



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

# ENCAPSULACIÓN DE ANTIMICROBIANOS NATURALES EN SISTEMAS NANO Y MICROESTRUCTURADOS: TÉCNICAS Y APLICACIONES EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TRABAJO FINAL DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

*Universitat Politècnica de València*  
*Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural*

Alumna: Gloria Munera Cabañero  
Tutor académico: Édgar Pérez Esteve  
Cotutores: José Manuel Barat Baviera  
Héctor Gómez Llorente

**Curso académico: 2019-2020**

**VALENCIA, JULIO DE 2020**

# ENCAPSULACIÓN DE ANTIMICROBIANOS NATURALES EN SISTEMAS NANO Y MICROESTRUCTURADOS: TÉCNICAS Y APLICACIONES EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

## RESUMEN

Estudios *in vitro* han demostrado la efectividad de diferentes compuestos naturales para reducir la carga de una amplia gama de microorganismos patógenos y alterantes de los alimentos. Sin embargo, su uso en la formulación de alimentos está en ocasiones limitada por diferentes factores: sensorialidad, alta volatilidad, o degradación antes de llegar al lugar de acción. Una de las alternativas para reducir esos efectos que impiden su uso en aplicaciones reales, es la encapsulación en sistemas nano y microestructurados. El presente trabajo tiene por objetivo identificar los principales tipos de antimicrobianos naturales, los soportes nano y microestructurados que pueden emplearse para su encapsulación, así como las ventajas que supone este método en tecnología de alimentos. Los resultados muestran que los antimicrobianos naturales pueden ser de cuatro orígenes diferentes: vegetal, animal, microbiano y mineral. Entre los sistemas de encapsulación más empleados destacan el uso de emulsiones, liposomas y fibras, así como las arcillas y partículas porosas de óxido de silicio. Finalmente, el estudio ha permitido evidenciar que la encapsulación mejora el efecto antimicrobiano de las moléculas activas gracias a una liberación controlada, así como la compatibilidad con el alimento.

**PALABRAS CLAVE:** antimicrobianos naturales; encapsulación; nano y microestructuras; microorganismos; alimentos

## ABSTRACT

*In vitro* studies have shown the effectiveness of different natural compounds to reduce the burden of a wide range of pathogenic and food-altering microorganisms. Nevertheless, its use in food formulation is sometimes limited by different factors: sensoriality, high volatility or the degradation before reaching the site of action. One of the alternatives to reduce those effects that prevent its use in real applications is encapsulation in nano and microstructures. The present work aims to identify the main types of natural antimicrobials, nano and microstructured supports that can be used for encapsulation, as well as the advantages of this method in food technology. The results show that natural antimicrobials can be from four different origins: plant, animal, microbial, and mineral. Among the most widely used encapsulation systems are the use of emulsions, liposomes and fibers, as well as clays and porous particles of silicon oxide. Finally, the study has shown that encapsulation improves the antimicrobial effect of active molecules thanks to a controlled release, as well as compatibility with food.

**KEY WORDS:** natural antimicrobials; encapsulation; nano and microstructures; microorganisms; food

Alumna: Dña. Gloria Munera Cabañero  
Valencia, julio de 2020

Prof. D.: Édgar Pérez Esteve

D.: José Manuel Barat Baviera; D.: Héctor Gómez Llorente

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
<b>3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>5</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>6</b>
<b>4.1 Antimicrobianos naturales: tipos y propiedades .....</b>	<b>6</b>
4.1.1 Antimicrobianos de origen vegetal .....	7
4.1.2 Antimicrobianos de origen animal .....	9
4.1.3 Antimicrobianos de origen microbiano.....	11
4.1.4 Antimicrobianos de origen mineral.....	12
<b>4.2 Limitaciones de la aplicación directa de antimicrobianos naturales en tecnología de alimentos .....</b>	<b>12</b>
<b>4.3 Desarrollo de sistemas antimicrobianos para su uso en tecnología de alimentos basados en micro y nanoencapsulación .....</b>	<b>13</b>
4.3.1 Sistemas de encapsulación orgánicos .....	14
4.3.1 a Emulsiones .....	15
4.3.1 b Liposomas .....	16
4.3.1 c Partículas sólidas lipídicas .....	17
4.3.1 d Fibras .....	18
4.3.2 Sistemas de encapsulación inorgánicos .....	19
4.3.2 a Arcillas.....	19
4.3.2 b Partículas de sílice mesoporosas .....	19
4.3.2 c Zeolitas .....	20
4.3.3 Sistemas emergentes combinados de encapsulación .....	20
4.3.3 a Agregados de cápsulas multi-ensambladas .....	20
4.3.3 b Cápsulas de doble capa.....	20
<b>5. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>26</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** *Antimicrobianos de origen vegetal estudiados recientemente*.....**22**

**Tabla 2.** *Antimicrobianos de origen microbiano estudiados recientemente*.....**25**

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** *Clasificación por familias de antimicrobianos según su origen* .....**6**

**Figura 2.** *(a) Matriz alimentaria con sistema de encapsulación y (b) ejemplo de cápsula de la matriz compuesta por el material de soporte y el ingrediente activo*.....**13**

**Figura 3.** *Representación esquemática de diferentes sistemas de encapsulación orgánicos en alimentos* .....**14**

# 1. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria debe tener la capacidad de crear alimentos seguros para el consumidor (Parry *et al.*, 2007), focalizando su énfasis en obtener productos de larga vida útil. Por otro lado, dicha producción debe ser lo suficientemente elevada como para afrontar la creciente demanda de alimentos, derivada del aumento de la población mundial (Godfray *et al.*, 2010).

Sin embargo, lo anteriormente descrito supone aún un reto para la industria alimentaria, ya que según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se producen aproximadamente 420.000 muertes por enfermedades de transmisión alimentaria, principalmente por virus, del tipo norovirus, o por bacterias tanto gram positivas como gram negativas. En Europa, el número de casos de infecciones por norovirus asciende a 15 millones; por otro lado, la listeriosis causa alrededor de 400 fallecimientos al año, y las muertes por salmonelosis no tifoidea son, aproximadamente, de 2.000 al año (OMS, 2015).

