

POTENCIALIDADES DE LA QUITOSANA COMO AGENTE ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Mario A. García

*Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Calle 222 No. 2317, La Habana,
Cuba. CP 13600.*

E-mail: marioifal@gmail.com

RESUMEN

Actualmente la quitosana recibe la atención de investigadores de los sectores farmacéutico y alimentario debido a sus propiedades y fácil obtención. Al ser un polisacárido catiónico posee propiedades únicas con relación al resto de los polisacáridos, que generalmente son neutros o negativamente cargados. En este sentido, se analizan algunos aspectos sobre las aplicaciones de este biopolímero como agente antioxidante y antimicrobiano en la industria alimentaria.

Palabras clave: Quitosana, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana, películas, coberturas.

ABSTRACT

Chitosan potentiality as antioxidant and antimicrobial agent in food industry

Currently chitosan receives the attention of researchers of pharmaceutical and food sectors because of its properties and easy obtaining. Due to chitosan is a cationic polysaccharide, it has unique properties with regard to the remainder of the polysaccharides that are generally neutral or negatively loaded. In this sense, some aspects on the applications of this biopolymer as antioxidant and antimicrobial agent in food industry are analyzed.

Keywords: Chitosan, antioxidant activity, antimicrobial activity, films, coatings.

INTRODUCCIÓN

Varios productos alimenticios contienen compuestos naturales con actividad antioxidante y antimicrobiana que contribuyen a su estabilidad. Muchos de estos compuestos naturales han sido estudiados por su viabilidad como aditivos alimentarios directos, lo cual incluye su aislamiento, purificación, estabilización e incorporación a los alimentos, sin que ello afecte negativamente sus características sensoriales, nutritivas e inocuidad (1). En este contexto, las películas y disoluciones de quitosana han demostrado potencialidades en la conservación de alimentos.

Debido a sus propiedades, la quitosana ha sido evaluada en diversas aplicaciones en las industrias farmacéutica y alimentaria. Por sus propiedades para unirse a metales (2) y proteínas (3) y formadoras de películas (4), su capacidad antioxidante (5-7) y antimicrobiana (8-11) es a menudo controversial, de ahí que el mecanismo de su acción sea aún discutible (12).

Mario A. García Pérez: Licenciado en Ciencias Alimentarias (2006). Master en Ciencia y Tecnología de Alimentos (2009). Se desempeña como profesor de Principios de Ingeniería de Alimentos, Conservación de Alimentos y Ciencia y Tecnología de Frutas y Hortalizas en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana. Su área de investigación está relacionada con el empleo de polímeros naturales en la industria alimentaria.

Considerando estos resultados, en el presente trabajo se analizan algunos aspectos sobre las aplicaciones de la quitosana como agente antioxidante y antimicrobiano en la industria alimentaria.

Generalidades sobre quitina y quitosana

La quitina (Fig. 1a) es un biopolímero lineal con largas cadenas constituidas por moléculas de azúcar entrelazadas entre sí (13), que forman una sustancia semitransparente que se encuentra naturalmente en los exoesqueletos de los crustáceos y zooplancton marino, incluyendo los corales y medusas. Algunos insectos como las mariposas y caballitos del diablo tienen quitina en sus alas; la pared celular de las levaduras, hongos y otros mohos también contienen esta sustancia (14). Su nombre sistemático es poli- $[\beta(1-4)\text{-}2\text{-acetamida-}2\text{-desoxi-D-glucopiranos}]$ (15). Es altamente insoluble en agua, propiedad esta que limita sus aplicaciones.

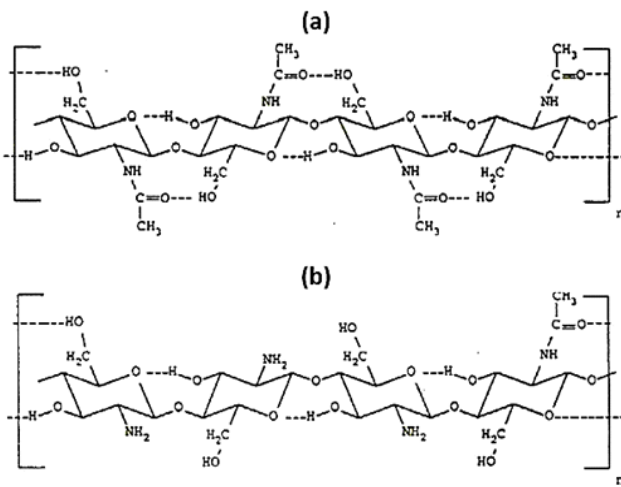


Fig. 1. Unidad repetitiva de (a) quitina y (b) quitosana.

