Biopelículas Terciarias: Fuerza de Ruptura y Efecto sobre la Vida Útil de Cortes de Tilapia Negra (*Oreochromis niloticus*)

Rafael E. González-Cuello*, Laura Paternina y Arnolis Carrillo

Universidad de Cartagena, Piedra de Bolívar - Av Del Consulado, Calle 30 N° 48-157., Cartagena D.T y C. Colombia. (e mail: rgonzalezc1@unicartagena.edu.co)

* Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia

Recibido Mar. 18, 2015; Aceptado May. 29, 2015; Versión final Jul. 19, 2015, Publicado Feb. 2016

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar la fuerza de ruptura de una biopelícula terciaria y establecer el efecto de su aplicación sobre la vida útil microbiológica de cortes de tilapia negra (*Oreochromis niloticus*). La vida útil de la tilapia fue estimada mediante la ecuación de Monod Hinshelwood, previo modelado de los datos cinéticos con la ayuda del programa de computo Dmfit. Las biopelículas fueron sometidas a pruebas de tracción usando un texturómetro. Los resultados obtenidos muestran que las biopelículas terciarias presentan débiles fuerzas de ruptura (0.202 N), lo cual puede ser ocasionado por la frágil interacción entre los componentes utilizados en la formación de la biopelícula. Las biopelículas lograron incrementar la vida útil microbiológica de los cortes de tilapia en un 29.3 % por lo cual podrían ser una alternativa para la conservación de productos pesqueros.

Palabras clave: aerobios mesófilos; biopelículas; fuerza de ruptura; tilapia; vida útil microbiológica

Tertiary Biofilm: Rupture Force and Effect on the Shelf Life of Black Tilapia Cuts (*Oreochromis niloticus*)

Abstract

The aim of this study was to determine the breaking force of a tertiary biofilm and to establish the effect of its applications on the microbiological shelf life of black tilapia cuts (*Oreochromis niloticus*). The shelf life of tilapia was estimated by the Monod Hinshelwood equation, prior modeling of the kinetic data with the help of computer program Dmfit. Tertiary biofilms were subjected to tensile tests using a texturometer. The results showed that tertiary biofilm have weak rupture forces (0.202 N) which can be caused by the weak interaction between the components used. Biofilms were able to increase the microbiological shelf life of the tilapia cuts by 29.3 % representing a good alternative for the conservation of fishery products.

Keywords: aerobic mesophilic; biofilms; breaking force; tilapia; microbiological shelf life

INTRODUCCIÓN

La tilapia es un pez de origen africano que habita mayoritariamente en las regiones tropicales. El cultivo de tilapia posee gran importancia en la producción de proteína animal (Gatti et al., 2014), particularmente en los países en vías de desarrollo (Lara et al., 2002). Quiñonez, (2008), menciona que la tilapia es cultivada en más de 100 países y ocupa el segundo puesto en la producción mundial con 1.6 millones de toneladas métricas al año. La tilapia negra (*Oreochromis niloticus*), fue introducida en Colombia en el año 1979 por el entonces Instituto Nacional de Desarrollo de los Recursos Renovables (Inderena), mediante convenio con la AID (Auburn University, USA), procedente de Panamá y originaria de las Costas de Marfil (Rodríguez, 1981). Fue la segunda especie de mayor importancia comercial del embalse del Guájaro (primer cuerpo de agua natural de tipo léntico), con un rendimiento de 9.4 kg/ha/año (Cala y Bernal, 1977). Es uno de los pescados que se consume con más frecuencia en Colombia principalmente por su facilidad de conseguir en el mercado, su relativo valor económico y además nutricionalmente aporta proteínas de alto valor biológico que ayudan a formar y fortalecer los músculos, también aporta vitaminas del complejo B y ácidos grasos insaturados como el omega 3.