Ejemplificando casos de toxiinfecciones en España, Pereira-Victorio *et al.* (2016) estudiaron un brote aparecido por *Norovirus spp.* en Albacete. La causa de este brote probablemente fue el consumo de ensalada contaminada por este virus que infectó a muchos asistentes en un restaurante. Sin embargo, el estudio no descartó que también estuvieran contaminados otros productos, ya que la fuente de contaminación más probable fue la falta de higiene de los trabajadores en la manipulación de alimentos. Por otro lado, la noticia de Murillo (2019) trata de una toxiinfección alimentaria producida por *Listeria monocytogenes* (bacteria gram positiva), originada en Sevilla y extendida por toda España, que afectó a 250 comensales. De Frutos *et al.* (2018) describieron un brote de *Salmonella enterica*, bacteria gram negativa, que afectó a 112 personas en Valladolid por el consumo de carne de cerdo asado en salsa. Con el fin de evitar el riesgo de aparición de casos de toxiinfecciones, se debe tener un sistema estructurado y sistemático basado en el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) para controlar la inocuidad de los alimentos, en la totalidad de etapas dentro de un sistema productivo (Ministerio de agricultura, 2012), ya que las toxiinfecciones no solo generan problemas de salud, sino también pérdida económica y desprestigio del establecimiento o industria afectada. Por ello, es importante invertir en tecnología y personal cualificado para evitar cualquier posible caso que genere una enfermedad transmitida por alimentos, estudiando con profundidad cada etapa productiva y sus diferentes peligros (físico, químico o biológico), que pueden variar de nivel de gravedad (alta, moderada o baja) (Organización Panamericana de la Salud (OPS), 2015).

En 2018, en España, hubo 4 alertas por cuerpos extraños, peligro físico, 13 por residuos de pesticidas, peligro químico y en cuanto a los microbiológicos, 61 alertas por micotoxinas y 35 por microorganismos patógenos. Además, es interesante resaltar el incremento del 19% en el número de alertas microbiológicas registradas en el 2018, respecto a 2017 (RASFF, 2018). Por ello, es necesario optimizar los diferentes procesos utilizados en la industria alimentaria para conservar alimentos, ya sean métodos químicos (adicionar sustancias), biológicos (basados en los principios de fermentación), o físicos (controlando parámetros como la temperatura o la actividad de agua del alimento) (Mustapha y Lee, 2017). Entre estos métodos, destacan las operaciones basadas en el aumento o disminución de la temperatura (Caicedo *et al.*, 2017); deshidratación (Hidalgo y Vargas, 2010); envasado en atmósfera modificada (Vicente, 2017); o el uso de aditivos (San Lucas y Cáceres, 2012), que reducen la máxima carga microbiana del alimento para generar alimentos más seguros (Jorquera *et al.*, 2015). Aunque los más aplicados en la industria alimentaria son los tratamientos físicos (Mustapha y Lee, 2017).

Generalmente, los tratamientos físicos son muy intensos y requieren un elevado coste (Berdejo *et al.*, 2019). Entre los métodos físicos, los tratamientos térmicos destacan por su eficacia al disminuir microorganismos presentes en los productos (Pérez-Reyes y Sosa-Morales, 2013), sin embargo, pueden alterar la calidad de los alimentos, disminuyéndola cuanto más severo sea el tratamiento, o

cambiando algunas de sus propiedades, pudiendo llegar a ser perceptibles por los consumidores (Villavicencio, 2007). En el artículo de Rawson *et al.* (2011), recopilaron ejemplos de cómo diferentes tratamientos térmicos habían afectado a los compuestos bioactivos de frutas y productos derivados de ellas. Los procesos a los que se sometieron fueron blanqueamiento a altas temperaturas, pasteurización, esterilización y secado. Los compuestos bioactivos que más se vieron afectados fueron antocianos, vitaminas (principalmente vitamina A y ácido ascórbico), carotenoides, flavonoides y compuestos fenólicos. Los resultados mostraron que estas pérdidas podrían ser provocadas por lixiviado o debido a que muchos compuestos, como los antocianos, son fitoquímicos sensibles al calor y se desnaturalizan. Además, algunas vitaminas, como el ácido ascórbico, son altamente termolábiles y se degradan al aplicar calor. Por tanto, se determinó que la descomposición térmica afecta considerablemente a los compuestos bioactivos de los alimentos.

En los últimos años, se ha observado que la combinación o sustitución de los tratamientos descritos anteriormente, tradicionales, con otro tipo de tratamientos, más novedosos, produce mayores efectos letales contra los microorganismos y menor pérdida de compuestos bioactivos (Berdejo *et al.*, 2019). Un posible resultado, derivado de la aplicación de estos tratamientos novedosos, es la creación de partículas que son incorporadas a la formulación de alimentos, actuando como aditivo.

Desde el punto de vista de los aditivos, los del tipo conservante son comúnmente utilizados para alargar la vida útil del producto (Dhawan *et al.*, 2018). Se dividen en tres subgrupos: antimicrobianos, antioxidantes y agentes antioscurecimiento (Carocho *et al.*, 2014). Según la *European Food Safety Authority* (EFSA), los antimicrobianos son sustancias que se usan para eliminar microorganismos (Neciosup *et al.*, 2015) o evitar que crezcan y se multipliquen (Mariani *et al.*, 2010; EFSA, 2016). Por tanto, debido a su poder antimicrobiano, actúan frente a virus (Stephen-Victor *et al.*, 2016), bacterias (España *et al.*, 2012), hongos (Hu *et al.*, 2014) y/o parásitos (Samoylenko *et al.*, 2009), pudiendo tener efecto frente a varios de ellos (Guardabassi y Courvalin, 2006; Mérillon, 2018). Sus aplicaciones son múltiples y no se basan únicamente en la industria alimentaria, ya que son utilizados ampliamente en industrias como medicina (Rojas *et al.*, 2006), industria farmacéutica (Gavini *et al.*, 2002), veterinaria (Ötker y Akmehmet-Balcioğlu, 2005), control de biopelículas (Francolini *et al.*, 2004), o incluso en el desarrollo de nuevos envases o películas con propiedades antimicrobianas (Irkin y Esmer, 2015; Alves *et al.*, 2019). Centrándonos en el campo alimentario, muchos productos se han testado *in vitro* e *in vivo*, y en el caso de resultar aprobados por la autoridad competente por ser efectivo y no tóxico, se ha implementado a escala industrial. Algunos de estos estudios se han realizado en carnes (Zapata *et al.*, 2019), lácteos (Cava *et al.*, 2007), frutas (Barba *et al.*, 2014), o zumos (Ibrahim *et al.*, 2008), en algunos casos evaluando su efectividad combinando varios tratamientos.

Investigadores de todo el mundo han puesto su énfasis en estudiar el método de acción de los antimicrobianos, observando si existe un efecto sinérgico al combinar varios de ellos, cómo actúan grupalmente por familias, e incluso cada uno de los compuestos de forma individual (Betancourt *et al.*, 2015; Araya, s.f.).