Por otro lado, la quitosana está compuesta por moléculas de 2-dioxi-2-acetoamido- α -D-glucosa (16) (Fig. 1b) y posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad que la quitina. Se obtiene al sustituir los grupos acetamido por grupos amino, al tratar la quitina con una disolución concentrada de hidróxido de sodio o potasio en caliente (17), que provoca la hidrólisis del enlace N-acetil. Se ha descrito como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de alta masa molecular y ambientalmente amigable. Su grado de desacetilación y largo de la cadena son afectados por la temperatura, concentración y duración del proceso (18).

La quitosana es insoluble en agua, álcalis y disolventes orgánicos, aunque es soluble en disoluciones diluidas de ácidos orgánicos y minerales a excepción del ácido sulfúrico (19). La presencia de grupos amino a lo largo de la cadena de quitosana permite su disolución, por medio de la protonación de esos grupos. Al adquirir la amina carga positiva, la quitosana aumenta su capacidad hidrofílica y forma sales, ya que el pKa del grupo amino de la quitosana es 6,5 (20).

La quitosana es utilizada debido a sus propiedades para formar películas, de buena biocompatibilidad, biodegradabilidad y bajo costo (21). A estas características se suma su inocuidad ($DL_{50}=16$ g/kg) (22) y ser un recurso renovable. La calidad de la quitosana generalmente está definida por su masa molecular (17) y grado de desacetilación (23).

Capacidad antioxidante de la quitosana

Mientras que algunos estudios *in vitro* indican una considerable capacidad antioxidante de la quitosana (24-26), muchos han mostrado claramente, una baja o ninguna capacidad antioxidante, aunque su actividad se incrementa con modificaciones químicas apropiadas (27-30).

Cuando la quitosana se usa como aditivo alimentario, su capacidad antioxidante generalmente es atribuida a su eficiencia de quelación (2,31) debido a que la unión a iones metálicos previene la iniciación de la oxidación lipídica, actuando como un antioxidante secundario. Las películas y coberturas de quitosana reducen la velocidad de oxidación de alimentos envasados simplemente previniendo su contacto con el aire (32), debido a su baja permeabilidad al oxígeno (0,08 a 31,07 $\text{cm}^3/\text{m}^2 \text{ d atm}$) (33).

Los antioxidantes primarios son eficientes en la inhibición de las reacciones de oxidación donando un electrón o un átomo de hidrógeno a los radicales libres, convirtiéndolos en radicales intermediarios estables y previniendo entonces las reacciones mediadas por radicales libres (34). En disoluciones, los grupos $-\text{NH}_2$ de la quitosana están en su mayoría protonados con la imposibilidad de donar electrones. Además, la quitosana carece de un átomo de hidrógeno que pueda ser fácilmente donado para servir como un buen antioxidante (12).

En contraste se ha informado que uno de los mecanismos por el cual la quitosana ejerce su acción secuestradora de radicales libres está relacionado con el hecho de que estos pueden reaccionar con los grupos $-NH_2$ libres residuales para formar moléculas estables y los grupos $-NH_2$ pueden formar grupos amonio (NH_3^+) al captar un ion hidronio de la disolución (26).

En este sentido, varios investigadores han reportado la capacidad antioxidante de derivados de quitosana. Por ejemplo, se demostró que la hexanoil quitosana y N-benzoilhexanoil quitosana pueden capturar radicales peróxidos en un disolvente orgánico cuando el 2,20-azobis (2,4-dimetilvaleronitrilo) inicia la reacción en cadena de radicales (28). En otro trabajo (35) se informó que derivados de quitosana obtenidos por la acilación de la quitosana usando ácido anhídrido inhibió la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Asimismo, se ha demostrado la capacidad antioxidante de otros derivados de quitosana (36).

Las actividades biológicas de la quitosana de baja masa molecular varían marcadamente de una a otra. Por ejemplo, se ha reportado que la actividad secuestradora de quitosana de baja masa molecular sobre radicales superóxido fue más pronunciada que para la de alta masa molecular (37). También se indicó que la quitosana de baja masa molecular puede secuestrar radicales superóxido (38). En otro estudio (39) se determinaron los efectos de la masa molecular y grado de sustitución de polisacáridos sulfatados sobre su capacidad antioxidante. La quitosana sulfatada de baja masa molecular presentó mayor capacidad de secuestro de radicales superóxido/hidroxilo que la de alta masa molecular. Sin embargo, pocos intentos se han hecho para evaluar la capacidad antioxidante de la quitosana en alimentos (40-42), así como la influencia de su masa molecular en esta actividad biológica.

