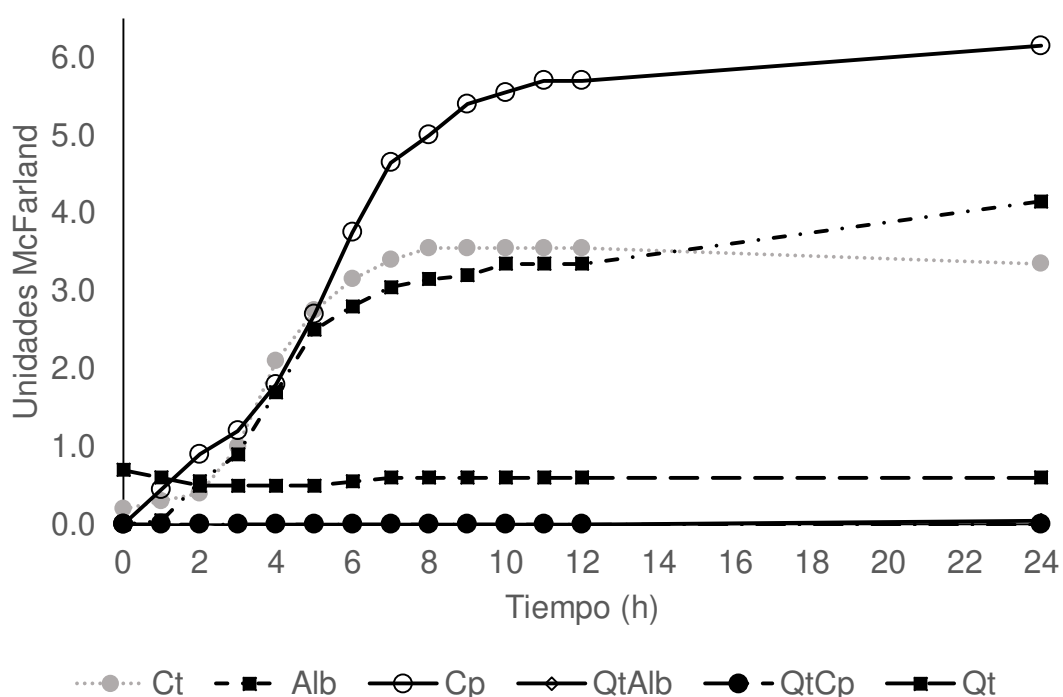
**Cinética de crecimiento bacteriano.** Al exponer la cepa de *E.coli* ATCC 10586 a las soluciones acuosas de los extractos y a las soluciones de quitosano (figura 2) se observó efecto inhibitorio por parte de los extractos ( $p > 0.05$ ) hasta las 5 horas de evaluación únicamente. Por otra parte los tratamientos con quitosano mostraron actividad inhibitoria respecto de los tratamientos con extracto y el tratamiento control ( $p < 0.05$ ) lo que significó que la adición de los extractos no interfiere con el efecto del quitosano y se potencializa su efecto. Resultados similares han sido reportados por Shekarfroush et al., (2015), Yuan et al., (2016) y Wang et al., (2019).



**Figura 2.** Cinética de crecimiento bacteriana de *E. coli* ATCC 10586 expuesta a solución acuosa de extractos metanólicos de flor capuchina (***Tropaeolum majus***) y albahaca (*Ocimum basilicum*); y solución de quitosano y quitosano mezclado con extractos metanólicos de flor capuchina y albahaca.

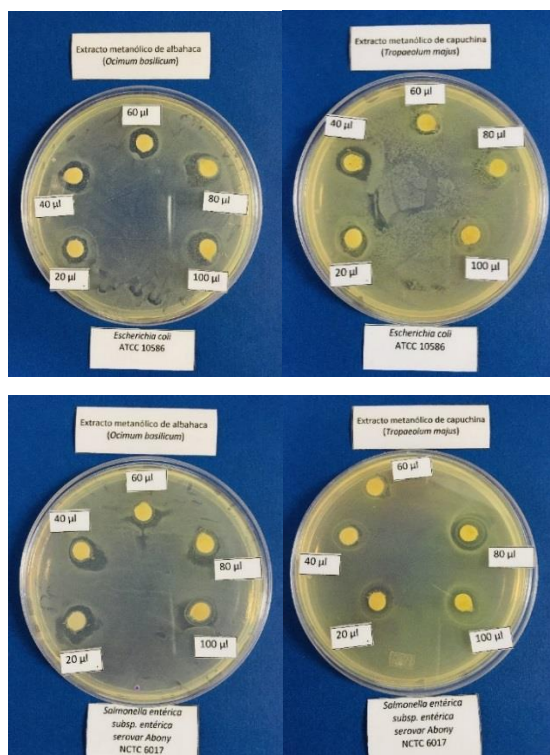
En los tratamientos utilizados en la cinética de crecimiento de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Abony* NCTC 6017 se observó que no hubo efecto inhibitorio de los extractos (figura 3), mientras que las soluciones que contenían quitosano mantuvieron el crecimiento por debajo de 0.5 Unidades McFarland.

Uno de los métodos de actividad microbiana del quitosano es la formación de una cápsula alrededor de los microorganismos (Ma et al., 2017), lo que podría ser la causa de que en las dinámicas de crecimiento no se observe crecimiento microbiano, ya que al formarse esta cápsula alrededor de la bacteria no permite que lleguen los nutrientes del medio y por lo tanto la bacteria no se desarrolle.



**Figura 3.** Cinética de crecimiento bacteriana de la solución acuosa de extractos metanólicos de flor capuchina (*Tropaeolum majus*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) y solución de quitosano y quitosano mezclado con extractos metanólicos de flor capuchina (*Tropaeolum majus*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) contra la cepa de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Abony* NCTC 6017

**Prueba de sensibilidad antimicrobiana.** Los resultados de la prueba indicaron que los extractos tuvieron efecto bacteriostático solamente durante las primeras horas, debido a que se observó un halo de inhibición alrededor de los discos, sin embargo, en esta zona hubo crecimiento aunque de menor densidad (Figura 4). Debido a que los microorganismos que se utilizaron fueron Gram negativos, el efecto antimicrobiano de los extractos podría verse disminuido, debido a la doble membrana celular que poseen estas bacterias. Mosfata et al. (2018) observaron este efecto al utilizar extractos etanólicos de plantas contra bacterias Gram negativas y positivas, obteniendo mayor efecto inhibitorio sobre las Gram positivas. Por otra parte, Khaliq et al. (2018) reportan un diámetro de inhibición mayor para *Staphylococcus aureus* que para *Escherichia coli* al utilizar extracto metanólico de *Ocimum sanctum*, además observaron que el efecto inhibitorio aumentó al incrementar la concentración del extracto utilizado.



**Figura 4.** Actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de capuchina y albahaca contra las cepas de *E. coli* ATCC 10586 y *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Abony* NCTC 6017

### 7.3 Caracterización de las películas

**Grosor y color.** Los resultados obtenidos para la evaluación de grosor y color de las películas de quitosano se muestran en la tabla 2. Las películas elaboradas con el método de casting no mostraron diferencias en grosor ( $p > 0.05$ ) teniendo un promedio de  $0.50 \pm 0.05$  mm de grosor, en este sentido Kanatt et al. (2012) reportaron que no obtuvieron existen variaciones en cuanto al grosor de las películas por efecto de la adición de los extractos. Las variaciones en grosor también se evitaron debido a que siempre se utilizó la misma cantidad de solución para la formación de las películas, ya que se ha reportado que si puede haber variaciones en función de la cantidad de extracto que se añada, del porcentaje que se utilice de quitosano así como del volumen de la solución que se use para la formación de las películas (Souza et al., 2017; Rambabu et al., 2019). En cuanto a luminosidad ( $L^*$ ) se observaron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre los tres tratamientos, siendo la película de QtCp la menos luminosa, mientras que la película de Qt fue la más luminosa. En la tendencia a rojo ( $a^*$ ) de las tres películas se observaron valores negativos, indicando una coloración ligeramente verde, la cual fue más notoria en la película QtCp ( $p < 0.05$ ). En todas las películas se observó un ligero color amarillo, siendo más significativo para la película de QtCp ( $p < 0.05$ ). La disminución de la luminosidad de las muestras evaluadas puede deberse a la cantidad de pigmentos presentes en los extractos, ya que Kan et al. (2019) mencionan que la luz no se refleja con la misma intensidad, dando como resultado una película más oscura y con mayor coloración. Esta tendencia fue observada también por Souza et al. (2017) al añadir extractos de romero, jengibre, té verde y té negro.

**Tabla 2.** Grosor y color de películas de quitosano y quitosano mezclado con extractos de capuchina (*Tropaeolum majus*) y albahaca (*Ocimum basilicum*).

	Tratamiento			
	Qt	QtCp	QtAlb	E.E
Grosor (mm)	0.52 <sub>a</sub>	0.52 <sub>a</sub>	0.51 <sub>a</sub>	0.00
L*	86.83 <sub>a</sub>	81.46 <sub>c</sub>	85.70 <sub>b</sub>	0.28
a*	-0.83 <sub>a</sub>	-3.22 <sub>b</sub>	-0.97 <sub>a</sub>	0.07
b*	2.29 ± 0.83 <sub>b</sub>	18.18 ± 3.04 <sub>a</sub>	3.12 ± 1.09 <sub>b</sub>	0.56

Las letras a, b y c en las filas, indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

**Pruebas mecánicas.** El módulo elástico, la fuerza de tensión y el porcentaje de elongación (tabla 3) se obtuvieron a partir de las curvas de esfuerzo-deformación obtenidas de las pruebas realizadas a cada película. El módulo elástico de las tres películas fue similar ( $p > 0.05$ ) lo que indicó que los tres tipos de películas mostraron la misma flexibilidad. En cuanto a la resistencia a la tensión y porcentaje de elongación de la película Qt fue significativamente mayor a QtAlb y QtCp ( $p < 0.05$ ) esto podría deberse a que las moléculas de los extractos disminuyen la elasticidad debido a su interacción con los grupos OH de las moléculas de glicerol y alcohol polivinílico. Sin embargo, Souza et al. (2017) y Priyadarshi et al. (2018), reportan que al añadir extractos no hay diferencias respecto de las películas de quitosano.