El consumo de pescado en buen estado está asociado directamente con su grado de frescura, que indica el buen estado nutricional y sensorial del producto, el pescado fresco se puede deteriorar rápidamente debido a la proliferación de microorganismos, que aunque hacen parte de la microbiota natural, poseen actividad degradativa (Khalafalla et al., 2015). Por tal razón, el desarrollo de biopelículas comestibles surge del creciente interés de los consumidores y productores por alimentos de mejor calidad nutricional, sensorial e higiénica de los productos alimenticios (Souza et al., 2010), además, el uso de biopelículas es el resultado de una mayor concienciación por el impacto ambiental ocasionado al elaborar y eliminar envases plásticos (Cutter, 2006; Rodríguez, 2011).

Debido a las preocupaciones que se han despertado respecto a los impactos ambientales que generan los materiales de empaques elaborados a base de plásticos no biodegradables, las biopelículas han tomado gran importancia (Krochta y de Mulder, 1997). Las biopelículas son diseñadas para aumentar la vida útil de algunos productos alimenticios (González et al., 2015a); logrando propiedades de barrera que dependerán fuertemente de las características de los biopolímeros constituyentes y su compatibilidad (Pavlath y Orts, 2009).

Diversos materiales han sido usados como base para la elaboración de biopelículas, todos reconocidos como seguros para consumo humano. Los materiales utilizados para el desarrollo de biopelículas incluyen las proteínas, lípidos y polisacáridos (Embuscado y Huber, 2009). Dentro de los polisacáridos mayoritariamente utilizados encontramos al almidón, el cual está conformado por dos clases de moléculas: la amilosa, de estructura lineal, que se encuentra generalmente en un porcentaje de entre 20 y 30%; y la amilopectina, de estructura ramificada, cuyo porcentaje varía entre el 70 y 80%. Para el desarrollo de biopelículas, el almidón ha recibido una considerable atención debido a su naturaleza biodegradable y bajo costo (Arvanitoyannis et al., 1999; García et al., 2000, Jiménez et al., 2014;). La goma gelana igualmente ha sido un biopolímero funcional utilizado en la elaboración de películas (González et al., 2015b).

La goma gelana, es un heteropolisacárido extracelular aniónico producido por la bacteria *Sphingomonas paucimobilis* y consiste de unidades de repetición de un tetrasacárido (1-3 β D glucosa, 1,4 β D ácido glucurónico, 1,4 β D glucosa, α -L ramnosa), la gelana nativa se conoce con el nombre de gelana de alto acilo por la presencia de grupos acetatos y gliceratos en su estructura, cuando esta gelana es sometida a fuertes tratamientos con álcali estos grupos son hidrolizados, obteniendo de esta manera la gelana de bajo acilo (Huang et al., 2003; González et al., 2012). En cuanto a las proteínas utilizadas en la obtención de biopelículas, se encuentran las proteínas de suero lácteo que representan el 20% del total de las proteínas en la leche (Rodríguez y Schöbitz, 2009). Por lo mencionado previamente, el objetivo del presente trabajo es evaluar la fuerza de ruptura de biopelículas terciarias y su efecto en la vida útil microbiológica de la tilapia negra (*Oreochromis niloticus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las muestras de tilapia fueron adquiridas directamente en la pescadería PEZ CARIBE LTDA (Colombia). La gelana de bajo acilo fue suministrada por Modernist pantry (EEUU), La proteína de suero lácteo fue adquirida en productos IPF (Colombia). El ácido cítrico fue suministrado por Pancreac (EEUU). El almidón de yuca fue comprado en droguerías Juliao en la ciudad de Cartagena, (Colombia) y finalmente el Carbonato de Calcio y el glicerol fueron suministrados por Merck (Colombia).

Obtención de las biopelículas

Para la obtención de las biopelículas se mezclaron 0.5 g de proteína de suero lácteo, 0.5 g de almidón de yuca, 0.2 g de gelatina de bajo acido y 0.18 g de Carbonato de Calcio (CaCO_3) en agua destilada con ayuda de un agitador magnético. Posteriormente se adicionó glicerol como agente plastificante y se aumentó la temperatura de la preparación hasta alcanzar 90 °C durante 30 minutos. Finalmente 2 mL de solución con ácido cítrico al 4% fueron adicionados con el propósito de iniciar el proceso de gelificación de la gelatina y a la vez servir como agente antimicrobiano. Para llevar a cabo el proceso de termo formado de las biopelículas se utilizaron temperaturas de 37 °C por 16 horas, asegurando la uniformidad de las biopelículas en cajas de Petri estériles.