Entre otros factores que influyen en la capacidad antioxidante de DFC de quitosana se encuentran la fuente y proceso para su obtención, los que influyen en las propiedades de películas y DFC, lo que a menudo hace difícil establecer comparaciones entre los resultados de diferentes autores. El proceso de desacetilación incluye la eliminación de los grupos acetilos de la molécula de quitina, dejando un grupo amino ($-NH_2$). La versatilidad de la quitosana depende fundamentalmente del alto grado de reactividad química de los grupos $-NH_2$ (43).

Esto hace del grado de desacetilación una propiedad importante en la producción de quitosana debido a que este afecta sus propiedades físico-químicas y determina sus aplicaciones (44). Otra característica importante de este polímero es su masa molecular. Como su composición, la masa molecular de la quitosana varía con la fuente y método de preparación (45).

Las propiedades antioxidantes de la quitosana y sus derivados obtenidos a partir de diferentes fuentes como exoesqueletos de camarón y cangrejos, así como de origen fúngico, han sido investigadas (25, 28, 36, 39). Sin embargo, solo se encontró un reporte (46) sobre las propiedades antioxidantes de quitosana obtenida a partir de exoesqueletos de langosta común (*Panulirus argus*), que en Cuba constituyen la fuente principal para la obtención de este biopolímero.

Entre los métodos para estimar *in vitro* la capacidad antioxidante de la quitosana y sus derivados se incluyen como los más utilizados, aquellos que se basan en la capacidad de secuestro de radicales como superóxido, hidroxilo, ABTS y DPPH (40). Otros métodos empleados se basan en su poder reductor (47) y capacidad quelante de iones metálicos (36, 48).

La aplicación de la quitosana como antioxidante ha demostrado la capacidad que tiene este polímero de interactuar con los radicales libres mediante reacciones iónicas con los grupos $-NH_2$ de su estructura química. Muchas investigaciones *in vitro* demostraron que la actividad antioxidante de la quitosana fue dependiente de su masa molecular (40, 47, 49); así, con menor masa molecular se logra tener una capacidad antioxidante mayor.

Los diferentes ensayos para estimar la capacidad antioxidante solo permiten examinar la posibilidad de que un compuesto determinado pudiera actuar como antioxidante en una o varias formas *in vivo* o en una matriz alimenticia. Alternativamente, estos ensayos pueden mostrar que una acción antioxidante es viable cuando el compuesto muestra una acción protectora *in vitro* a concentraciones dentro del intervalo en que pudiera presentarse en alimentos o *in vivo*. Sin embargo, incluso un excelente antioxidante *in vitro* no necesariamente funcionará *in vivo* o en un alimento, debido por ejemplo, a que no sea absorbido, no alcance el sitio de acción correcto o sea rápidamente metabolizado a productos

inactivos (50). De ahí que sea necesario evaluar el efecto de las películas y coberturas de quitosana como método de envasado activo en la inhibición de la oxidación lipídica de alimentos durante su almacenamiento.

Aplicaciones de la quitosana como antioxidante

Muchos investigadores combinan la quitosana con extractos y aceites esenciales derivados de productos naturales para potenciar su efecto antioxidante en determinadas aplicaciones (51). A continuación se señalan algunos ejemplos del empleo de este polímero como antioxidante en la conservación de alimentos (Tabla 1).

El uso de hasta 1 g.L⁻¹ de quitosana redujo las reacciones de oxidación en un jugo de naranja durante su almacenamiento, mientras que concentraciones mayores afectaron su sabor (41). También se reportó el efecto antioxidante de quitosanas con diferentes masas moleculares en jugo de manzana (42).

El empleo de películas quitosana y ácido gálico para el envasado de cacahuets durante 15 semanas a 50 °C inhibió la oxidación lipídica, contrariamente a lo obtenido con las bolsas de polietileno. Estas películas también se utilizaron en el envasado de papas fritas para reducir la oxidación de los lípidos durante 8 semanas a 50 °C con relación a la utilización de bolsas Ziploc (52).