**Tabla 3.** Propiedades mecánicas (ME, FT, %E) de las películas de quitosano y quitosano mezcladas con extractos de capuchina y albahaca.

	Qt	QtCp	QtAlb	EE
Modulo elástico (MPa)	33.67 <sub>a</sub>	30.78 <sub>a</sub>	28.93 <sub>a</sub>	2.11
Resistencia a la tensión (MPa)	22.44 <sub>a</sub>	13.03 <sub>b</sub>	16.34 <sub>b</sub>	1.80
Elongación (%)	117.16 <sub>a</sub>	72.94 <sub>b</sub>	79.52 <sub>b</sub>	6.65

Las letras a y b en las filas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos

**Solubilidad, contenido de humedad y grado de absorción.** La película de quitosano tuvo un mayor porcentaje ( $p < 0.05$ ) de contenido de agua (tabla 4) que las películas que contenían los extractos de capuchina y albahaca, esta tendencia fue observada por Bajić et al. (2019). Lo anterior podría deberse a la interacción entre las moléculas del quitosano con los componentes de los extractos los cuales evitan que el agua se ligue a las moléculas del quitosano, por lo cual la película que no contiene extractos tiene mayor contenido de agua, lo que concuerda con los resultados obtenidos.

El porcentaje de solubilidad no se afectó ( $p < 0.05$ ) en ninguno de los tratamientos, aunque Wang et al. (2019) reportaron que la inclusión de extractos en las películas puede afectar la solubilidad debido a que las moléculas de los polifenoles y las moléculas de quitosano presentan una interacción más fuerte, evitando que el agua interactúe con las moléculas del quitosano, por lo que la matriz de la película no se degrada. No obstante, el resultado obtenido es mayor que lo reportado por otros autores (Souza et al., 2017; Bajić et al., 2019). Tanto la película Qt como QtAlb obtuvieron un porcentaje similar en cuanto a grado de absorción, teniendo un 25% más de absorción que la película de QtCp ( $p < 0.05$ ). Debido a que la cantidad de polifenoles es mayor en el extracto de capuchina, tiene mayor interacción con las moléculas de quitosano, disminuyendo los enlaces de este con el agua, por lo que el grado de absorción es menor que las otras dos películas, coincidiendo con lo reportado por Souza et al. (2019), quienes observaron este mismo efecto al utilizar extractos hidro-alcohólicos.



**Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y velocidad de transmisión del vapor de agua (VTVA).** Las películas Qt mostraron una mayor permeabilidad de agua ( $p < 0.05$ ) respecto de las películas QtCp y QtAlb (tabla 4). Esto puede deberse a que la matriz polimérica se refuerza con la interacción de los compuestos de los extractos con los otros componentes de la película, por lo que el espacio intersticial se reduce (Wang et al., 2019), sin embargo, este comportamiento puede variar dependiendo de los componentes hidrofóbicos e hidrofílicos que se encuentren en los componentes de las películas (Sogut y Seydim, 2018; Yong et al., 2019). Priyadarshi et al. (2018), Kan et al. (2019), Wang et al. (2019), reportaron que las películas de quitosano tienen una mayor permeabilidad que las que contienen extractos, además observaron que al incrementar la concentración de los extractos la permeabilidad disminuía.

**Tabla 4.** Contenido de agua, solubilidad, grado de absorción, PVA y VTVA de las películas de quitosano y quitosano con extracto de capuchina y albahaca

	Qt	QtCp	QtAlb	E.E.
Contenido de agua (%)	17.34 <sub>a</sub>	15.45 <sub>b</sub>	15.28 <sub>b</sub>	0.25
Solubilidad (%)	49.27 <sub>a</sub>	47.88 <sub>a</sub>	46.97 <sub>a</sub>	0.97
Grado de absorción (%)	73.73 <sub>a</sub>	55.22 <sub>b</sub>	73.29 <sub>a</sub>	5.43
PVA	0.24 <sub>a</sub>	0.20 <sub>b</sub>	0.19 <sub>b</sub>	0.00
VTVA	0.82 <sub>b</sub>	0.87 <sub>a</sub>	0.86 <sub>a</sub>	0.00

Las letras a y b en las filas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos

PVA= Permeabilidad al vapor de agua

VTVA= Velocidad de transmisión del vapor de agua

#### **7.4 Efecto de los extractos en características fisicoquímicas y microbiológicas de la carne**

El pH de las muestras (tabla 5) fue similar al día 1 y se incrementó significativamente a través del tiempo, siendo el tratamiento Cp el que presentó el valor más bajo al final del almacenamiento. Esto quiere decir que la adición de los extractos no modificaron significativamente el pH a través del tiempo ( $p > 0.05$ ), sin embargo, si permitieron el incremento. El aumento del pH pudo deberse a la acción de los microorganismos presentes, ya que se observó crecimiento microbiano durante el

almacenamiento, entonces el aumento de pH pudo deberse a que la amonía se encuentra entre los productos del metabolismo de las bacterias Gram negativas (Hwang et al., 2013), por lo que al acumularse, el pH de la carne aumentó. Por el contrario Radha et al. (2014), Zhang et al. (2016) y Özünlü et al. (2018) reportaron valores de pH inferiores y estables a los tratamientos control.

La capacidad de retención de agua (CRA) de las muestras evaluadas (tabla 5) incremento en relación al tiempo de almacenamiento, respecto del día 1 al día 21 (Ct-6.27%, Cp-15.56% y Alb-19.33%). Se observó que los tratamientos incrementaron la CRA, siendo los tratamientos con extracto los más significativos ( $p < 0.05$ ). Se ha reportado en otra matriz cárnica que al añadir extracto (Jung & Joo, 2013) la capacidad de retención aumenta al incrementar la concentración del extracto. El aumento en la CRA puede deberse a la interacción de las moléculas de agua con los componentes de los extractos al formar enlaces más fuertes que mantendrían el agua interactuando con los extractos en la superficie, por lo que el agua estaría moviéndose desde el interior de la matriz cárnica hacia el exterior; resecando la carne que fue la tendencia que mostraron las muestras del tratamiento Cp. Otro efecto que se puede observar es que los extractos utilizados en este trabajo presentan actividad antioxidante, los compuestos antioxidantes podrían estar actuando contra los radicales libres los cuales afectan las proteínas de la matriz cárnica ocasionando cambios estructurales en la misma (Mancini et al., 2017); por lo que al inhibir la acción de los radicales libres, la matriz cárnica estaría reteniendo el agua que se encuentra entre las miofibrillas, debido a esto es que la muestra con extracto de albahaca mostró menor pérdida de agua, sin presentar desecación de la muestra.

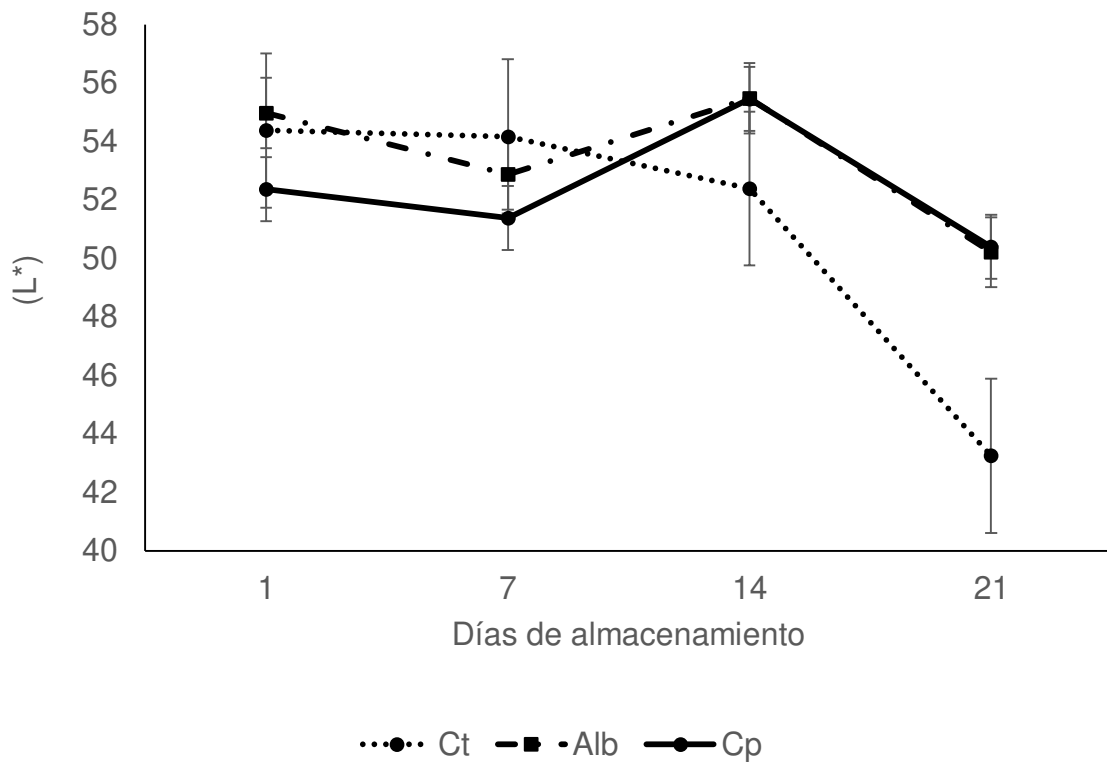
**Tabla 5.** Cambios en el pH, CRA y textura de la carne de pollo asperjada con los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

	Tiempo de almacenamiento			
	1	7	14	21
<b>pH</b>				
Ct	6.52 <sub>dx</sub>	7.74 <sub>cx</sub>	8.65 <sub>bx</sub>	9.00 <sub>ax</sub>
Cp	6.45 <sub>cx</sub>	7.47 <sub>by</sub>	8.12 <sub>az</sub>	8.33 <sub>ay</sub>
Alb	6.46 <sub>dx</sub>	7.56 <sub>cxy</sub>	8.34 <sub>by</sub>	8.93 <sub>ax</sub>
E.E.	0.03	0.05	0.04	0.05
<b>CRA (%)</b>				
Ct	70.69 <sub>by</sub>	77.19 <sub>aby</sub>	80.90 <sub>ay</sub>	76.96 <sub>aby</sub>
Cp	77.19 <sub>bx</sub>	87.43 <sub>ax</sub>	92.35 <sub>ax</sub>	92.75 <sub>ax</sub>
Alb	73.20 <sub>bxy</sub>	72.39 <sub>by</sub>	78.52 <sub>by</sub>	92.53 <sub>ax</sub>
E.E.	1.21	2.20	1.94	1.71
<b>Esfuerzo al corte (kgf)</b>				
Ct	0.705 <sub>bx</sub>	0.760 <sub>bx</sub>	0.462 <sub>cx</sub>	1.117 <sub>axy</sub>
Cp	1.025 <sub>bx</sub>	0.676 <sub>cx</sub>	0.551 <sub>dx</sub>	1.356 <sub>ax</sub>
Alb	0.818 <sub>ax</sub>	0.566 <sub>by</sub>	0.522 <sub>bx</sub>	0.808 <sub>ay</sub>
E.E.	0.10	0.02	0.04	0.10

Las letras a-d en las filas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre días del mismo tratamiento; las letras x-z en las columnas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos.