Análisis microbiológicos

Se tomaron 11 g de las muestras y se adicionaron en 99 mL de agua de peptona, posteriormente se realizaron diluciones seriadas consecutivas y finalmente se determinó la concentración bacteriana de: Aerobios Mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, Coliformes totales y fecales y esporas de clostridios sulfito reductor utilizando la metodología de recuento en placa con el agar específico para cada grupo bacteriano.

Pruebas de resistencia mecánica

Después de obtener las biopelículas se determinó la fuerza de ruptura de las mismas mediante pruebas de tracción utilizando un texturometro Shimadzu modelo EZ-Test EZ-S empleando una geometría de mordazas a una velocidad de separación de 30 mm/min.

Estimación de la vida útil microbiológica de la tilapia negra

Una vez obtenidas las biopelículas terciarias, estas fueron aplicadas a un lote de muestras de tilapia negra mientras que otro lote permaneció sin la aplicación de recubrimiento (muestras control). Posteriormente se llevaron a cabo múltiples cinéticas de crecimiento microbiano para los dos lotes de cortes de tilapia negra, utilizando como microorganismos indicadores las bacterias aerobias mesófilas. Las cinéticas se realizaron a tres temperaturas (17, 27 y 37 °C) para cada lote de tilapia. 15 muestras de tilapia negra de 1 g cada una fueron maceradas y adicionadas en tubos de ensayo que contenían 9 mL de agua peptonada. Subsecuentemente, se realizaron las diluciones seriadas consecutivas pertinentes y finalmente se llevó a cabo la siembra en placa profunda utilizando 1 mL de las diluciones en cajas de Petri, utilizando agar SPC (Plate Count Agar). Se utilizaron intervalos de tiempo entre cada siembra de 20 minutos, para un total de 15 siembras por cinética de crecimiento.

Ajuste de las curvas de crecimiento microbiano

Se utilizó el modelo matemático de Baranyi y Robert (1994) con ayuda del programa de cómputo DMFIT 2.0 para ajustar los datos obtenidos en las cinéticas de crecimiento de aerobios mesófilos a las diferentes fases del crecimiento microbiano, y cuya expresión matemática se presenta en la ecuación 1.

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-vt} + e^{-h_0} - e^{-vt-h_0}) - \frac{1}{m} \ln \left[1 + \frac{e^{m\mu_{\max}t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-vt} + e^{-h_0} - e^{-vt-h_0})} - 1}{e^{m(y_{\max} - y_0)}} \right] \quad (1)$$

Donde, $y(t)$ es la concentración celular o el diámetro de las colonias, y_0 es la concentración o diámetro inicial, $\mu_{\max}$ es la velocidad específica de crecimiento (1/h), m un parámetro de curvatura para caracterizar la transición de la fase exponencial, v es un parámetro de curvatura para caracterizar la transición a la fase exponencial y h_0 es un parámetro adimensional que cuantifica el estado fisiológico inicial de las células. De donde el tiempo de latencia h es calculado como ($h_0/\mu_{\max}$).

Una vez obtenidos los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano, se procedió a estimar la vida útil microbiológica utilizando la ecuación de Monod-Hinshelwood (ecuación 2). Después de conocer la carga microbiana de la tilapia negra inicialmente y conociendo la cantidad permisible de cada tipo microorganismo se determinó el tiempo necesario para la alteración del producto.

$$ts = \frac{\log N_s - \log N_0}{\log 2} \times T_d \quad (2)$$

Donde, t_s es el tiempo necesario para que se desarrolle la alteración en el alimento, N_s (ufc/g) es el valor correspondiente a la población de seguridad (valor máximo permisible antes de considerarse alterado el producto), N_0 (ufc/g) es el valor correspondiente a la población inicial presente en el producto y T_d es el tiempo de duplicación de la población alterante específica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de las biopelículas