El empleo de una película de quitosana en hamburguesas de cerdo incrementó la estabilidad de la metamioglobina y por ende, del aspecto de este producto (53). Por otra parte, la adición de quitosana, extracto de romero y α -tocoferol, a hamburguesas de res almacenadas a -18 °C durante 180 días redujo la oxida-

ción lipídica. La quitosana presentó el mejor efecto antioxidante, mientras que la mejor combinación fue la quitosana con extracto de romero (32). También la utilización de películas de quitosana en embutidos curados redujo los cambios oxidativos y contribuyó a mantener el olor y sabor característicos de los productos durante cinco meses (54).

Actividad antimicrobiana de la quitosana

Las variaciones en la actividad antimicrobiana de la quitosana surgen de diversos factores (55) que se pueden clasificar en factores microbianos (tipo de microorganismo y edad celular); factores intrínsecos de la quitosana (fuente, densidad de carga positiva, masa molecular, concentración, balance hidrofílico/hidrofóbico y capacidad quelante); estado físico (líquido o sólido) y factores ambientales (fuerza iónica en el medio, pH, temperatura, entre otros).

En este sentido, se informó que el efecto inhibitorio de la quitosana varía con la concentración y pH (56), mientras que en otro trabajo (57) se reportó que estos efectos difieren en relación al tipo de quitosana, grado de polimerización, nutrientes, sustrato, masa molecular, condiciones ambientales y ácido para disolver la quitosana.

Aunque se ha reportado que la quitosana mostró mayores efectos bactericidas para bacterias Gram-positivas que para bacterias Gram-negativas (58), su mecanismo de acción antimicrobiana no está totalmente dilucidado, aunque los investigadores coinciden en tres posibles acciones: carácter catiónico, agente quelante y penetración al interior de la célula (53).

Tabla 1. Aplicaciones de la quitosana en la inhibición de reacciones oxidativas en alimentos

Producto	Forma de aplicación de la quitosana	Referencia
Jugo de manzana	Aditivo	40
Jugo de naranja	Aditivo	41
Mayonesa	Aditivo	42
Fresa	Cobertura	80
Manzana	Cobertura	81
Cacahuets	Película	82
Papas fritas	Película	82
Hamburguesas de res	Película	32
Hamburguesas de cerdo	Película	53
Embutidos secos fermentados	Cobertura	54

Algunos estudios sobre la actividad bactericida de la quitosana han generado resultados ambiguos concernientes a la relación entre la actividad bactericida y la masa molecular de la quitosana. Se ha informado que un incremento de la masa molecular de la quitosana conllevó a la disminución de su actividad contra *Escherichia coli*, mientras en otros estudios, la quitosana de alta masa molecular mostró mayor actividad que la de menor masa molecular (55). Además, se ha reportado que las actividades contra *E. coli* (Gram -) y *Bacillus subtilis* (Gram +) parecen ser iguales en relación a la masa molecular de la quitosana (59).

Incluso aunque los limitados resultados sobre la actividad bactericida de la quitosana de baja masa molecular son comparables hasta cierto punto, dependiendo de las cepas bacterianas, condiciones de los ensayos biológicos y masa molecular de la quitosana, los resultados no están de acuerdo unos con otros. Por ejemplo, una quitosana de 9,3 kDa inhibió el crecimiento de *E. coli* mientras que la de 2,2 kDa promovió su crecimiento (60). En otro trabajo, la quitosana de menor masa molecular (4,6 kDa) mostró mejor actividad contra bacterias, hongos y levaduras (59).

El mecanismo a través del carácter catiónico de la quitosana se basa en las cargas positivas que posee el polímero (NH_3^+), debido a la presencia de un cambio sobre el C-2 del monómero de la glucosamina, cuando la quitosana se solubiliza en disoluciones con pH menor a su pKa (pH \approx 6-7) (53). Para el caso de disoluciones de quitosana con pH 5,5 los grupos aminos se encuentran parcialmente protonados. En cambio, a valores de

pH inferiores, estos grupos se encuentran protonados (61,62), reaccionando potentemente con los grupos hidrofílicos aniónicos (lipopolisacáridos, ácido teicoico de las bacterias Gram-negativas y proteínas celulares específicas), que juegan un papel primordial en la actividad antibacteriana (63).

La quitosana forma canales de transporte de moléculas en bicapas lipídicas artificiales, lo que provee evidencia de que puede desorganizar la membrana celular (64). En otro trabajo (65) se determinó que la acción antimicrobiana de la quitosana consistía en la destrucción de las membranas internas y externas de las bacterias, liberando los componentes intracelulares.