El análisis del esfuerzo al corte (tabla 5) se realizó en la carne de pollo cocida. La muestra más estable durante el almacenamiento fue Alb, mientras que en Ct y Cp se observó aumento de la dureza. En el día 1 todas las muestras fueron iguales. Al día 7 la carne más suave fue la del tratamiento Alb; el día 14 nuevamente todas las muestras se comportaron similar siendo más suaves que el día 7. Para el día 21 se observó mayor dureza en Cp en comparación contra Alb ( $p < 0.05$ ). El tratamiento Cp al ser el más reseco, perdió el agua que le quedaba durante la cocción siendo la más dura; mientras que el tratamiento Alb al tener mayor CRA perdió menos agua siendo la más suave. Por último la muestra control también perdió agua durante la cocción, sin embargo, al no presentar resequedad fue ligeramente más suave que la muestra Cp. Estos resultados contrastan con lo reportado por Jung & Joo (2013) quienes observaron que la dureza de las muestras disminuía con la adición de extractos.

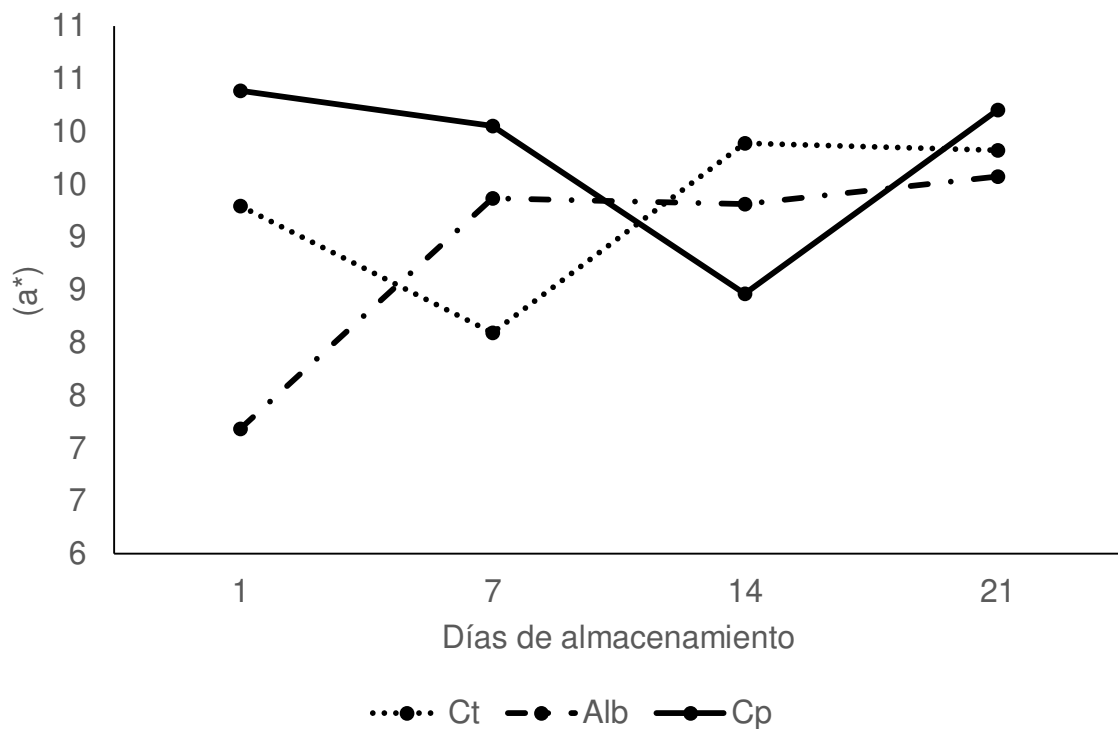
Las diferencias en cuanto a luminosidad de las muestras asperjadas con los extractos, se observan en la figura 5. La luminosidad de la carne de pollo con los tres tratamientos se comportó de forma similar hasta el día 14, y fue hasta el día 21 fue que se observó una mayor disminución en el valor de  $L^*$ , principalmente en el Ct ( $p < 0.05$ ). El oscurecimiento de las muestras con tratamiento pudo ser causado por la cantidad de pigmentos presentes en los extractos, mientras que en la muestra control este comportamiento es natural (Radha et al., 2014; Zang et al., 2016; Özünlü et al., 2018). Los resultados de luminosidad pueden presentar variabilidad debido a que se ha reportado un incremento en la luminosidad al añadir extractos (Radha et al., 2014; Zang et al., 2016), mientras que en otros casos disminuye (Özünlü et al., 2018).



**Figura 5.** Luminosidad ( $L^*$ ) de la carne de pollo asperjada con los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

En cuanto a la tendencia a rojo (Figura 6) todas las muestras obtuvieron valores positivos durante todo el tiempo de almacenamiento, presentando diferencias ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos únicamente el día 1. Al analizar los datos entre días del mismo tratamiento, se observó que el tratamiento Alb presentó un incremento ( $p < 0.05$ ) en la tendencia a rojo del día 1 al 7 y después se mantuvo constante hasta el día 21, mientras que los tratamientos Cp y Ctr mostraron comportamiento variable, sin embargo, todos los tratamientos al día 21 se mantuvieron en el mismo nivel de coloración ( $p > 0.05$ ). La oxidación de la mioglobina es el factor principal en cuanto al cambio de coloración de la carne debido a que al oxidarse los pigmentos se cataliza la oxidación lipídica, y al formarse los radicales libres estos pueden oxidar los átomos de hierro cambiando el estado de la mioglobina a metamioglobina, o puede haber desnaturalización de las moléculas de mioglobina, y cualquiera de

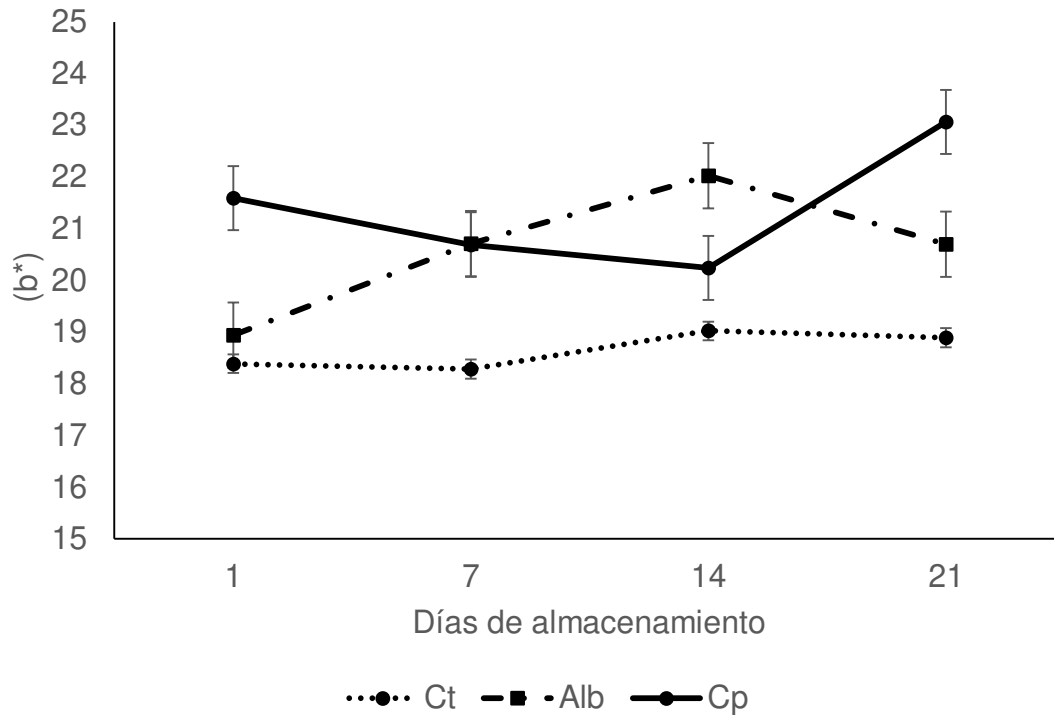
estos dos fenómenos cambiarían el color de la carne (Özünlü et al., 2018). En la muestra control este proceso se daría de forma natural, mientras que en los tratamientos con extractos podría ser por acción de los pigmentos presentes. Se ha observado que la adición de extractos cambia el color rojo en las muestras de carne utilizadas, disminuyendo el valor a través del tiempo (Radha et al., 2014; Zang et al., 2016; Özünlü et al., 2018).