Después del proceso de secado a 37 °C durante 16 horas fue posible obtener biopelículas terciarias a base de gelana de bajo acilo, almidón de maíz y proteína de suero lácteo transparentes delgadas y de fácil manipulación para llevar a cabo el recubrimiento de cortes de tilapia negra. Estas características obedecen principalmente a las propiedades únicas de cada uno de los componentes utilizados; por ejemplo, la gelificación de la goma gelana se ve favorecida por la presencia de carbonato de calcio, ya que el ión calcio es liberado por reacción de sustitución cuando el pH disminuye por la presencia del ácido cítrico. Igualmente, la gelana de bajo acilo se caracteriza por formar geles firmes pero quebradizos (Huang et al., 2003; González et al., 2012) por lo cual, es importante incorporar durante la elaboración de las biopelículas otros compuestos como el almidón que debido a la relación amilosa/amilopectina favorece las propiedades de las biopelículas. La amilosa, el componente lineal del almidón, favorece las propiedades técnicas de las películas en comparación con la amilopectina que es la macromolécula ramificada (Lafargue, 2007). Por ende, se precisa la adicción de glicerol a las biopelículas para proporcionar flexibilidad por el efecto de este alcohol sobre el movimiento de las cadenas laterales del polímero (Liang et al., 2014). Con respecto a la proteína de suero lácteo, esta proteína proporciona películas con características interesantes para la industria alimentaria debido a la presencia de β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina que al ser desnaturalizadas por acción del calor producen películas transparentes, insípidas y flexibles. La flexibilidad que se logra cuando se utiliza solamente proteína de suero lácteo en la obtención de películas comestibles es limitada, por tal motivo, incorporar sustancias plastificantes es necesario para mejorar las propiedades mecánicas de las mismas (Galletta et al., 2005; Rodríguez y Schöbitz, 2009).

Análisis microbiológico

En la tabla 1 se pueden apreciar los resultados de los análisis microbiológicos llevados a cabo sobre las biopelículas, en donde se puede apreciar que las biopelículas terciarias no fueron fuente de contaminación microbiana para la tilapia negra, ello se debe al efecto de la temperatura (90°C / 10 min) utilizada durante la elaboración de las biopelículas la cual es nociva contra la mayoría de las bacterias de origen alimentario. De igual manera se puede observar que las muestras de tilapia tenían buena calidad microbiológica. El bajo contenido de microorganismos encontrados obedece también a los cuidados higiénicos sanitarios que se tuvieron al momento de la elaboración de las biopelículas.

Tabla 1: Resultado microbiológico de las biopelículas y de cortes de tilapia negra

Tipo de microorganismo evaluado	Biopelículas terciarias	Tilapia Negra
Aerobios mesófilos	< 10 UFC /g	45 UFC/g
S.aureus Coagulasa (+)	< 10 UFC /g	< 10 UFC /g
Salmonella sp	Ausencia en 25 g de muestra	Ausencia en 25 g de muestra
Coliformes totales	<3 bact/gr	<3 bact/gr
Coliformes fecales	<3 bact/gr	<3 bact/gr
Esporas de clostridios reductores de sulfito	<10 UFC/g	<10 UFC/g

El resultado microbiológico de las biopelículas terciarias se convierte en un aspecto de importancia en este estudio porque puede aumentar la cantidad de microorganismos presentes en los cortes de tilapia negra influyendo directamente en el objetivo de este trabajo.