Por tanto, se han propuesto los siguientes modos de acción. El primero consiste en la alteración de la membrana plasmática que puede causar fugas del contenido celular, interferencia con el transporte activo o enzimas metabólicas, o disipación de la energía en forma de ATP. Este es el caso de los péptidos antimicrobianos. Wang *et al.* (2016) estudiaron estos compuestos, cuyo método de acción antimicrobiana consistió en modificar la permeabilidad de la membrana celular causando la destrucción de células fúngicas. También se puede modificar la permeabilidad de la membrana y alterar su estructura a través de la interacción con proteínas de membrana, como sucede con el terpeno carvacrol. *Escherichia coli*, en presencia de este compuesto, produce elevadas cantidades de proteína de choque térmico, que inhibe significativamente la proteína flagelina, haciendo que las células se inflamen y no sean móviles (Burt *et al.*, 2007). Además, pueden inhibir la oxidación del

dinucleótido nicotinamida adenina en su forma reducida, eliminando los suministros de agentes reductores a los sistemas de transporte de electrones. Este es el caso de los ácidos débiles, que inhiben su oxidación, aunque no inhiben el consumo de oxígeno celular (Eklund, 1980). Sin embargo, a pesar del interés y de las diversas publicaciones de los investigadores que hablan sobre los mecanismos antimicrobianos, anteriormente descritos, su modo de acción todavía no es completamente conocido debido a los múltiples factores que afectan, como pueden ser la combinación entre antimicrobianos o la compatibilidad con la matriz alimentaria (Taylor, 2014).

Los antimicrobianos se pueden categorizar en naturales y sintéticos. Estos últimos son aquellos que se obtienen mediante transformaciones químicas. El artículo de Shwaiki *et al.* (2020) muestra un ejemplo de este tipo de antimicrobianos, donde sintetizaron el péptido Snakin-1 basado en la secuencia de aminoácidos de su péptido natural existente en la patata. En este contexto, se comprobó su efecto en diversas bebidas, demostrando su eficacia contra levaduras y su potencial como conservante.

La tipología es diversa: destacando los nitratos y nitritos que se utilizan en la industria cárnica, actuando como antimicrobianos, como antioxidantes debido a que secuestran el oxígeno, y como estabilizante del color de la carne (Honikel, 2008); o el anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), compuesto ampliamente utilizado en la vinificación, ya que minimiza la velocidad de polimerización fenólica y la pérdida de color durante el envejecimiento del vino (Santos *et al.*, 2012), entre otros ejemplos.

Sin embargo, hay diferentes problemáticas relacionadas con el consumo de conservadores artificiales. Además, el consumo de conservadores químicos en grandes cantidades, genera problemas en la salud de los consumidores por presentar actividad toxicológica (Ruiz-Rico *et al.*, 2018). Este es el caso de los aditivos fosfóricos, que pueden incrementar el riesgo de mortalidad en individuos con enfermedad renal crónica (Gozálbez *et al.*, 2018), o el aumento de asma o alergias que provocan algunos de ellos (Tabar *et al.*, 2003).

Del mismo modo, algunos de los antimicrobianos sintéticos presentan un inconveniente, y es el desarrollo de resistencias. Según EFSA (2016), la resistencia a los antimicrobianos (RAM) se refiere a la capacidad de los microorganismos para resistir los tratamientos antimicrobianos. La RAM se puede desarrollar por evolución vertical, es decir, a través de mutaciones que derivan en resistencia a antibióticos y que se transmiten a las generaciones siguientes; o por evolución horizontal, en la cual los genes son adquiridos de otras bacterias (por conjugación, transducción o transformación) y se transmite a la progenie. En los últimos años, la constante exposición y el uso excesivo o incorrecto de los antimicrobianos sintéticos está produciendo que los microorganismos adquieran resistencia a ellos, dejando de ser eficaces (Sommer *et al.*, 2017; Camou *et al.*, 2017).

Ruiz-Roldán *et al.* (2018) analizaron las resistencias a antimicrobianos de la bacteria *Escherichia coli*, obtenida de distintas muestras de carne. Los resultados fueron que presentaba multiresistencia a los antimicrobianos sintéticos trimetoprima-sulfametoxazol, ampicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico, ciprofloxacino y cloranfenicol, siendo los niveles particularmente altos en pollo y cerdo. Por otra parte, Quesada *et al.* (2018) aislaron *Salmonella spp.* en alimentos de origen animal, principalmente de origen avícola, porcino y vacuno. Las conclusiones fueron que esta bacteria presentaba resistencia a ácido nalidíxico, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacina y cefalosporinas. Según la OMS, el enorme uso de éstos en la producción de alimentos y su amplia liberación involuntaria en el medio ambiente, ha provocado resistencias y ha supuesto consecuencias negativas para la salud pública (OMS, 2020).

La aparición de microorganismos, incluso de agentes patógenos, resistentes a antibióticos ha provocado que algunas enfermedades sean difíciles de tratar (Hassan *et al.*, 2012). Además, existe una creciente preocupación de la población por una alimentación natural, con la menor cantidad de compuestos químicos industriales (Gyawali e Ibrahim, 2014). Esto conlleva a un desafío y una

necesidad de encontrar nuevos antimicrobianos (Rai *et al.*, 2017), produciendo un retorno de lo químico a lo natural. Así pues, se genera la necesidad de buscar otro tipo de compuestos alternativos, que tengan similares propiedades antimicrobianas y la misma compatibilidad con el alimento (Sauceda, 2011), usándose antimicrobianos naturales como alternativa a los sintéticos (Yu *et al.*, 2010; Aziz y Karboune, 2018).

Los antimicrobianos naturales son compuestos extraídos de plantas, tejidos animales, microorganismos o minerales; no son obtenidos por síntesis química; y son aptos para la biopreservación ya que mantienen sus propiedades antimicrobianas (Pisoschi *et al.*, 2018a). En este contexto, Maazoun *et al.* (2019) estudiaron las propiedades antibacterianas del extracto del bulbo de la planta *Urginea marítima*, mostrando ser efectivo para el control de cepas de patógenos transmitidos por alimentos.

Por tanto, muchos antimicrobianos naturales han sido ampliamente estudiados para proteger la calidad de los alimentos (Juneja *et al.*, 2012). Sin embargo, su dosificación directa al producto no es un método muy eficaz ya que presenta ciertas limitaciones. Por un lado, sus propiedades fisicoquímicas hacen, en ocasiones, que sean incompatibles con la matriz alimentaria. Por otro lado, algunos antimicrobianos naturales aportan demasiados atributos al producto final y no son tan utilizados por su elevado impacto sensorial, junto a que son poco estables por ser muy volátiles, y poco solubles en agua por ser hidrofóbicos. Esto genera demasiado impacto sensorial e ineficacia que hace que sean rechazados por el consumidor. (Ben-Fadhel *et al.*, 2019).