**Figura 6.** Tendencia a rojo (a\*) de la carne de pollo asperjada con los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

En el comportamiento en la tendencia a amarillo (b\*) de las muestras (Figura 7) se puede observar que Cp obtuvo el valor más alto al inicio y final del experimento, Alb tuvo valores intermedios entre Cp y Ctr, mientras que este último fue el de valores más bajos durante el almacenamiento. Este comportamiento en la coloración puede deberse a los pigmentos presentes en los extractos, debido a que los extractos presentan una coloración entre café y verde. Radha et al., 2014; Zang et al., 2016;

Özünlü et al., 2018 obtuvieron valores de  $b^*$  más altos en las muestras tratadas con extractos, lo que coincide con los resultados aquí obtenidos.



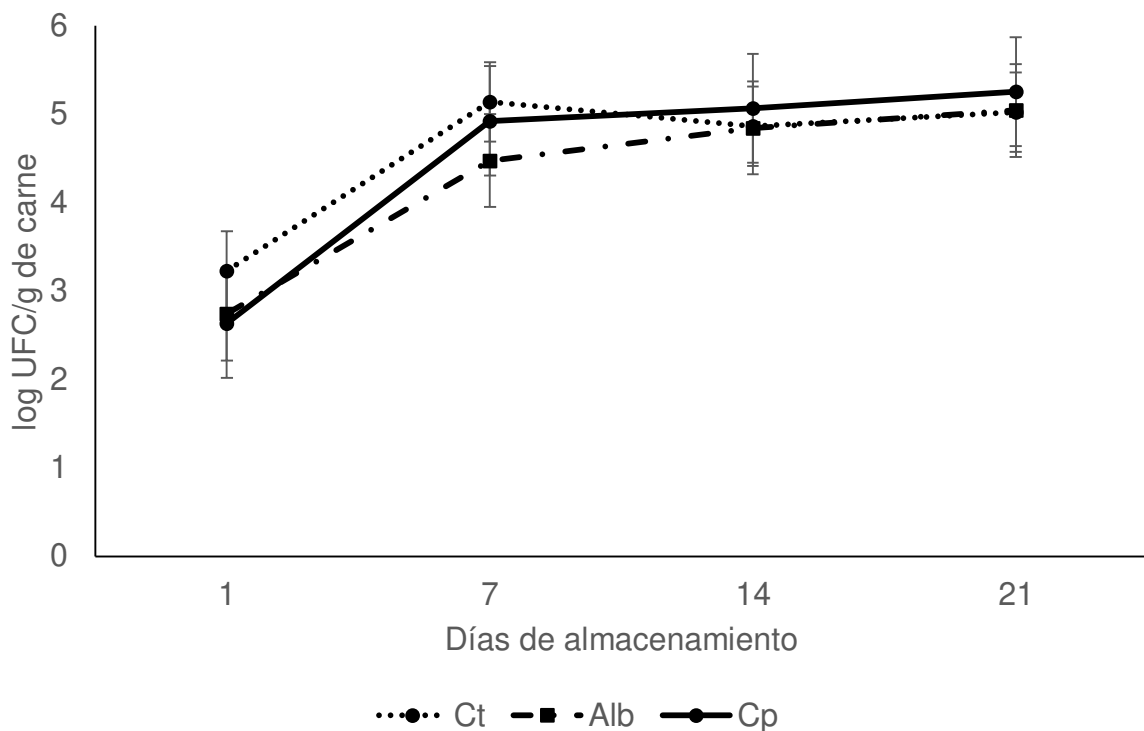
**Figura 7.** Tendencia a amarillo ( $b^*$ ) de la carne de pollo asperjada con los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

**Análisis microbiológico.** El crecimiento de *E. coli* ATCC 10586 (Figura 8) no se vio afectado con los tratamientos que contenían extracto, por lo que se observó un crecimiento similar al tratamiento control ( $p > 0.05$ ). Los tres tratamientos mostraron un incremento en el crecimiento bacteriano del día 1 al día 21 ( $p < 0.05$ ). Esta tendencia fue observada por Radha et al. (2014) al utilizar extracto de *Brassica nigra* contra *Pseudomona spp.* La actividad antimicrobiana en la capuchina está dada por el benzyl isotiocianato, mientras que en la *Brassica nigra* es el allyl isotiocianato. Bazytko et al. (2013) reporta concentraciones de benzyl isotiocianato que varían entre 7.4-277.6  $\mu\text{g/g}$  en 2 g de extracto de capuchina, la variabilidad en la cantidad presente de isotiocianato dependió del tipo de extracto, y el proceso de recolección

y almacenamiento de la planta. Este trabajo no se enfocó en determinar la cantidad de benzyl isotiocianato en el extracto de capuchina, pero es posible que la cantidad presente no haya sido suficiente para que se presentara el efecto antimicrobiano, debido a que se han reportado concentraciones mínimas inhibitorias de 40-600  $\mu\text{g/g}$  para microorganismos Gram positivos, y para Gram negativos las concentraciones van de 80-1200  $\mu\text{g/g}$  de benzyl isotiocianato (Al-ani et al., 2015).

Los principales constituyentes de la albahaca que presentan actividad antimicrobiana son linalool, eugenol, pinenos ( $\alpha$  y  $\beta$ ), estragol y eucalyptol cuya concentración va de 24.70-60.22% de linalool, 0.1-6.20% de eugenol y 0.1-3.99% de  $\alpha$ -pineno en aceite esencial (Baldim et al., 2018; Piras et al., 2018; Ahmed et al., 2019); mientras que en extracto metanólico se ha reportado para linalool 16.69%, estragol 8.66% y eucalyptol 3.63% (Alkuwayti et al., 2019). Estas concentraciones dependerán de la variedad de la planta, la estación en la que sea recolectada, así como la temperatura (Baldim et al., 2018; Piras et al., 2018; Ahmed et al., 2019). Este trabajo no se enfocó en determinar las concentraciones de los componentes mencionados, sin embargo, la actividad antimicrobiana para inhibir el crecimiento microbiano se encuentra en concentraciones mayores a 2640  $\text{mg l}^{-1}$  de extracto metanólico de acuerdo a lo reportado por Alzoreky y Nakahara (2003) por lo que es posible que en la cantidad utilizada de extracto no se encontrará el porcentaje suficiente de los componentes con actividad antimicrobiana.





**Figura 8.** Efecto de los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) sobre el crecimiento de *E. coli* ATCC 10586 inoculada en carne de pollo almacenada a 4°C por 21 días

### 7.5 Evaluación del efecto de la biopelícula adicionada con extractos en características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de la carne

El pH en el día 1 de almacenamiento (Tabla 6) fue el mismo para todas las muestras ( $p > 0.05$ ), sin embargo, a partir del día 7 y hasta el día 21, el pH de las muestras Qt, QtAlb, QtCp se mantuvieron constantes y por debajo del valor de la muestra control ( $p < 0.05$ ). La estabilidad mostrada en el pH puede deberse a que las películas impiden el crecimiento de bacterias por lo que los productos de su metabolismo no se presentan y de esta forma el pH no se ve afectado. Sogut y Seydim (2018) utilizaron quitosano y extracto de uva mientras que Mehdizadeh y Langroodi (2019) aplicaron quitosano con extracto de propóleo y *Zataria multiflora* ambos en muestras de pollo y en ambos casos se reporta un efecto de mantenimiento del pH.

La CRA (Tabla 6) incrementó ( $p < 0.05$ ) del día 1 al 21 para todos los tratamientos, siendo el tratamiento QtAlb el valor más alto al final del almacenamiento. En cuanto a los resultados obtenidos entre tratamientos, Qt, QtCp, QtAlb fueron superiores ( $p < 0.05$ ) al tratamiento Ctr durante todo el tiempo de almacenamiento. La CRA aumentó en el transcurso del almacenamiento debido a que las muestras cubiertas con las películas presentaron resequedad. Esto pudo suceder a causa del contacto directo de las películas con las muestras cárnicas, puesto que presentaron un grado alto de absorción de agua. Por otro lado se ha reportado en otras especies (Merlo et al., 2019) que las películas de quitosano mezclado con pimienta rosa (*Schinus molle* Raddi), disminuyen la CRA, contrario a lo observado en este trabajo.

Los resultados de la prueba de esfuerzo al corte (tabla 6) indican un incremento en la dureza de las muestras durante el almacenamiento ( $p < 0.05$ ) solo para las muestras Ctr, Qt y QtCp. Dado que las muestras cubiertas por las películas presentaron resequedad, durante el proceso de cocción perdieron el agua que quedaba dando como resultado muestras más duras. En otros estudios se ha reportado disminución de la dureza en crustáceos al utilizar quitosano combinado con extracto de cáscara de granada (Yuan et al., 2016).

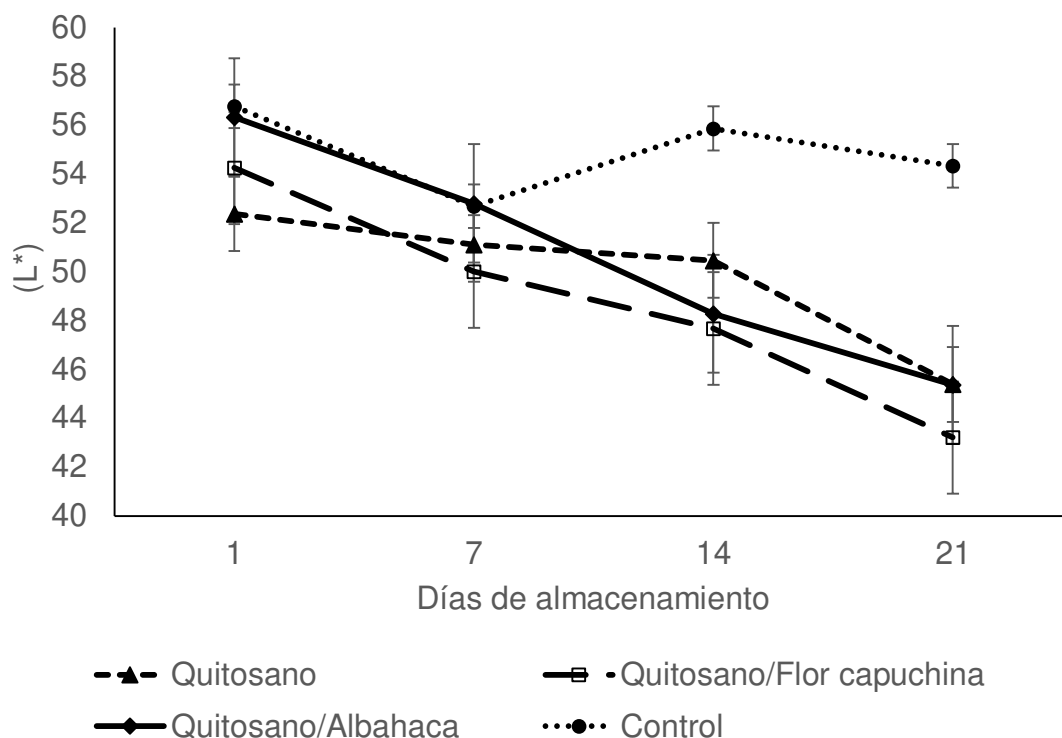
**Tabla 6.** Efecto de las películas de quitosano y quitosano con extractos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) sobre el pH de la carne de pollo almacenada a 4°C por 21 días