Otro mecanismo propuesto es que la quitosana puede actuar como agente quelante, formando complejos con metales trazas en condiciones ácidas, inhibiendo el desarrollo microbiano y producción de toxinas, y la disponibilidad de micronutrientes esenciales para las actividades celulares vitales (63). En la estructura propuesta como la más probable para estos complejos, el ion metálico está enlazado a un grupo amino del residuo dimérico de la quitosana (66).

La interpretación más aceptada es que bajo condiciones heterogéneas a pH < 6, la quitosana se manifiesta como un ligando poli (monodentado), mientras que a pH superiores se comporta como un ligando poli (bidentado), formando quelatos. Sin embargo, en disolución es posible la formación de complejos donde dos grupos amino estén coordinados con el mismo ion metálico. Estos grupos amino pueden ser de la misma cadena o de dos cadenas diferentes (14).

Tabla 2. Microorganismos contaminantes de alimentos inhibidos con el empleo de quitosana

Bacteria	Producto	Referencia
Bacterias ácido-lácticas	Salchicha	32
<i>Acinobacter baumannii</i>	Huevos	83
<i>Escherichia coli</i>	Huevos	83
<i>Salmonella typhimurium</i>	Huevos	83
<i>Enterobacteriaceae</i>	Carne de pollo	84
<i>Pseudomonas spp.</i>	Carne de pollo	84
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Sopa de pollo	85
Gram positivas y negativas	Carne de cordero y salame	86
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Filete de bacalao	87
<i>Listeria innocua</i>	Filete de bacalao	87
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sopa de pescado	88
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sopa de pescado	88

La quitosana es capaz de quelar cationes divalentes y establecer interacciones electrostáticas con moléculas aniónicas (fosfatos, carboxilatos), que componen los lipopolisacáridos, desestabilizando la membrana celular de las bacterias (14,67). También se ha planteado que la quitosana de baja masa molecular penetra en las células microbianas y bloquea la acción de varias enzimas e interfieren en la síntesis de proteínas por inhibición de la transcripción de ADN en ARN_m (69).

Aplicaciones de la quitosana como antimicrobiano

Las propiedades antimicrobianas de la quitosana se han reportado en varios trabajos (Tabla 2) en los que se ha utilizado para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y causantes del deterioro de alimentos (53).

Se ha descrito su acción *in vitro* sobre patógenos contaminantes de alimentos de origen animal como *E. coli* O157:H7 (69), *E. coli* (70,71), *Staphylococcus aureus* (71,72), *Listeria monocytogenes* (10,72) y *Bacillus cereus* (73). También se reportó la influencia de la masa molecular de la quitosana y sus oligómeros obtenidos a partir de la hidrólisis enzimática, en la inhibición de bacterias del género *Campylobacter* (74,75).

REFERENCIAS

1. Raibaudi, R.M.; Fortuna, R.S. y Belloso, O.M. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas [en línea]. Consultado 2006 en www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf
2. Guibal, E. Sep. Purif. Technol. 38:43-74, 2004.
3. Mounsey, J.S.; O'Kennedy, B.T.; Fenelon, M.A. y Brodtkorb, A. Food Hydrocolloid. 22:65-73, 2008.
4. Aider, M. LWT 43:837-842, 2010.
5. Kamil, J.; Jeon, Y.J. y Shahidi, F. Food Chem. 79:69-77, 2002.
6. Shahidi, F.; Kamil, J.; Jeon, Y. J. y Kim, S.K. J. Food Lipids 9:57-64, 2002.
7. Siripatrawan, U. y Harte, B.R. Food Hydrocolloid. 24:770-775, 2010.
8. Darmadji, P. e Izumimoto, M. Meat Sci. 38:243-254, 1994.
9. Tsai, G.J. y Su, W.H. J. Food Prot. 62:239-243, 1999.
10. Zivanovic, S.; Basurto, C.C.; Chi, S.; Davidson, P.M. y Weiss, J. J. Food Prot. 67:952-959, 2004.
11. Su, X.; Zivanovic, S. y D'Souza, D.H. J. Food Prot. 72:2623-2628, 2009.
12. Schreiber, S.B.; Bozell, J.J.; Hayes, D.G. y Zivanovic, S. Food Hydrocolloid. 33:207-214, 2013.
13. Ramírez, M.A.; Rodríguez, A.T.; Alfonso, L. y Peniche, C. Biotecnología Aplicada 27(4):270-276, 2010.
14. Rinaudo, M. Prog. Polym. Sci. 31:603-632, 2006.
15. Muzzarelli, R.A.A. Chitin. Pergamon Press, Oxford, 1977.
16. Martín-Polo, M.O. Biopolymers in the Fabrication of Edible and Biodegradable Materials for Food Preservation en: Food Preservation Moisture Control Fundamentals and Application. Barbosa-Cánovas, G.V. y Welti-Chanes, J., ed. 1995.
17. Shahidi, F. Aceites y Grasas Tomo XIV, 4(57):656-660, 2004.
18. Lárez, C. Avances de Química 1(2):15-21, 2006.
19. Argulló, E.; Rodríguez, M.S.; Ramos, V. y Albertengo, L. Macromol. Biosci. 10:521-530, 2003.
20. García, T. y Roca, J.M. Rev. Fac. Ing. Ind. 11(2):24-32, 2008.