En contraposición a estas desventajas, un método utilizado es la encapsulación, ya que soluciona estos inconvenientes que presenta la dosificación directa. La encapsulación consiste en atrapar un componente dentro de cápsulas con un fin tecnológico, y distribuir las uniformemente por la matriz alimentaria. Los componentes bioactivos del interior se pueden encontrar de forma sólida, líquida o gas (Assadpour *et al.*, 2017). Gracias a este método se pueden minimizar o enmascarar atributos de los antimicrobianos como el sabor, se puede mejorar su estabilidad y su actividad antimicrobiana, entre otras ventajas (Granata *et al.*, 2018; Donsi *et al.*, 2011).

Existen diversos sistemas que nos garantizan una encapsulación eficaz. Se pueden clasificar en orgánicos, en los cuales encontramos emulsiones, liposomas, partículas sólidas lipídicas y fibras, e inorgánicos, donde se encuentran las arcillas, partículas de sílice mesoporosas y zeolitas (McClements y Xiao, 2017). Además, siguen apareciendo sistemas emergentes como son los agregados de cápsulas multi-ensamblados, y las cápsulas de doble capa.

De este modo, la combinación de los tratamientos físicos, químicos y biológicos junto con la encapsulación, ha mejorado la eficacia de los tratamientos. En este contexto, la aplicación de esta técnica ha favorecido la reducción de los tiempos, presiones y temperaturas (tratamientos físicos); reducción de la adición de compuestos químicos (tratamientos químicos); y reducción de las concentraciones de antimicrobianos, reduciendo, por un lado, el impacto de estos tratamientos sobre las características fisicoquímicas y, por otro, aumentando la vida útil de los alimentos.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo consiste en identificar los principales sistemas de encapsulación de antimicrobianos naturales que utilizan sistemas nano y microestructurados como soporte, además de las técnicas empleadas para conseguir la efectiva encapsulación del compuesto. Por otro lado, es objetivo del trabajo revisar los estudios recientes de encapsulación de antimicrobianos naturales para su uso en tecnología de alimentos.

Para lograr estos objetivos generales, se han propuesto los siguientes objetivos específicos:

- Describir las principales familias de antimicrobianos naturales, centrándose en los compuestos de interés en la industria alimentaria.
- Identificar las principales estrategias actuales de encapsulación de antimicrobianos en estructuras nano y micrométricas.
- Recopilar los principales estudios de encapsulación de antimicrobianos naturales con potencial aplicación en tecnología de alimentos.

## 3. METODOLOGÍA

La metodología utilizada para la actual revisión ha sido la realización de una búsqueda de documentación científica (libros, artículos, tesis...) utilizando buscadores web de plataformas digitales como Google Scholar, Polibuscador de la UPV, SciFinder y Scopus, así como páginas webs de organismos nacionales e internacionales.

La primera fase ha consistido en una búsqueda basándose en las palabras clave de este trabajo *natural antimicrobials, encapsulation, nano and microstructures, microorganisms, food*; relacionándolas con en el título y las palabras clave del propio documento de objetivo de búsqueda. De este modo se tiene conocimiento de la posible relación con el objetivo y tema principal del trabajo. Seguidamente, si el título era de interés, se ha leído el apartado del resumen y las conclusiones, para tener una mayor concreción de la información y asegurar el interés del documento.

Una vez obtenidos todos los documentos relevantes de esta primera búsqueda, se procesó la información y se estructuró el trabajo. Este proceso de búsqueda se realizó varias veces con el objetivo de ampliar la información necesaria para desarrollar ciertos temas. Por otro lado, en los ejemplos de las familias de antimicrobianos **Tabla 1** y **Tabla 2**, se han analizado artículos recientes, comprendiendo el rango de fecha de publicación de entre 2016 y el 2020 y siempre que cumpliera las siguientes premisas: que la investigación involucrara la encapsulación de un antimicrobiano y que existiera posibilidad de incorporación del sistema a una matriz alimentaria.

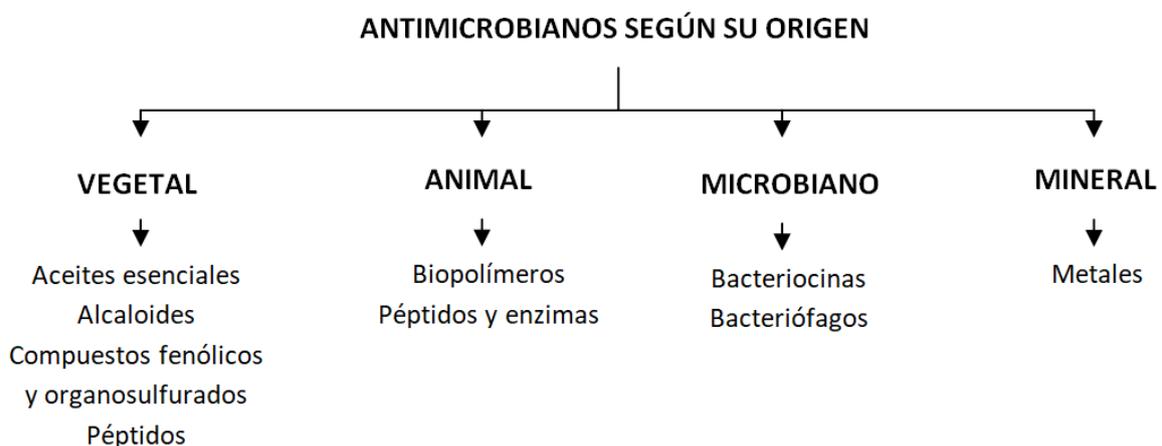
## 4. RESULTADOS

### 4.1 Antimicrobianos naturales: tipos y propiedades

Los agentes antimicrobianos naturales son compuestos extraídos de la propia naturaleza y son capaces de disminuir o eliminar microorganismos patógenos o alternantes de los alimentos y, en consecuencia, prevenir el deterioro de los mismos (Saeed *et al.*, 2019; Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018). Por ello, actualmente se están investigando como alternativa a los antimicrobianos sintéticos con el objetivo de garantizar la inocuidad y calidad alimentaria (Aloui y Khwaldia, 2016).