	Tiempo de almacenamiento			
	1	7	14	21
pH				
Ctr	6.62 <sub>dx</sub>	7.77 <sub>cx</sub>	8.76 <sub>bx</sub>	9.18 <sub>ax</sub>
Qt	6.70 <sub>ax</sub>	6.81 <sub>ay</sub>	6.75 <sub>ay</sub>	6.49 <sub>by</sub>
QtCp	6.62 <sub>ax</sub>	6.63 <sub>az</sub>	6.70 <sub>ay</sub>	6.72 <sub>ay</sub>
QtAlb	6.77 <sub>ax</sub>	6.74 <sub>ayz</sub>	6.91 <sub>ay</sub>	6.69 <sub>ay</sub>
E.E	0.05	0.04	0.05	0.06
CRA (%)				
Ctr	66.35 <sub>cz</sub>	81.42 <sub>bz</sub>	82.99 <sub>abz</sub>	88.10 <sub>az</sub>
Qt	80.04 <sub>cy</sub>	88.52 <sub>by</sub>	89.12 <sub>ay</sub>	94.79 <sub>axy</sub>
QtCp	86.39 <sub>bx</sub>	89.47 <sub>bx</sub>	93.59 <sub>ax</sub>	94.38 <sub>ay</sub>
QtAlb	82.74 <sub>cxy</sub>	93.31 <sub>bxy</sub>	96.63 <sub>ax</sub>	97.05 <sub>ax</sub>
E.E	1.63	1.08	1.14	0.60
Esfuerzo al corte (kgf)				
Ctr	0.42 <sub>bz</sub>	0.68 <sub>ay</sub>	0.80 <sub>az</sub>	0.81 <sub>ay</sub>
Qt	1.06 <sub>by</sub>	1.12 <sub>bx</sub>	1.30 <sub>bxy</sub>	1.77 <sub>ax</sub>
QtCp	1.10 <sub>by</sub>	1.16 <sub>bx</sub>	1.14 <sub>byz</sub>	2.11 <sub>ax</sub>
QtAlb	1.61 <sub>abx</sub>	1.30 <sub>bx</sub>	1.62 <sub>abx</sub>	1.78 <sub>ax</sub>
E.E.	0.07	0.07	0.11	0.10

Las letras a-d en las filas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre días del mismo tratamiento; las letras x,y,z en las columnas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos.

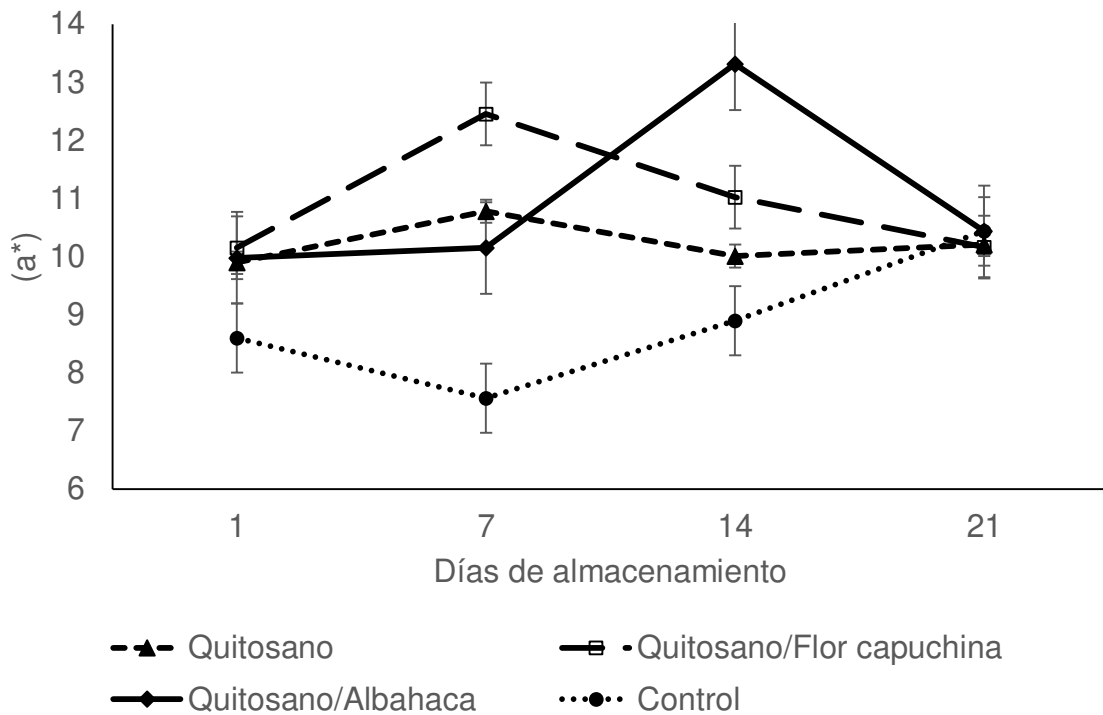
Se observó que la luminosidad de las muestras (figura 9) Qt, QtCp y QtAlb mostraron un comportamiento descendente desde el día 1 hasta el 21 con respecto al Ctr ( $p < 0.05$ ). Esta tendencia coincide con la observada por Sogut y Seydim

(2018) quienes reportan que esta disminución de luminosidad es debido a la transferencia de humedad de la muestra hacia las películas, lo que corresponde con lo observado en este trabajo.



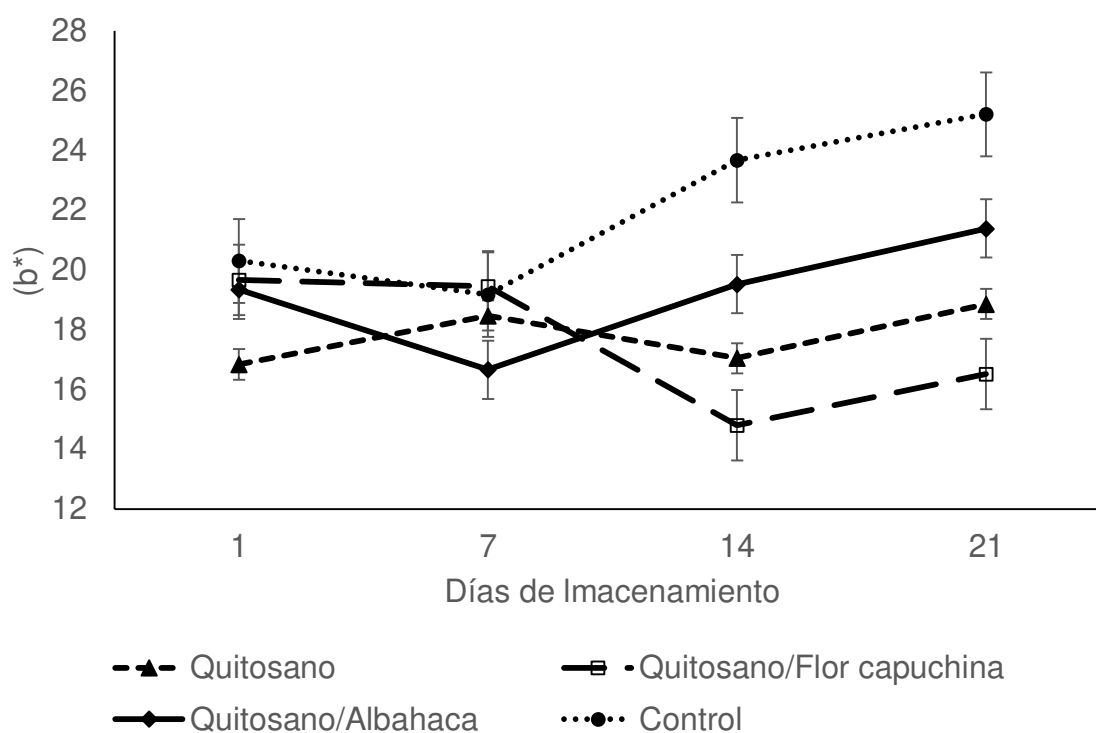
**Figura 9.** Luminosidad ( $L^*$ ) de la carne de pollo cubierta con las películas de quitosano y quitosano adicionadas con extractos de albahaca y capuchina almacenada a 4°C por 21 días

La tendencia a rojo (figura 10) de las muestras Qt, QtCp y QtAlb fue mayor respecto al Ctr hasta el día 14, sin embargo, al final del almacenamiento todas se observaron con valores similares ( $p > 0.05$ ). Los resultados obtenidos por Sogut y Seydim (2018) tuvieron una tendencia de aumento a excepción de la muestra control, lo cual difiere con los resultados aquí presentados, ya que los valores al inicio y final del almacenamiento fueron similares, por lo que las películas estarían actuando como estabilizador del color. Por otro lado Serrano-León et al. (2018) no encontraron diferencias entre las muestras tratamiento y el control.