Pruebas mecánicas

Las pruebas mecánicas de tracción a las cuales fueron sometidas las biopelículas terciarias arrojaron un bajo valor de ruptura (0.202 ± 0.356 N), este comportamiento puede ser atribuido a la baja interacción que existe entre los componentes que integran la biopelícula ocasionado por la disparidad estructural entre la goma gelana, la proteína de suero lácteo y el almidón. Además, la gelana de bajo acilo tiene la capacidad de gelificar en concentraciones menores que los otros componentes que integran las biopelículas terciarias.

por la formación y agregación de hélices inducidas por cationes divalentes (Bradbeer et al., 2014), lo cual conlleva a una escasa disponibilidad de sitios activos presentes en la gelana de bajo acilo para reaccionar con aminoácidos catiónicos presentes en la proteína de suero lácteo. La agregación de hélices de la goma gelana de bajo acilo también implica la formación de enlaces o interacciones débiles como las fuerzas de Van der Waals y enlaces de hidrógeno, en este caso el calcio reduce las repulsiones electrostáticas entre las hélices aumentando la formación de una red tridimensional. Además, cuando se utilizan cationes divalentes como precursores de gelificación se forman enlaces iónicos entre los grupos carboxílicos de cadenas vecinas (Bradbeer et al., 2014). En tal sentido, las interacciones establecidas por la goma gelana son débiles y por tanto, se logran bajos valores de ruptura en sus biopelículas. Los valores de ruptura obtenidos en la presente investigación (0.202 N), se encuentran por debajo de los reportados por Saavedra y Algecira (2010), (tabla 2), quienes encontraron valores de ruptura superiores en biopelículas comestibles a base de almidón de yuca y proteína aislada de soja. La diferencia entre los valores puede ser atribuida a la interacción entre la proteína y el almidón.

Tabla 2: Valores de la fuerza de ruptura de biopelículas comestibles

Biopelícula	Fuerza (Newton)
100% Almidón	0.305 ± 0.10
(50:50) Almidón/Proteína	0.340 ± 0.11
(50-50) Almidón/Proteína sin Aceite	0.666 ± 0.16
100% Proteína	0.650 ± 0.07

Determinación de la vida útil de la tilapia negra

Los datos obtenidos en las diferentes cinéticas de crecimientos de las bacterias aerobias mesófilas fueron modeladas matemáticamente utilizando la ecuación de Baranyi y Roberts (1994) (ver figura 1). En las curvas de crecimiento microbiano obtenidas se pueden observar las diversas fases de crecimiento bacteriano que caracterizan las curvas (fase de adaptación, logarítmica y estacionaria). Igualmente es importante notar el efecto de las temperaturas de incubación (17, 27 y 37°C) sobre la fase logarítmica un comportamiento similar fue observado por González et al., (2015a) al modelar el crecimiento de bacterias aerobias mesófilas creciendo sobre Camarón Blanco (*Penaeus vannamei*).

Como se muestra en la figura 1 en ambos tratamientos (con y sin biopelículas) se apreciaron diferencias en la fase logarítmica, se puede notar un aumento en la pendiente directamente proporcional a la temperatura, este comportamiento corresponde a la fisiología de las bacterias mesófilas. Igualmente, se observa que las bacterias presentes en las muestras de tilapia negra recubierta entran en un mayor tiempo a la fase estacionaria, aunque generalmente este comportamiento es atribuido al agotamiento de los nutrientes presentes en el substrato. Sin embargo, no se debe descartar el efecto antimicrobiano que ejerce el ácido cítrico utilizado como agente inductor de la gelificación de la gelana de bajo acilo. Es importante destacar que al adicionar el ácido cítrico, las biopelículas alcanzaron un pH de 3.2, que influye negativamente en el crecimiento, ya que para la gran mayoría de las bacterias el pH óptimo de crecimiento es de 6.5-7.5.

Fig. 1: Cinéticas de crecimiento a diferentes temperaturas a: sin biopelículas. b: con biopelículas

La vida útil microbiológica de un producto alimenticio se puede estimar obteniendo los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano extraídos de la fase logarítmica, que es donde las células bacterianas se encuentran sanas y estables desde un punto de vista fisiológico, por tal razón se grafica esta fase de crecimiento contra el tiempo (h) obteniendo coeficientes de correlación de 1 y 0.999 (datos no mostrados) respectivamente para las muestras con y sin biopelículas.