La actividad antimicrobiana de muchos de estos antimicrobianos naturales es debida a la presencia de metabolitos secundarios que se forman en defensa a los ataques de parásitos, hongos, bacterias y virus, y por ello es interesante su uso contra estos. Los principales metabolitos secundarios son: alcaloides, acetilenos, cumarinas, flavonoides e isoflavonoides, iridoides, lignanos, macrólidos, fenólicos (que no sean flavonoides y lignanos), polipéptidos, quinonas, saponinas esteroides, terpenoides, xantonas, y compuestos diversos (Saleem *et al.*, 2010).

Los antimicrobianos naturales pueden ser obtenidos de materias primas de origen vegetal, animal, microbiano o mineral (Saeed *et al.*, 2019; Taylor, 2014; Srinivasan *et al.*, 2001). Dentro de estos cuatro grupos, existen diversas familias de estos compuestos que son utilizadas en alimentos por su potencial antimicrobiano. En cuanto a los de origen vegetal, se encuentran los aceites esenciales, los alcaloides, los compuestos fenólicos, los compuestos organosulfurados y los péptidos. En cuanto a los de origen animal, podemos encontrar desde biopolímeros hasta péptidos o enzimas. En los de origen microbiano destacan las bacteriocinas y los bacteriófagos. Por último, destacar los metales como antimicrobianos de origen mineral (Tiwari *et al.*, 2009; Juneja *et al.*, 2012; Davidson *et al.*, 2013). La **Figura 1** resume los principales tipos de antimicrobianos agrupados en función de su origen.



**Figura 1.** Clasificación por familias de antimicrobianos según su origen.

A continuación, para cada una de las categorías de antimicrobianos, se describen ejemplos de moléculas concretas donde se ha demostrado un potencial uso como antimicrobiano dentro del campo en la alimentación, así como estudios recientes donde la encapsulación de los mismo una mejora en su efectividad, compatibilidad con el alimento...

#### 4.1.1 Antimicrobianos de origen vegetal

Los agentes antimicrobianos de origen vegetal son aquellos que se extraen de plantas y especias. Químicamente, estos compuestos son principalmente terpenos, cumarinas y flavonoides que dotan a estos la capacidad de biopreservar (Weiss *et al.*, 2009). En esta categoría destacan principalmente por su amplio uso en tecnología de alimentos, los aceites esenciales de plantas y especias, los compuestos fenólicos y los péptidos. Los antimicrobianos derivados de plantas requieren concentraciones más altas *in vivo* que las que se utilizan en estudios *in vitro*, ya que estos pueden interferir a lípidos, proteínas o carbohidratos de la matriz alimentaria (Alarcón-Moyano y Matiacevich, 2019).

**Aceites esenciales y terpenos.** Los aceites esenciales son extractos lipofílicos de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana contra varios microorganismos, que han crecido más en publicaciones de investigación y aplicaciones industriales en los últimos años (Hyldgaard *et al.*, 2012). La *International Organization for Standardization* (ISO) define aceite esencial como “producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos del epicarpio de los frutos cítricos, o por destilación seca, después de la separación de la fase acuosa, si la hubiera, mediante procesos físicos” (ISO 9235:2013, 2014). Se han estudiado las actividades biológicas de los aceites esenciales como antifúngicos, antioxidantes y antibacterianos, entre otros (Espina *et al.*, 2011; Jing *et al.*, 2014). Los terpenos son sus componentes principales que le confieren actividad antimicrobiana (Guimarães *et al.*, 2019).

Los aceites esenciales podrían ser una alternativa a los antimicrobianos o conservadores sintéticos, ya que poseen elevada actividad antimicrobiana (Hernandez *et al.*, 2019) que se ha atribuido a sus compuestos fenólicos, especialmente terpenos. La interacción de estos compuestos con las membranas de las células microbianas, causan la fuga de iones y contenido citoplasmático, y, por tanto, pueden conducir la descomposición y lisis celular de las bacterias (Burt, 2004; Ruiz-Rico *et al.*, 2018; Khorshidian *et al.*, 2018). Por otro lado, generalmente presentan mayor eficacia frente a bacterias gram positivas que a gram negativas, debido a la capa de lipopolisacáridos que presentan estas últimas, actuando de barrera adicional (Khorshidian *et al.*, 2018).

Este enfoque puede correlacionarse con los demás mecanismos de actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, es decir, (1) deterioro de los recubrimientos celulares, (2) despolarización de la membrana plasmática, (3) polimorfismo lipídico alterado, (4) interacción con las proteínas de membrana en bacterias gram negativas, (5) alteración de los procesos respiratorios, (6) coagulación del material citoplasmático, (7) inhibición de la histidina descarboxilasa, (8) agotamiento del ATP intracelular y (9) supresión de toxinas microbianas (Hyldgaard *et al.*, 2012).

En el artículo de Mulla *et al.* (2017) se evaluó la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de clavo incorporado en películas de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) en pollo picado. Los resultados indican que inhibió completamente el crecimiento de *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* en el quinto día de almacenamiento, reduciendo la carga microbiana inicial de 2 a 3 ciclos logarítmicos (log UFC) a diferencia de la película LLDPE sin antimicrobiano. Además, los resultados mostraron que, la película en la cual estaba encapsulado el aceite esencial, impidió crecimiento de estas bacterias durante un periodo posterior a 21 días. Por su parte, Kwon *et al.* (2017) demostraron que el aceite esencial de orégano es efectivo contra *Salmonella enterica* en tomates cherry durante 7 días de almacenamiento, utilizando una concentración de 2-3 % de aceite esencial. Además, la evaluación sensorial de los tomates tratados reveló que la adición del aceite esencial encapsulado no tuvo impacto sobre las características organolépticas.

**Alcaloides.** Los alcaloides son compuestos heterocíclicos con nitrógeno en la molécula (Olejníková *et al.*, 2017) formados durante el metabolismo secundario de las plantas (Di Marco *et al.*, 2019). Entre sus propiedades destacan su efecto antimicrobiano, antiinflamatorio, antioxidante,

anticancerígeno y neuroprotector (Romeo *et al.*, 2018). Además, se ha demostrado que algunos de ellos inhiben la formación de biopelículas bacterianas (Carvalho *et al.*, 2019).