**Figura 10.** Tendencia a rojo ( $a^*$ ) de la carne de pollo cubierta con las películas de quitosano adicionadas con extractos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

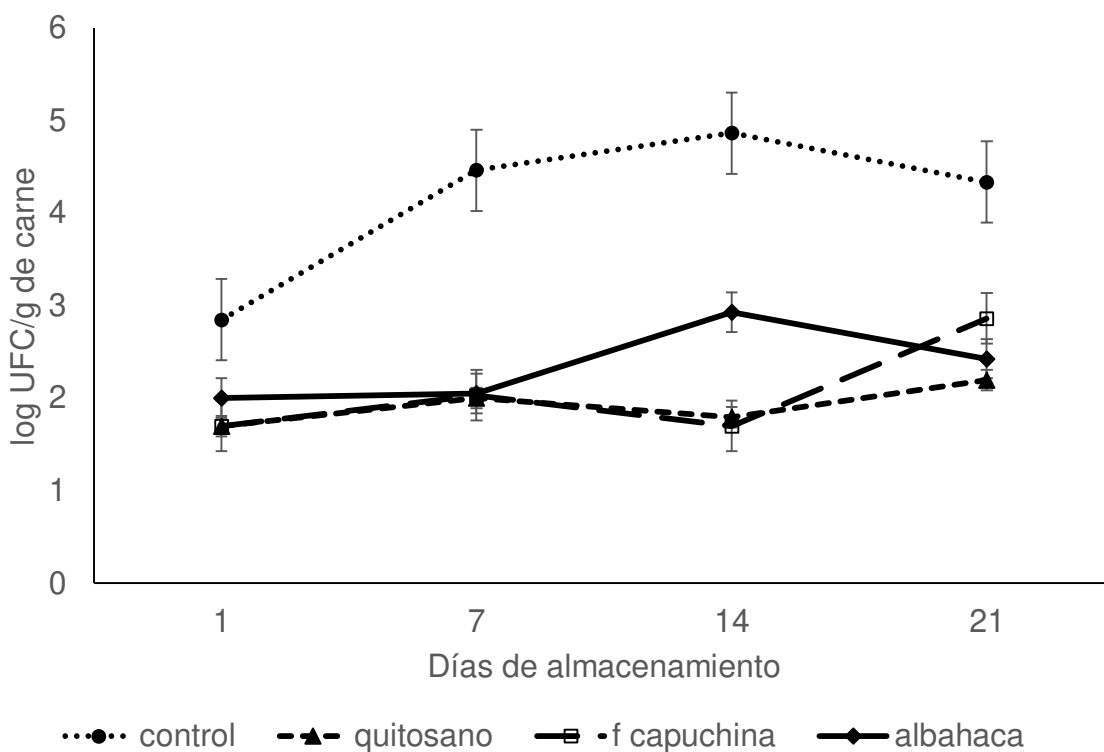
El color amarillo de las muestras (figura 11) del día 1 y 7 de almacenamiento, tuvo un comportamiento similar ( $p > 0.05$ ) manteniéndose dentro del rango de 16 a 19. Del día 14 al 21 todas las muestras presentaron un incremento en el color amarillo, sin embargo, la muestra Ctr fue la muestra más amarilla ( $p < 0.05$ ). El aumento en el valor de  $b^*$  para la muestra control puede deberse al estado de la mioglobina, la cual pudo haber cambiado a metamioglobina, lo que significaría que la adición de las películas estabilizaría el color al prevenir la oxidación de la mioglobina. Sogut y Seydim (2018) observaron el mismo efecto estabilizador por parte de las películas entre el día 9 y 15 de almacenamiento.



**Figura 11.** Tendencia a amarillo ( $b^*$ ) de la carne de pollo cubierta con las películas de quitosano adicionadas con extractos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) almacenada a 4°C por 21 días

**Evaluación microbiológica.** El efecto de las películas de quitosano sobre el crecimiento de *E. coli* ATCC 10586 se presenta en la figura 12. Se observó que durante los 21 días de almacenamiento los tratamientos con películas tuvieron un crecimiento menor respecto al Ctr ( $p < 0.05$ ). Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Shekarforoush et al. (2015) quienes observaron que al aplicar quitosano para inhibir el crecimiento de *E. coli* O157:H7 en muestras de pollo, la tendencia fue inhibitoria durante el tiempo de evaluación, sin embargo, los conteos de log UFC/g se comportaron de forma similar al control lo que contrasta con nuestros resultados; mientras que al combinar el quitosano con el aceite esencial de orégano, este incrementó su actividad inhibitoria respecto al quitosano solo, lo que corresponde a la actividad mostrada por las películas de quitosano

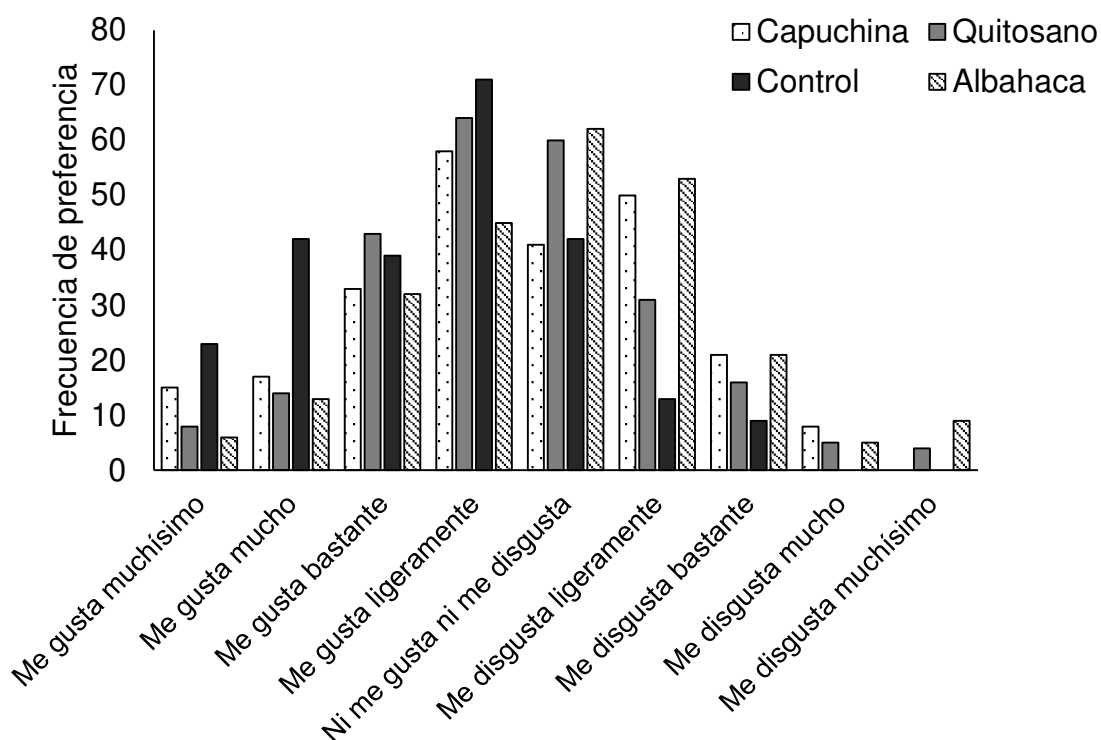
combinado con los extractos. En otros trabajos (Vasilatos y Savvaidis; 2013; Gilani et al., 2015; Mehdizadeh y Langroodi, 2019) se puede observar que el comportamiento inhibitorio se incrementa al utilizar quitosano y quitosano combinado con aceites esenciales y extractos, lo que corrobora el efecto sinérgico de estos compuestos, sin embargo, este efecto depende del tipo de compuesto que se utilice así como de la concentración.



**Figura 12.** Efecto de la película de quitosano y quitosano mezclado con los extractos metanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y capuchina (*Tropaeolum majus*) sobre el crecimiento de *E. coli* ATCC 10586 inoculada en carne de pollo almacenada a 4°C por 21 días

**Evaluación sensorial.** Se pudo apreciar que el nivel de aceptación global (Figura 13) se concentró en dos grados dentro de la escala utilizada, que fueron “Me gusta ligeramente” y “Ni me gusta ni me disgusta”; lo cual indica que para la mayoría de

los consumidores las diferencias que presentaron las muestras en los atributos sensoriales no fueron relevantes para el rechazo del producto. Se ha observado que la adición de películas con extractos cambian las características sensoriales de los productos, sin embargo, no se afectan de forma negativa por lo que no hay rechazo por parte del consumidor (Gilani et al., 2015; Mehdizadeh y Langroodi, 2019).



**Figura 13.** Nivel de aceptación global de las muestras de carne de pollo tratadas con la película de quitosano y quitosano mezclado con los extractos de albahaca y capuchina

Los resultados del análisis sensorial se presentan en la tabla 7. La preferencia de olor fue superior para el Ctr y menor para QtAlb ( $p < 0.05$ ). En cuanto a color y textura el comportamiento fue similar, en ambos casos el Ctr obtuvo un mejor puntaje ( $p < 0.05$ ) que los tratamientos Qt y QtAb. Por último, en sabor, el Ctr fue el que presentó un nivel de agrado mayor ( $p < 0.05$ ) respecto de los tratamientos con películas. En el análisis sensorial realizado por Gilani et al. (2015) observaron que los tratamientos con quitosano y quitosano combinado con jugo de granada y



*Zataria multiflora* tuvieron un nivel de aceptación similar al tratamiento control en los atributos de olor, color y sabor, mientras que en textura la aceptación de los tratamientos fue mejor que el control ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, Mehdizadeh y Langroodi (2019) reportan valores similares entre el tratamiento quitosano y el control ( $p > 0.05$ ) mientras que al añadir extracto de propóleo y *Zataria multiflora*, obtuvieron valores más bajos de aceptación, los cuales se incrementan o disminuyen dependiendo de la concentración utilizada. La albahaca pertenece a la familia de las Lamiaceae, al igual que la *Zataria*, por lo que el comportamiento es similar a lo observado por Gilani et al. (2015) y Mehdizadeh y Langroodi (2019). Mientras que la capuchina presenta características similares a *Brassica nigra* otra especie del orden de las Brassicales, que de acuerdo al análisis sensorial de Radha et al. (2014) los atributos de olor y sabor son similares al control, en este caso la diferencia con el control se presenta principalmente en el sabor.