El valor de la pendiente de la recta resultante corresponde a la velocidad específica de crecimiento (μ). Con base en ello, se puede evidenciar que para la muestra sin biopelículas, la μ es mayor ($\mu=2.073$) en comparación con los cortes de tilapia recubiertos con las biopelículas terciarias ($\mu=2.030$). Esa diferencia puede ser atribuida al efecto de las biopelículas sobre los microorganismos, ya que estos no cuentan con las condiciones ambientales óptimas para su crecimiento, valores diferentes fueron reportados por Muñoz y Catrilaf, (2013) quienes estimaron los parámetros cinéticos de *Saccharomyces cerevisiae* en sistema de fermentación Batch bajo distintas condiciones de crecimiento, obteniendo valores de μ de 0.188 h^{-1} esta diferencia se debe a que *Saccharomyces cerevisiae* es sometida a condiciones oxigénicas que favorecen su crecimiento.

Una vez obtenidos los parámetros cinéticos μ y t_d se aplica la ecuación de *Monod-Hinshelwood*, estimando la vida útil microbiológica para cada tratamiento. A raíz de estos resultados es posible establecer un aumento del 29.27 % en la vida útil microbiológica de las muestras de tilapia negra cuando es recubierta con biopelículas terciarias. Este resultado a parte del efecto antimicrobiano ejercido por las biopelículas, también se puede atribuir a la temperatura de almacenamiento utilizada para predecir la vida útil (4°C), que está por debajo a la temperatura óptima de crecimiento para aerobios mesófilos ($30\text{-}40^\circ\text{C}$). Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los publicados por Yanar et al., (2006) sobre el efecto de la concentración de salmuera en la vida útil de la tilapia ahumada, tales autores muestran que la tilapia puede ser conservada adecuadamente en condiciones de refrigeración durante 35 días. No obstante, es importante destacar que Yanar et al., (2006) estiman la vida útil de la tilapia evaluando la rancidez oxidativa medida por el valor de peróxido y de ácido tiobarbitúrico. Por el contrario, Tomé et al., (2000), utilizaron tres temperaturas de almacenamiento para diferentes variedades de Tilapia (*O. mossambicus*, *O. urolepishormorum*, *O. niloticu*), obteniendo una vida útil de 21 días para las tilapias almacenadas a 0°C , utilizando una escala sensorial descriptiva, se puede evidenciar que existe una marcada diferencia entre este valor de vida útil y el que aquí se reporta, debido a la metodología utilizada para estimar la vida útil, mientras Tomé et al., (2000) utilizan una escala descriptiva, en la presente investigación se plantea un estudio de vida útil microbiológica. Sin embargo, es importante recomendar un análisis sensorial y bioquímico con el fin de confirmar los datos de vida útil.

CONCLUSIONES

Aplicar biopelículas terciarias a base de proteína de suero lácteo, almidón de yuca y goma gelana de bajo acilo sobre muestras de tilapia negra logra incrementar la vida útil microbiológica de las mismas en un 29.27%. Desde un punto de vista físico, las biopelículas terciarias obtenidas en este trabajo presentan débiles fuerzas de ruptura como consecuencia de los componentes utilizados en los que es importante destacar las débiles interacciones entre las hélices de gelana de bajo acilo ya que se obtuvieron valores de ruptura de 0.202 N.

REFERENCIAS

- Arvanitoyannis, I. y C. Biliaderis, Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch, *Carb Polym*, 38, 47-58 (1999)
- Baranyi, J y T. Roberts, A dynamic approach to predicting bacterial growth in food, *Int. J. Food Microbiol*, 23, 277–294 (1994)
- Bradbeer J, y otros tres autores, Low acyl gellan gum fluid gel formation and their subsequent response with acid to impact on satiety, *Food Hydrocol*, 43, 501-509 (2014)
- Cala, P y G. Bernal, Ecología y adaptaciones de la tilapia nilotica (*oreochromis niloticus*) en ambientes naturales - caso embalse de betania y cienaga de chillola, sistema del rio magdalena, Colombia. *Asociación Colombiana de ictiología*, 2(1), 3-29 (1997)
- Cutter, C, Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods, *Meat Sci*, 74, 131 – 142 (2006)
- Embuscado, M. y Huber, K. *Edible films and Coatings for food Applications*. Springer, London New York, (2009)