En el estudio de Romeo *et al.* (2018), se observaron las características antimicrobianas de los alcaloides de tres plantas del género *Lupinus* (*Lupinus albus* L., *Lupinus luteus* L., y *Lupinus angustifolius* L.) contra *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los alcaloides encontrados fueron lupanina, 13 $\alpha$ -hidroxilupanina, y angustifolina, entre otros. Además, estos compuestos mostraron una actividad significativa contra *Klebsiella pneumoniae* y una actividad moderada contra *Pseudomonas aeruginosa*, obteniendo unos valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) entre 16 y 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . La CMI es la concentración más baja necesaria del antimicrobiano que inhibe totalmente el crecimiento del microorganismo (Khasiri *et al.*, 2017). Por otra parte, Di Marco *et al.* (2020) comprobaron la capacidad antimicrobiana de diversos alcaloides contra *Yersinia enterocolitica*. Los alcaloides con mayor poder inhibitorio del crecimiento de las bacterias objetivo de estudio a una dosis de 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$  fueron oliverina, guatterina, liriodenina, oliveridina y paquipedantina, superando un 87% de inhibición de la biopelícula de *Yersinia enterocolitica*, pudiendo evitar de este modo la transmisión de esta bacteria por alimentos.

**Compuestos fenólicos.** Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se caracterizan por la presencia de al menos un anillo aromático, con uno o más hidroxilos y se encuentran ampliamente en los vegetales. Se pueden clasificar en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos, cumarinas, y polímeros de tanino (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019; Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018; Guil-Guerrero *et al.*, 2016).

Los compuestos fenólicos se unen gracias a sus grupos hidróxido (OH) a la membrana celular, produciendo una interrupción en ésta y provocando la pérdida de su contenido celular. También pueden provocar la deslocalización de electrones, generando la despolarización de la membrana (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019).

Ouerghemmi *et al.* (2017) evaluaron la actividad antibacteriana de los compuestos fenólicos de *Ruta chalepensis*. Durante su estudio, estos autores observaron que el contenido de polifenoles, flavonoides y taninos era similar en diferentes órganos de la planta, y que, entre las diferentes especies químicas presentes en los extractos vegetales estudiados, destacaban el ácido vanílico y la cumarina. Además, el extracto del tallo de *Ruta chalepensis* salvaje, presentó diámetros de inhibición de 16.3 mm y 17.7 mm contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, valores que se aproximaron a la zona de inhibición del antibiótico sintético gentamicina. A partir de estos resultados, se concluyó que estos extractos podrían reemplazar a los antimicrobianos sintéticos, además de ser una fuente potencial de agentes antibacterianos en la industria alimentaria. En el estudio de Fu *et al.* (2016), se detectó actividad antimicrobiana en el caqui, la guayaba y la anona, debido a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en ellos. Además, se comprobó dicha actividad contra 8 bacterias de cepas estándar y contra 4 cepas resistentes a múltiples fármacos. Los resultados fueron que las tres frutas tenían poder antibacteriano, pero solo la guayaba mostraba una actividad significativa contra las cepas resistentes.

**Compuestos organosulfurados.** Los compuestos organosulfurados son aquellos que contienen en su estructura uno o más enlaces carbono-azufre. Se encuentran en altas concentraciones en los géneros de planta *Allium* y *Brassica*, especialmente los tiosulfatos (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018).

El compuesto que proporciona la actividad antibacteriana es la aliina, que durante el almacenamiento o cocción se convierte en alicina. La alicina es eficaz contra bacterias gram positivas y negativas, y reacciona con las L-cisteínas formando S-alilmercaptocisteína. Esta reacción provoca la inhibición de enzimas bacterianas, actuando como bacteriostático o bactericida contra diversos microorganismos (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018).

Liaqat *et al.* (2019) estudió el potencial de la alicina y otros compuestos organosulfurados y fenólicos en distintas variedades de ajo. Estos componentes inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Además, pueden ser utilizados en productos cárnicos y en pescado por sus propiedades como antimicrobiano, antioxidante, y la inhibición en la formación de biopelículas. Gracias a sus propiedades, se puede utilizar tanto en los alimentos, como en los equipos utilizados para su procesamiento.

**Péptidos.** Los péptidos están formados por la unión de varios aminoácidos, y son producidos por prácticamente todos los organismos vivos (Kereszt *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2016). En los últimos años se ha demostrado que algunos son efectivos contra bacterias, tanto gram positivas como gram negativas, e incluso contra virus y hongos (Zasloff, 2002).

Arulrajah *et al.* (2020) fermentaron la planta kenaf debido a su potencial como sustrato para generar péptidos. El resultado fue una alta actividad antibacteriana contra *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus pyogenes*, siendo más efectivas contra bacterias gram positivas. Esta última afirmación deriva del valor obtenido en cuanto a la concentración mínima bactericida (CMB), que fue el doble para bacterias gram negativas (8.000 µg/mL) que gram positivas (4.000 µg/mL). Esto puede ser debido a que las bacterias gram positivas poseen una membrana externa permeable que dificulta la penetración de los péptidos. La CMB es la concentración necesaria de antimicrobiano para no observar crecimiento del microorganismo (Khasiri *et al.*, 2017). En el artículo de Jabeen *et al.* (2017) se estudió un péptido antibacteriano obtenido del melón amargo contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. El estudio reveló que *Staphylococcus aureus* fue la cepa más sensible, ya que el péptido, con una concentración de 200 µg, redujo un 57% el crecimiento de esta bacteria. Además, la reducción, también con 200 µg de péptido, para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa* fue de 49%, 29% y 18% respectivamente. Se concluyó que puede usarse como bioconservante para productos cárnicos picados.

#### 4.1.2 Antimicrobianos de origen animal

En este grupo destacan como agentes antimicrobianos los péptidos y las enzimas debido a que son esenciales como sistemas de defensa inespecíficos de los animales (Tiwari *et al.*, 2009). Además, también son utilizados los biopolímeros, principalmente para su uso en envases alimentarios o como agentes encapsulantes (Arias-Rios *et al.*, 2017).

**Biopolímeros.** Los polímeros naturales son macromoléculas presentes en los seres vivos donde se incluyen polisacáridos, como el alginato; proteínas, como la gelatina; y lípidos, como los glicéridos (Al-Tayyar *et al.*, 2020). En este grupo cabe destacar el quitosano, ya que es uno de los biopolímeros naturales con actividad antimicrobiana más importante por su uso en la industria alimentaria.