**Tabla 7.** Resultados de la evaluación sensorial de las muestras de carne de pollo tratadas con la película de quitosano y quitosano mezclado con los extractos de albahaca y capuchina

	Tratamiento				E.E.
	Ctr	Qt	QtCp	QtAlb	
<b>Olor</b>	5.96 <sub>a</sub>	5.39 <sub>ab</sub>	5.29 <sub>ab</sub>	4.86 <sub>b</sub>	0.19
<b>Color</b>	6.14 <sub>a</sub>	5.31 <sub>b</sub>	5.45 <sub>ab</sub>	5.22 <sub>b</sub>	0.19
<b>Sabor</b>	6.50 <sub>a</sub>	5.57 <sub>b</sub>	5.13 <sub>b</sub>	5.01 <sub>b</sub>	0.22
<b>Textura</b>	6.77 <sub>a</sub>	5.80 <sub>b</sub>	6.08 <sub>ab</sub>	5.34 <sub>b</sub>	0.22

Las letras a y b en las columnas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos

## 8. Conclusiones

Se obtuvo un mayor rendimiento, una mayor cantidad de polifenoles y una mayor actividad antioxidante en el extracto de capuchina. La evaluación *in vitro* indicó que los extractos no presentaron actividad antimicrobiana contra las cepas utilizadas.

Las películas obtenidas presentan una distribución uniforme de componentes. La adición de extractos no afecta el grosor, la flexibilidad, y la solubilidad de las películas, sin embargo, disminuyen la resistencia a la tensión y la elasticidad. También se disminuyó la permeabilidad al vapor de agua, y el contenido de agua al añadir extractos. La película QtCp tuvo menor porcentaje de absorción de agua y mayor coloración.

Al aplicar los extractos sobre la carne, no se observaron efectos favorables debido a que no cambió el comportamiento del pH. Se encontró también que los extractos hicieron la carne más dura, debido a un efecto de resequedad en las muestras. Al analizar el color, se encontró que los extractos mostraron una tendencia de aumento en la luminosidad, la tendencia a rojo y la tendencia a amarillo de las muestras. No se apreció efecto favorable de los extractos en el crecimiento microbiano.

Las películas mostraron cambios favorables en la estabilidad del pH, y la tendencia a rojo y tendencia a amarillo, además se observó que son eficaces para controlar el crecimiento microbiano, y presentan un nivel de aceptación también favorable en el análisis sensorial. Los cambios desfavorables se observaron en CRA, esfuerzo al corte y luminosidad, ya que la carne se observó reseca, dura y más oscura con las películas.

Utilizar las películas como recubrimiento de productos cárnicos, podría ser favorable debido a que conservan la mayoría de las características de interés, sin embargo, se buscaría reducir la interacción de las películas con el agua de las muestras para evitar la resequedad. Debido a que la película con extracto de capuchina obtuvo valores de preferencia similares al control, se recomendaría utilizar este tratamiento.

## 9. Literatura citada

- Abdallah, M.R.S., Mohmaed, M.A., Mohamed, H.M.H., Emara, M.M.T. (2017). Improving the sensory, physicochemical and microbiological quality of pastirma (A traditional dry cured meat product) using chitosan coating. *LWT-Food Science and Technology*, 86, 247-253
- Abdelghany, A.M., Menazea, A.A., Ismail, A.M. (2019). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of Chitosan/Polyvinyl Alcohol blend doped with *Hibiscus Sabdariffa* L. extract. *Journal of Molecular Structure*, 1197, 603-609
- Abraham, A., Soloman, P.A., Rejini, V.O. (2016). Preparation of Chitosan-Polyvinyl Alcohol Blends and Studies on Thermal and Mechanical Properties. *Procedia Technology*, 24, 741-748
- Ahmed, A.F., Attia, F.A.K., Liu, Z., Li, C., Wei, J., Kang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, 8, 299-305
- Al-Ani, I., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M. (2015). Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomedicine*, 22, 245-255
- Alhakmani, F., Kumar, S., KKhan, S.A. (2013). Estimation of total phenolic content, *in-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 625-627
- Alkuwayti, M.A., El-Sherif, F., Yap, Y.K., Khattab, S. (2019). Foliar application of *Moringa oleifera* leaves extract altered stress-responsive gene expression and enhanced bioactive compounds composition in *Ocimum basilicum*. *South Africa Journal of Botany*, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.001>
- Alnoman M., Udompijiktul P., Sarker M.R. (2017). Chitosan inhibits enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A in growth medium and chicken meat. *Food Microbiology*, 64, 15-22

Alzoreky, N.S., Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 223-230

ASTM (2002). *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

Bajić, M., Ročnik, T., Oberlintner, A., Scognamiglio, F., Novak, U., Likozar, B. (2019). Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100365

Balhim, J.L., Silveira, J.G.F., Almeida, A.P., Carvalho, P.L.N., Rosa, W., Schripsema, J., Chagas-Paula, D.A., Soares, M.G., Luiz, J.H.H. (2018). The synergistic effects of volatile constituents of *Ocimum basilicum* against foodborne pathogens. *Industrial Crops & Products*, 112, 821-829

Bazyłko A., Granica S., Filipek A., Piwowarski J., Stefańska J., Osińska E., Kiss A. (2013). Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. *Industrial Crops and Products*, 50, 88-94

Benvenuti, S., Bortolotti, E., Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, 199, 170-177

Bhuvaneshwari K., Gokulanathan A., Jayanthi M., Govindasamy V., Milella L., Lee S., Yang D. C., Girija S. (2016). Can *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L. in vitro culture be a potential source of secondary metabolites? *Food Chemistry*, 194, 55-60

Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H.M.N., Hu, H., Wang, W., Zhang, X. (2017). Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 554-574

Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., Kenny, J.M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463-470

Brewer, S. (2004). Irradiation effects on meat color-a review. *Meat Science*, 68, 1-17

Butnariu, M., Bostan, C. (2011). Antimicrobial and anti-inflammatory activities of the volatile oil compounds from *Tropaeolum majus* L. (Nasturtium). *African Journal of Biotechnology*, 10, 5900-5909

Carvalho M.S.S., Cardoso M.G., Resende L.V., Gomes M.S., Albuquerque L.R.M., Gomes A.C.S., Sales T.A., Camargo K.C., Nelson D.L., Costa G.M., Espósito M.A., Silva L.F.L. (2015). Phytochemical screening, extraction of essential oils and antioxidant activity of five species of unconventional vegetables. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 2632-2639

Carvalho, R.H., Ida, E.I., Madruga, M.S., Martínez, S. L., Shimokomaki, M., Estévez, M. (2017). Underlying connections between the redox system imbalance, protein oxidation and impaired quality traits in pale, soft and exudative (PSE) poultry meat. *Food Chemistry*, 215, 129-137

Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G.J., Villani, F., Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology*, 45, 83-102

Cazón, P., Velazquez G., Ramírez, J. A., Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136-148

Chang, W., Liu, F., Rizwan, H., Huang, Z., Douglas H., Zhong, F. (2019). Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. *Food Hydrocolloids*, 90, 50–61

CLSI, Handbook for Developing a Laboratory Quality Manual, 1st ed. CLSI product QMS25, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017

- DannenberG G.S., Funck G.D., Mattei F.J., Silva W.P., Fiorentini Â. M. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 120-127
- Davidson P.M., Cekmer H.B., Monu E.A., Techathuvanan C. (2015). *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, University of Tennessee, Knoxville, TN, USA, 1-27
- Doulgeraki, A.I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G.J.E. (2012). Spillage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 130-141
- Dufour V., Stahl M., Baysse C. (2015). The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology*, 161, 229-243
- Elsabee, M.Z., Abdou, E.S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering C*, 33, 1819-1841
- FAO. 2019. *The State of Food and Agriculture 2019. Moving forward on food loss and waste reduction*. Rome.
- Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J.A., Saraiva, J.A., Ramalhosa, E. (2017). Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 38-50
- Font-i-Furnols, M., Guerrero, L. (2014). Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*, 98, 361-371
- Garzón, G.A., Wrolstad, R.E. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity of *Nasturtium* flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chemistry*, 114, 44-49
- Gilani, B.B., Aliakbarlu, J., Tajik H. (2015). Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil in the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 280-287

- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B., Givskov, M. (2002). Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 79-97
- Gutiérrez-del Río, I., Fernández, J., Lombó, F. (2018). Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52, 309-315
- Gyawali R., Hayek S.A., Ibrahim S.A. (2015). *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, University of Tennessee, Knoxville, TN, USA, 1-27
- Gyawali, R., Ibrahim, S.A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429
- Höll, L., Behr, J., Vogel, R.F. (2016). Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*, 60, 84-91
- Hoque, Md. S., Benjakul, S., Prodpran T. (2011). Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloids*, 25, 1085-1097
- Hosseinnejad, M., Jafari, S.M. (2016). Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 467-475
- Huang, S., Liu, B., Ge, D., Dai, J. (2017). Effect of combined treatment with supercritical CO<sub>2</sub> and rosemary on microbiological and physicochemical properties of ground pork stored at 4°C. *Meat Science*, 125, 114-120
- Hughes, J.M., Oiseth, S.K., Purslow, P.P., Warner, R.D. (2014). A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Science*, 98, 520-532
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H., Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108, 986-995

Hwang, K.E., Choi, Y.S., Choi, S.M., Kim, H.W., Choi, J.H., Lee, M.A., Kim, C.J. (2013). Antioxidant action of *ganghwayakssuk* (*Artemisia princeps* Pamp.) in combination with ascorbic acid to increase the shelf life in raw and deep fried chicken nuggets. *Meat Science*, 95, 593-602

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2011). Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne. Folleto Técnico No. 11. Primera Edición

Jin, S.K., Ha, S.R., Choi, J.S. (2015). Effect of *Caesalpinia sappan* L., extract on physico-chemical properties of emulsion-type pork sausage during cold storage. *Meat Science*, 110, 245-252

Jung E., Joo N. (2013). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and soybean oil effects on quality characteristics of pork patties studied by response surface methodology. *Meat Science*, 94, 391-401

Kaiser, S.J., Mutters, N.T., Blessing, B., Günther, F. (2017). Natural isothiocyanates express antimicrobial activity against developing and mature biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Fitoterapia*, 119, 57-63