La aplicación de un recubrimiento con quitosana por inmersión, mejoró la calidad microbiológica y aumentó la durabilidad de cecinas, lo que podría ser una alternativa al empleo de aditivos químicos (76). Se encontraron pocos reportes relacionados con el empleo de la quitosana en la leche y productos lácteos, posiblemente debido a que esta podría inhibir, entre otros, a los microorganismos utilizados en la elaboración de productos lácteos fermentados. Se informó sobre la efectividad de disoluciones de quitosana al 0,03 % (m/v) en la inhibición del crecimiento microbiano en leche con sabor a plátano durante 15 días de almacenamiento entre 4 y 10 °C (77). Por otro lado, la aplicación de recubrimientos de quitosana en huevos, contribuyó a preservar su calidad interna sin afectar su aceptación, con el consecuente incremento de su durabilidad (78). En frutas y hortalizas se aprovecha la actividad antifúngica de la quitosana en el desarrollo de productos mínimamente procesados (54,79).

CONCLUSIONES

El empleo de quitosana, ya sea en forma de películas, coberturas o como aditivo en las formulaciones, inhiben la oxidación lipídica de los productos alimenticios e incrementan su estabilidad microbiológica durante el almacenamiento.

21. Sirinivasa, P.C.; Ramesh, M.N.; Kumar, K.R. y Tharanathan, R.N. *J. Food Eng.* 63:79-85, 2004.
22. Hirano, S.; Itakura, C.; Seino, H.; Akiyama, Y.; Nonaka, I.; Kambara, N. y Kawakami, T. *J. Agric. Food Chem.* 38:1214-1217, 1990.
23. Muzzarelli, R.A.A.; Rochetti, R.; Stanic, V. y Weckx, M. Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan, en *Chitin Handbook*, Muzzarelli, R.A.A. y Peter, M.G., ed., Grottamare, European Chitin Society, 1997, pp. 109-119, 131-132.
24. Park, P.J.; Je, J.Y. y Kim, S.K. *Carbohydr. Polym.* 55:17-22, 2004.
25. Yen, M.T.; Tseng, Y.H.; Li, R.C. y Mau, J.L. *LWT* 40:255-261, 2007.
26. Yen, M.T.; Yang, J.H. y Mau, J.L. *Carbohydr. Polym.* 74:840-844, 2008.
27. Alexandrova, V.A.; Obukhova, G.V.; Domnina, N.S. y Topchiev, D.A. *Macromol. Symp.* 144:413-422, 1999.
28. Xie, W.; Xu, P. y Liu, Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11:1699-1701, 2001.
29. Xing, R.; Liu, S.; Guo, Z.; Yu, H.; Wang, P. y Li, C. *Bioorg. Med. Chem.* 13:1573-1577, 2005.
30. Casettari, L.; Gennari, L.; Angelino, D.; Ninfali, P. y Castagnino, E. *Food Hydrocolloid.* 28:243-247, 2012.
31. Rhazi, M.; Desbrières, J.; Tolaimate, A.; Rinaudo, M.; Vottero, P. y Alagui, A. *Eur. Polym. J.* 38:1523-1530, 2002.
32. Georgantelis, D.; Blekas, G.; Katikou, P.; Ambrosiadis, I. y Fletouris, D.J. *Meat Sci.* 75:256-264, 2007.
33. Caner, C.; Vergano, P. J. y Wiles, J.L. *J. Food Sci.* 63:1049-1053, 1998.
34. Shahidi, F. y Naczk, M. *Phenolics in food and nutraceuticals*. La Florida, CRC Press LLC, 2003.
35. Matsugo, S.; Mizuie, M.; Matsugo, M.; Ohwa, R.; Kitano, K. y Konishi, T. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 44:939-948, 1998.
36. Lin, H.Y. y Chou, C.C. *Food Res. Int.* 37:883-889, 2004.