El quitosano es un polisacárido natural que se obtiene del exoesqueleto de los crustáceos. Numerosos estudios han demostrado que tiene propiedades antimicrobianas. Su poder antimicrobiano depende del peso molecular y del grado de deacetilación (Bano *et al.*, 2017). Además de estos factores intrínsecos, su acción depende del tipo de microorganismo, siendo más efectivo contra bacterias gram positivas. Asimismo, posee la ventaja de ser biodegradable y no tóxico; además de poseer actividad antimicrobiana y antioxidante, por lo que resulta de amplia aplicación en la industria alimentaria gracias a su capacidad de formar películas, sus altas propiedades de barrera a gases que benefician su uso en envases para evitar la entrada de oxígeno y el deterioro del producto. (Zhang *et al.*, 2020; Arias-Rios *et al.*, 2017). Respecto a su acción antimicrobiana, diversos estudios proponen que los mecanismos de acción podrían ser que el quitosano se une al ADN de la bacteria

objetivo, inhibiendo la formación de ARN, o que la interacción con las moléculas de la superficie de la membrana de la célula, provoca su lisis (Ma *et al.*, 2017; Goy *et al.*, 2009).

Gomes *et al.*, 2019 estudiaron las propiedades que exhibía el quitosano para la formación de películas, obteniendo recubrimientos homogéneos con una mayor resistencia mecánica y rigidez al utilizar nanopartículas de quitosano. Además, se evaluó la actividad antimicrobiana contra bacterias gram negativas (*Escherichia coli*) y gram positivas (*Staphylococcus aureus*), exhibiendo un valor de CMI y CMB de 200-400 µg/mL contra *Escherichia coli*, por otro lado, se observó un aumento de la capacidad antibacteriana en las partículas de quitosano de menor tamaño.

**Péptidos y enzimas.** La mayoría de los péptidos de origen animal son compuestos anfipáticos, con regiones polares y apolares, y catiónicos, es decir, cargados positivamente, y su modo de acción antimicrobiano consiste en la disrupción de la membrana de la célula (Thery *et al.*, 2019). Es decir, interactúan con la membrana, causándoles daño intracelular, por medio de la inactivación de enzimas o por la inhibición de la síntesis de ADN, proteínas o pared celular (Arias-Rios *et al.*, 2017; Scocchi *et al.*, 2016). En cambio, las enzimas son proteínas solubles que actúan como biocatalizadores de reacciones químicas, y que son interesantes en la industria alimentaria ya que las reacciones enzimáticas que producen son altamente selectivas y eficaces (Fernández-Lucas *et al.*, 2017).

Algunos ejemplos de péptidos de origen animal son las catelicidinas que se encuentran en la leche (Arias-Rios *et al.*, 2017); las defensinas que son efectivas contra virus, bacterias y hongos (Mattar *et al.*, 2016); o las hepsidinas que son antimicrobianas y regulan el hierro en sangre, para que no sea excesiva su concentración (Xie *et al.*, 2019). A modo de ejemplo, la pleurodicina es un péptido que pertenece a las catelicidinas, que contiene actividad antimicrobiana frente a bacterias, gram positivas y gram negativas, hongos, y que, además, inhibe la formación de biopelículas (Ko *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2016).

Otro péptido importante en alimentos es la lactoferrina, que es una glucoproteína monomérica con una cadena polipeptídica. Este péptido produce cambios beneficiosos en la microbiota intestinal, efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios y anticancerígenos, y es efectiva contra los patógenos entéricos (Bourbon *et al.*, 2019; Arias-Rios *et al.*, 2017). Además, se afirma que ha sido utilizada en la industria cárnica, vitivinícola y láctea, entre otras, como conservante natural por inhibir bacterias patógenas (Duran y Kahve, 2017). De su misma familia es la ovotransferrina, que es una glucoproteína monomérica contenida en la clara del huevo. Ambos compuestos inhiben el crecimiento de las bacterias debido a sus propiedades quelantes. Concretamente, la lactoferrina y la ovotransferrina se unen al hierro (Fe<sup>3+</sup>), compuesto que es esencial para el desarrollo y la realización de acciones metabólicas de las bacterias, y de este modo, no queda disponible para el microorganismo y su crecimiento (Kim *et al.*, 2016; Min *et al.*, 2005).

Más recientemente, Dang *et al.* (2020) extrajeron y purificaron péptidos del insecto *Musca domestica*. Las conclusiones fueron que estos péptidos fueron eficaces para inhibir el crecimiento de bacterias en carne de cerdo refrigerada y prolongar hasta 6 días su vida útil, pudiéndose utilizar como conservante natural. Los valores de la CMI obtenidos contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y una mezcla de las cuatro bacterias fueron 400, 600, 400, 800 y 800 µg/mL, respectivamente.

En cuanto a las enzimas, existen varios ejemplos destacables en la industria alimentaria. Un ejemplo es la lisozima, una proteína que se puede encontrar libremente de forma soluble o dentro de leucocitos y lisosomas. Es un bactericida natural, así como bacteriostático y antiviral (Silvetti *et al.*, 2017), que es capaz de producir efectos sinérgicos con otras proteínas e inhibe una amplia variedad de microorganismos, siendo efectiva principalmente contra gram positivas (Arias-Rios *et al.*, 2017; Benelhadj *et al.*, 2016). El mecanismo de acción de la lisozima consiste en hidrolizar enlaces β-1,4

entre el ácido N-acetilmurámico y los residuos de 2-acetil-amino-2-desoxi-D-glucosa del peptidoglucano de la pared celular bacteriana, provocando la lisis de su pared celular (Silveti *et al.*, 2017; Min *et al.*, 2005).

Finalmente, la lactoperoxidasa es una glucoproteína que contiene 608 aminoácidos (Al-Baarri *et al.*, 2018). Es un antimicrobiano natural que se encuentra abundantemente en las secreciones naturales como la saliva o la leche (Arias-Rios *et al.*, 2017; Min *et al.*, 2005). Su mecanismo de acción antimicrobiano se atribuye a que cataliza la oxidación del ion tiocianato (SCN<sup>-</sup>), generando productos oxidantes como el hipotiocianito (OSCN) y el ácido hipotiocianoso (HOSCN), que oxidan los grupos sulfhidrilo (SH) de enzimas microbianas y otras proteínas, inhibiendo al microorganismo y provocando su muerte (Nakano *et al.*, 2017; Min *et al.*, 2005).

#### 4.1.3 Antimicrobianos de origen microbiano

Respecto a los antimicrobianos sintetizados a partir de microorganismos, como se describe en la presente sección, la mayoría de los mismos son creados por las bacterias ácido-lácticas en procesos de fermentación, pudiendo extraerse de alimentos fermentados para su uso en otras matrices (Kumariya *et al.*, 2019; De Vuyst, y Leroy, 2007; Ren *et al.*, 2018).