Kanatt, S.R., Rao, M.S., Chawla, S.P., Sharma, A. (2012). Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29, 290-297

Karaca, H., Newman, M.C. (2015). Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia Coli*. *Food Bioscience*, 2, 8-16

Khaliq, T., Waseem, M.A., Lone, A.M., Hassan, Q.P. (2018). *Oscimum sanctum* extract inhibits growth of Gram positive and Gram negative bacterial strains. *Microbial Pathogenesis*, 118, 211-213

Khan I., Ahmad K., Khalil A.T., Khan J., Khan Y.A., Saqib M.S., Umar M.N., Ahmad H. (2015). Evaluation of antileishmanial, antibacterial and brine shrimp cytotoxic potential of crude methanolic extract of Herb *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 35, 316-322

Koike, A., Barreira, J.C.M., Barros, L., Santos-Buelga, C., Villavicencio, A.L.C.H. Ferreira, I.C.F.R. (2015). Irradiation as a novel approach to improve quality of



*Tropaeolum majus* L flowers: Benefits in phenolic profiles and antioxidant activity. *Innovative Food science and Emerging Technologies*, 30, 138-144

Kumar, Y., Yadav, D.N., Ahmad, T., Narsaiah, K. (2015). Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14

Li, J., Feng, J., Ma, L., Núñez, C.F., Götz, G., Lu, X. (2017). Effects of meat juice on biofilm formation of *Campylobacter* and *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*, 253, 20-28

Lorenzo, M.J., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F.J., Putnik, P., Kovačević, D.B., Shpigelman, A., Granato, D., Franco, D. (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095-1104

Ma, Z., Garrido-Maestu, A., Jeong, K.C. (2017). Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydrate Polymers*, 176, 257-265

Mancini S., Paci G., Fratini F., Torraca B., Nuvoloni R., Dal Bosco A., Roscini V., Preziuso G. (2017). Improving pork burgers quality using *Zingiber officinale* Roscoe powder (ginger). *Meat Science*, 129, 161-168

McMillin, K.W. (2017). Advancements in meat packaging. *Meat Science*, 132, 153-162

Mehdizadeh, T., Langroodi, A.M. (2019). Chitosan coatings incorporated with propolis extract and *Zataria multiflora* Boiss oil for active packaging of chicken breast meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 401-409

Merino, L., *Food Research International* (2017), <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.024>

Merlo, T.C., Contreras-Castillo, C.J., Saldaña, E., Barancelli, G.V., Dargelio, M.D.B., Yoshida, C.M.P., Junior, E.E.R., Massarioli, A., Venturini, A.C. (2019). Incorporation of pink pepper residue extract into chitosan film combined with a modified

atmosphere packaging: Effects on the shelf life of salmon fillets. *Food Research International*, 125, 108633

Mhalla D., Bouaziz A., Ennouri K., Chawech R., Smaoui S., Jarraya R., Tounsi S., Trigui M. (2017). Antimicrobial activity and bioguided fractionation of *Rumex tingitanus* extracts for meat preservation. *Meat Science*, 125, 22-29

Mir, N.A., Rafiq, A., Kumar, F., Singh, V., Shukla, V. (2017). Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. *Journal Food Science and Technology*, 54, 2997-3009

Mostafa, A.A., Al-Askar, A.A., Almaary, K.S., Dawoud, T.M., Sholkamy, E. N., Bakri, M.M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 361-366

Mujtaba, M., Morsi, R.E., Kerch, G., Elsabee, M.Z., Kaya, M., Labidi, J., Khawar, K.M. (2019). Current advances in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889-904

Noreen, H., Semmar, N., Farman, M., McCullagh, J.S.O. (2017). Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10, 792-801

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparación y dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. *Diario Oficial de la Federación*, 10 de mayo de 1995, México

OECD. OECD-FAO agricultural Outlook: Meat consumption (2019). Disponible en: <https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>

OMS Organización Mundial de la Salud (2015) WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne diseases. Recuperado de: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf?ua=1)

ÖzünlÜ, O., Ergezer, H., Gökçe, R. (2018). Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using acorn extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 98, 477-484

Papu, C., Goran, G.V., Predescu, C.N., Nicorescu, V., Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive reviews in food Science and Food Safety*, 16, doi: 10.1111/1541-4337.12298

Perinelli, D.R., Fagioli, L., Campana, R., Lam, J.K.W., Baffone, W., Palmieri, G.F., Casettari, L., Bonacucina, G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 117, 8-20

Pinilla C.M.B., Brandelli A. (2016). Antimicrobial activity of nanoliposomes co-encapsulating nisin and garlic extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria in milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 287-293

Piras, A., Gonçalves, M.J., Alves, J., Falconieri, D., Porcedda, S., Maxia, A., Salgueiro, L. (2018). *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum basilicum* L., two species of Lamiaceae family with bioactive essential oils. *Industrial Crops & Products*, 113, 89-97

Pisoschi, A.M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N.K., Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922-935

Priyadarshi, R., Sauraj, Kumar, B., Deebe, F., Kulshreshtha, A., Negi, Y.S. (2018). Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. *Food Hydrocolloids*, 85, 158-166

Radha K., Babuskin S., Babu P.A.S., Sasikala M., Sabina K., Archana G., Sirvajan M., Sukumar M. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 32-40

Rambabu, K., Bharath, G., Banat, F., Show, P.L., Cocolletzi, H.H. (2019). Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 1234-1243

- Schumann, B., Schmid, M. (2018). Packaging concepts for fresh and processed meat-Recent progresses. *Inovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 88-100
- Serrano-León, J.S., Bergamaschi, K.B., Yoshida, C.M.P., Saldaña, E., Selani, M.M., Rios-Mera, J.D., Alencar, S.M., Contreras-Castillo, C.J. (2018). Chitosan active films containing agro-industrial residue extracts for shelf life extension of chicken restructures product. *Food Research International*, 108, 93-100
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R.C., Cardoso-Taketa, A., Villarreal, M.L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 264-329
- Shekarforoush, S.S., Basiri, S., Ebrahimnejad, H., Hosseinzadeh, S. (2015). Effect of chitosan on spoilage bacteria, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in cured chicken meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 303-309
- Shin, J., Prabhakaran, V.S., Kim, K. (2018). The multi-faceted potential of plant-derived metabolites as antimicrobial agents against multidrug-resistant pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 116, 209-214
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2019). Cierre de la producción pecuaria por estado. Disponible en: [http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario\\_siapx\\_gobmx/indexnal.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siapx_gobmx/indexnal.jsp)
- Sogut, E., Seydim, A.C. (2018). The effects of Chitosan and grape seed extract-based edible films on the quality of vacuum packaged chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 13-20
- Souza, V.G.L., Fernando, A.L., Pires, J.R.A., Rodrigues, P.F., Lopes, A.A.S., Fernandes, F.M.B. (2017). Physic properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops & Products*, 107, 565-572
- Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jokačević, M., Ivić, M., Šojić, B. Škaljac, S., Stojanović, P., Mihajilov-Krstev, T. (2018). Inhibition of *Salmonella*

Enteritidis growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, 90, 332-343

Sulastri, E., Zubair, M.S., Anas, N.I., Abidin, S., Hardani, R., Yulianti, R. (2018). Total Phenolic, Total Flavonoid, Quercetin Content and Antioxidant Activity of Standardized Extract of *Moringa oleifera* Leaf from Regions with Different Elevation. *Pharmacogn Journal*, 10, 104-108

Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13, 215-225

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199-1218

Teofilović, B., Grujić-Letić, N., Goločorbin-Kon, S., Stojanović, S., Vastag, G., Gadžurić, S. (2017). Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 100, 176-182

Thanyacharoen, T., Chuysinuan, P., Techasakul, S., Noeaid, P., Ummartyotin, S. (2018). Development of gallic acid-loaded chitosan and polyvinyl alcohol hydrogel composite: Release characteristics and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 363-370

Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y.S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99, 835-841

Vasilatos, G.C., Savvaidis, L.N. (2013). Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 54-58

Wang, L., Guo, H., Wang, J., Jiang, G., Du, F., Liu, X. (2019). Effects of *Herba Lophateri* extract on the physicochemical properties and biological activities of the chitosan film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 51-57

- Wright, M.H., Shalom, J., Matthews, B., Greene, A.C., Cock, I.E. (2019). *Terminalia ferdinandiana* Exell: Extracts inhibit *Shewanella* spp. Growth and prevent fish spoilage. *Food Microbiology*, 78, 114-122
- Yang, S., Park, S.Y., Ha, S.D. (2016). A predictive growth model of *Aeromonas hydrophila* on chicken breasts under various storage temperatures. *LWT-Food science and Technology*, 69, 98-103
- Yong, H., Wang, X., Zhang, X., Liu, Y., Qin, Y., Liu, J. (2019). Effects of anthocyanin-rich purple and black eggplant extracts on the physical, antioxidant and pH-sensitive properties of chitosan film. *Food Hydrocolloids*, 94, 93-104
- Yuan, G., Chen, X., Li, D. (2016). Chitosan films and coating essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*, 89, 117-128
- Yuan, W., Yuk, H.G. (2018). Antimicrobial efficacy of *Syzygium antisepticum* plant extract against *Staphylococcus aureus* and methicilin-resistant *S. aureus* and its application potential with cooked chicken. *Food Microbiology*, 72, 176-184
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M.H., Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198-202
- Zhang, H., Wu, J., Guo, X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness*, 5, 39–48
- Zhou, G.H., Xu, X.L., Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat-A review. *Meat Science*, 86, 119-128
- Zhuang, C., Jiang, Y., Zhong, Y., Zhao, y., Deng, Y., Yue, J., Wang, D., Jiao, S., Gao, H., Chen, H., Mu, h. (2018). Development and characterization of nano-bilayer films composed of polyvinyl alcohol, chitosan and alginate. *Food Control*, 86, 191-199
- Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., Świeca, M. (2015). The effect of different solvents and number of extractions steps on the polyphenol content and antioxidant

capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. Saudi Journal of Biological Sciences, 23, 628-633