37. Yin, X. Q.; Lin, Q.; Zhang, Q. y Yang, L.C. *Chemical Abstracts* 138, 66601, 2002.
38. Esumi, K.; Takei, N. y Yoshimura, T. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 32:117-123, 2003.
39. Xing, R.; Liu, S.; Yu, H.; Zhang, Q.; Li, Z. y Li, P. *Carbohydr. Res.* 339:2515-2519, 2004.
40. Chien, P.J.; Sheu, F.; Huang, W.T. y Su, M.S. *Food Chem.* 102:1192-1198, 2007.
41. Martin-Diana, A.B.; Rico, D.; Barat, J.M. y Barry-Ryan, C. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10:590-600, 2009.
42. García, M.; Silva, Y. y Casariego, A. *Emir. J. Food Agric.* 26(10):835-843, 2014.
43. Muzzarelli, R.A.A. *Cell. Mol. Life Sci.* 53:131-140, 1997.
44. Rout, S.K. *Physicochemical, Functional, and Spectroscopic Analysis of Crawfish Chitin and Chitosan as Affected by Process Modification*. Baton Rouge, LA, Louisiana State University, 2001.
45. Li, Q.; Dunn, E.T.; Grandmaison, E.W. y Goosen, M.F. *J. Bioact. Compat. Polym.* 7:370-397, 1992.
46. García, M.; de la Paz, N.; Castro, C.; Rodríguez, J.L.; Rodríguez, R.; Rapado, M.; Zuluaga, R.; Gañán, P.; Fernández, M. y Casariego, A. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* DOI: 10.1016/j.jrras.2015.01.003, 2015.
47. Mahdy, M.; El-Kalyoubi, M.H.; Khalaf, M.M. y Abd, M.M. *Ann. Agric. Sci.* 58(1):33-41, 2013.
48. Sousa, F.; Guebitz, G.M. y Kokol, V. *Process Biochem.* 44:749-756, 2009.
49. Aranaz, I.; Mengibar, M.; Harris, R.; Paños, I.; Miralles, B.; Acosta, N.; Galed, G. y Heras, A. *Curr. Chem. Biol.* 3:203-230, 2009.
50. Halliwell, B. *Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo*. En: *Handbook of Antioxidants*, 2nd ed., Cadenas, E. y Packer, L., ed. Basel, Marcel Dekker Inc., 2002.
51. Arancibia, M.; Alemán, A.; Calvo, M.M.; López-Caballero, M.E; Montero, P. y Gómez-Guillén, M.C. *Food Hydrocolloid* 35:710-717, 2014.
52. Schreiber, S. *Chitosan-gallic acid films as multifunctional food packaging* (tesis de maestría, Universidad de Tennessee, Tennessee, Estados Unidos) 2012, pp. 123.
53. Valenzuela, C. y Arias J.I. *Avances en Ciencias Veterinarias* 27(1):33-42, 2012.
54. Krkic, N.; Sojic, B.; Lazi, V.; Petrovic, L.; Mandic, A.; Sedej, I.; Tomovic, V. y Dzinic, N. *Food Control* 32:19-723, 2013.
55. Kong, M.; Chen, G.X.; Xing, K. y Park, J.H. *Int. J. Food Microbiol.* 144:51-63, 2010.
56. Wang, G. *Food Prot.* 55:916-919, 1992.
57. Cuero, R.G. *Antimicrobial action of exogenous Chitosan*. En: *Chitin and Chitosan*, Jolles, P. y Muzarelli, R.A.A., ed. Birkhäuser Verlag, 315-333, 1999.
58. Jeon, Y.J.; Park, P.J. y Kim, S.K. *Carbohydr. Polym.* 44:71-76, 2001.
59. Tikhonov, V.E.; Stepnova, E.A.; Babak, V.G.; Yamskov, I.A.; Palma-Guerrero, J.; Jansson, H.B.; López-Llorca, L.V.; Salinas, J.; Gerasimenko, D.V.; Avdienko, I.D. y Varlamov, V.P. *Carbohydr. Polym.* 64:66-72, 2006.
60. Tokura, S.; Ueno, K.; Miyazaki, S. y Nishi, N. *Macromol. Symp.* 120:1-9, 1997.
61. Helander, I.M.; Nurmiaho-Lassila, E.L.; Ahvenainen, R.; Rhoades, J. y Roller, S. *Int. J. Food Microbiol.* 71:235-244, 2001.