- Galieta, G. y otros tres autores, Aumento de la vida útil postcosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche, *Rev Iber Tecnol Post*, 6(2), 117-123 (2005)
- Garcia, M.A., Martino, M. y N. Zaritzky, Microstructural Characterization of Plasticized Starch-Based Film, *Starch/Stärke*, 52(4), 118-124, (2000)
- Gatti, P. y otros tres autores, Microbiological quality of whole and filleted shelf-tilapia, *Aquacul*, 433, 196–200 (2014)
- González, R y otros tres autores, Rheological characterization and activation energy values of binary mixtures of gellan, *Eur Food Res Technol*, 234, 305-313 (2012)
- González, R. y otros dos autores, Obtención de biopelículas binarias activas y su efecto en la vida útil microbiológica del camarón blanco (*Penaeus vannamei*), *Inf Tecnol*, 26(5), en prensa (2015a)
- González, R. y otros dos autores, Caracterización viscoelástica de biopelículas obtenidas a base de mezclas binarias, *Inf Tecnol*, 26(3), 71-76 (2015b)
- Huang, Y, y otros tres autores, Effect of calcium concentration on textural properties of high and low acyl mixed gellan gels, *Carb Polym*, 54, 517-522, (2003)
- Jiménez, A, y otros cuatro autores, Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate, *Food Hydrocol*, 35, 159-169 (2014)
- Khalafalla, F, y otros dos autores, Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs, *J Basic Appl Sci*, 3, 33 – 40, (2015)
- Krochta, J. y C. De Mulder, Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities, *Food Technol*, 51 (2), 61-74, (1997)
- Lara, M, y otros tres autores, Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquacul*, 216, 193-201, (2002)
- Lafargue, D. y otros dos autores, Film-forming properties of a modified starch (j-carrageenan mixture in relation to its rheological behavior, *Carb Pol*, 70(1), 101–111 (2007)
- Pavlath, A y W. Orts, Edible films and coatings: why, what, and how. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. 1-23 (2009)
- Muñoz, M. y G. Catrilaf, Estimación de parámetros cinéticos de *Saccharomyces cerevisiae* en sistema de fermentación Batch bajo distintas condiciones de crecimiento, disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Proyecto%20final%20Saccharomyces%20cerevisiae.pdf>. Consultado 8 Noviembre de 2013
- Quiñonez. Efecto de bacterias ácido lácticas y levaduras con potencial probiótico en el cultivo de las tilapias *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis sp.* Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Mexico, 3-43, (2008)
- Rodríguez, D. Declaración del efecto ambiental para el cultivo de tilapia nilotica en el sistema rnagdalénico, Centro de Investigación Piscícola de Repelón (Atlántico), INDERENA, Colombia. (1981)
- Rodríguez L. Evaluación de recubrimientos comestibles proteicos aplicados al salmón del Atlántico (Salmon salar) congelado: estudio de diferentes formulaciones y tratamientos tecnológicos. (Tesis doctoral), España: Universidad de Santiago de Compostela (USC), (2011)
- Rodríguez, D. y R. Schöbitz, Película antimicrobiana a base de proteína de suero lácteo, incorporada con bacterias lácticas como controlador de *Listeria monocytogenes* aplicada sobre salmón ahumado, *Rev Biotechnol Agrop y Agroind*, 7(2), 49-54 (2009)
- Saavedra, N. y N. Algecira, Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. Universidad Nacional de Colombia, 171-182 (2010)
- Souza, A. y otros dos autores, Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In M. L. Passos, & C. P. Ribeiro (Eds.), *Innovation in food engineering: New techniques and products* (pp. 511–537). Boca Raton: CRC Press. (2010)
- Tomé, E. y otros tres autores, Efecto de la temperatura de almacenamiento en el rigor mortis y en la estabilidad d en la tilapia (*Oreochromis spp.*) cultivad. *Rev Cient FCV-LUZ*, 10(4), 339-345, (2000)
- Yanar, Y. y otros dos autores, Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4C, *Food Chem*, 97, 244–247 (2006)