- 62.No, H.K.; Meyers, S.; Prinyawiwatkul, W. y Xu, Z. *J. Food Sci.* 72(5):87-100, 2007.
- 63.Rabea, E.; Badawy, M.; Stevens, C.; Smagghe, G. y Steurbaut, W. *Biomacromol.* 4(6):1457-1465, 2003.
- 64.Zakrzewska, A.; Boorsma, A.; Delneri, D.; Brul, S.; Oliver, S. y Klis, F. *Eukaryot. Cell.* 6:600-608, 2007.
- 65.Liu, H.; Du, Y.M.; Wang, X.H. y Sun, L.P. *Int. J. Food Microbiol.* 95:147-155, 2004.
- 66.Peniche, C.A. *Estudios sobre quitina y quitosana (tesis doctoral, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba) 2006,* pp. 95.
- 67.Helander, I.; Wright, A. y Mattila-Sandholm, T. *Trends Food Sci. Tech.* 8:146-150, 1997.
- 68.Tharanathan, R. y Kittur, F. *Crit. Rev. Food Sci.* 43(1):61-87, 2003.
- 69.Yang, Y.M.; Zhao, Y.H.; Liu, X.H.; Ding, F. y Gu, X.S. *J. Appl. Polym. Sci.* 104:1968-1972, 2007.
- 70.Li, B.; Kennedy, J.; Peng, J.; Yie, X. y Xie, B. *Carbohydr. Polym.* 65(4):488-494, 2006.
- 71.Xing, K.; Chen, X.G.; Liu, C.S.; Cha, D.S. y Park, H.J. *Int. J. Food Microbiol.* 132:127-133, 2009.
- 72.Liu, N.; Chen, X.; Park, H.; Liu, C.; Liu, C.; Meng, X. y Yu, L. *Carbohydr. Polym.* 64:60-65, 2006.
- 73.Mellegård, H.; From, C.; Christensen, B. y Granum, P. *Int. J. Food Microbiol.* 149:218-225, 2011.
- 74.Ganan, M.; Carrascosa, A. y Martínez-Rodríguez, A. *J. Food Prot.* 72:1735-1738, 2009.
- 75.Mengibar, M.; Gañan, M.; Miralles, B.; Carrascosa, A.; Martínez-Rodríguez, A.; Peter, M.; Heras, A. *Carbohydr. Polym.* 84:844-848, 2011.
- 76.Bostan, K. y Mahan, F. *J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ.* 37(2):117-126, 2011.
- 77.Ha, T. y Lee, S. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.* 30(4):630-634, 2001.
- 78.Caner, C. *J. Sci. Food Agr.* 85(11):1897-1902, 2005.
- 79.Díaz, R.; Casariego, A.; Rodríguez, J.; Martínez, A. y García, M. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 20(2):31-36, 2010.
- 80.Wang, S. y Hao, H. *LWT* 52:71-79, 2013.
- 81.Chien, P.J.; Sheu, F.; Huang, W.T. y Su, M. *S. Food Chem.* 102:1192-1198, 2007.
- 82.Schreiber, S. *Chitosan-gallic acid films as multifunctional food packaging (tesis de maestría, Universidad de Tennessee, Tennessee, Estados Unidos) 2012,* pp. 123.
- 83.Leleu, S.; Herman, L.; Heyndrickx, M.; De Reu, K.; Michiels, C.; De Baerdemaeker, J. y Messens, W. *Int. J. Food Microbiol.* 145:43-48, 2011.
- 84.Petrou, S.; Tsiraki, M.; Giatrakou, V. y Savvaidis, I. *Int. J. Food Microbiol.* 156:264-271, 2012.
- 85.Lahmer, R.; Williams, P.; Townsend, S.; Baker, S. y Jones, D. *Food Cont.* 26:206-211, 2012.
- 86.Kanatt, S.; Chander, R. y Sharma, A. *Food Chem.* 107:845-852, 2008.
- 87.Gómez-Estaca, J.; López de Lacey, A.; López-Caballero, M.; Gómez-Guillén, M. y Montero, P. *Food Microbiol.* 27:889-896, 2010.
- 88.Fernández-Saiz, P.; Soler, C.; Lagaron, J. y Ocio, M. *Int. J. Food Microbiol.* 137:287-294, 2010.