**Bacteriocinas.** Las bacteriocinas son moléculas antimicrobianas proteicas con un origen genético diverso, modificado postraduccionalmente o no (Alvarez-Sieiro *et al.*, 2016) sintetizadas a partir de bacterias (Tumbariski *et al.*, 2018). Químicamente, son proteínas o péptidos capaces de inhibir tanto bacterias gram positivas como gram negativas utilizando múltiples modos de acción. Entre ellos se puede citar que son capaces de intervenir en la formación de la pared celular, alterar la membrana citoplasmática, inhibir la síntesis de proteínas, interferir en la replicación y transcripción de ADN, o en la formación del septo (Porto *et al.*, 2017; Cavera *et al.*, 2015).

Algunas bacteriocinas más conocidas son la nisina, la pediocina, la reuterina y la natamicina, y están clasificadas como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) por la FDA (*Food and Drug Administration*). La nisina es producida por la bacteria *Lactococcus lactis*. Además, está autorizada en muchos países ya que no es tóxica y es estable al calor, propiedades que han permitido que se integre en muchos productos alimenticios como conservante (Santos *et al.*, 2018b). En el caso de la pediocina, es producida por *Pediococcus* spp., y tiene efecto antimicrobiano incluso en cantidades nanomolares (Porto *et al.*, 2017). La reuterina se produce por la conversión del glicerol y una de las bacterias que la excretan es *Lactobacillus reuteri* (Vimont *et al.*, 2019). La natamicina es un polieno antifúngico de la especie *Streptomyces*, que aparece durante la fermentación (He *et al.*, 2019). En la industria alimentaria se utiliza para la conservación de muchos productos como el queso o vino (Serafini *et al.*, 2019).

Woraprayote *et al.* (2018) analizaron el uso de la bacteriocina 7293 de *Weissella hellenica* en envases para filetes de pescado de panga. El resultado fue muy positivo debido a que fue efectiva contra bacterias gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) y gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* y *Salmonella Typhimurium*), disminuyendo 2 a 5 ciclos logarítmicos el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por centímetro cuadrado en comparación con el envase sin la bacteriocina. Por otro lado, la bacteriocina LIN333 producida por *Lactobacillus casei* fue estudiada por Ullah *et al.* (2017). Resultó mostrar capacidad antimicrobiana contra bacterias gram positivas, gram negativas patógenas y bacterias resistentes a antibióticos. La CMI para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fue de 15 µg/mL, mostrando un buen potencial como conservante alimentario.

**Bacteriófagos.** Los bacteriófagos son virus que tienen la capacidad de infectar bacterias tanto gram positivas como gram negativas. Además, son compuestos muy versátiles que se pueden utilizar

a lo largo de toda la cadena alimentaria (Martínez *et al.*, 2019). Algunos estudios afirman que la coevolución de los bacteriófagos y sus huéspedes bacterianos hace que sea poco probable el desarrollo de resistencias (Kovalskaya *et al.*, 2019; Rodríguez-Rubio *et al.*, 2013). Existen muchos ejemplos de bacteriófagos, como el fago M13 (Saha y Mukherjee, 2019), el fago T4 (Junka *et al.*, 2019) o el ST02 (Thung *et al.*, 2019).

Thung *et al.* (2019) evaluaron la efectividad del bacteriófago ST02 de *Salmonella typhimurium* contra estas mismas bacterias de diferentes cepas, con un periodo de latencia de 15 minutos. Este antimicrobiano fue capaz de reducir las cepas objetivo aproximadamente 2 ciclos logarítmicos, sirviendo como antimicrobiano natural para reducir la salmonelosis en alimentos. Por su parte, Akhtar *et al.* (2017) aislaron 37 fagos de *Listeria monocytogenes*. Además, se seleccionaron algunos de ellos para una evaluación adicional, mezclando 6 fagos líticos para inactivar un cultivo mixto de cinco cepas de *Listeria monocytogenes*. Los resultados fueron que en 30-60 minutos los fagos ya habían producido la lisis de las células bacterianas.

#### 4.1.4 Antimicrobianos de origen mineral

En este grupo destacan las partículas con capacidad antimicrobiana que se obtienen de los diferentes minerales que se encuentran en la naturaleza. Incluso a concentraciones bajas, se ha demostrado una alta inhibición de bacterias, hongos y protozoos por este tipo de antimicrobianos.

**Metales.** Las partículas metálicas utilizadas principalmente en alimentos son las de cobre, oro y plata. El cobre es un potente antimicrobiano que se utiliza para desinfectar las superficies de los hospitales, pero también se ha mostrado su potencial contra el control de patógenos, como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, o *Listeria monocytogenes*, en la industria alimentaria (Akhidime *et al.*, 2019; Parra *et al.*, 2018).

Las partículas de oro muestran capacidad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* (Pandit *et al.*, 2017). Las de plata también son utilizadas por sus propiedades antimicrobianas, siendo más efectivas contra bacterias gram negativas que gram positivas (Witzler *et al.*, 2016; Pandit *et al.*, 2017).

En el estudio de Li *et al.* (2017) se observó la capacidad antimicrobiana de películas de polilactida (PLA) con titanio y plata. Los resultados fueron que estas mezclas mostraron una buena actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. Estas nanopartículas utilizadas en la película consiguieron reducir a 4.35 ciclos logarítmicos el número de UFC de *Escherichia coli* y 4.75 ciclos logarítmicos el número de UFC de *Listeria monocytogenes*, utilizando polilactida y titanio al 1%. Por otro lado, la utilización de polilactida, titanio al 1% y plata, consiguió disminuir *Escherichia coli* 3.93 y 3.88 ciclos logarítmicos de UFC contra *Listeria monocytogenes*.

## 4.2 Limitaciones de la aplicación directa de antimicrobianos naturales en tecnología de alimentos

Los antimicrobianos naturales altamente citados dosificados directamente al alimento pueden presentar cierta problemática. Algunos antimicrobianos, como los aceites esenciales, son muy volátiles. Su incorporación directa provoca que se pierdan las características propias del alimento. Asimismo, presentan baja solubilidad en agua y son susceptibles de oxidarse, pudiendo perder su efecto antimicrobiano en la dosificación (Alocón-Moyano y Matiacevich, 2019; Bagheri-Darvish *et al.*, 2020).

Además, la adición del antimicrobiano al alimento provoca que se produzcan interacciones con el resto de los ingredientes, pudiendo afectar negativamente a la funcionalidad del antimicrobiano. La interrelación con los diversos componentes podría alterar su mecanismo de acción, como por ejemplo impidiendo la penetración en la membrana de la célula del microorganismo, sin conseguir destruirlo (Weiss *et al.*, 2009). Esto conllevó a la necesidad de encapsularlos o inmovilizarlos.

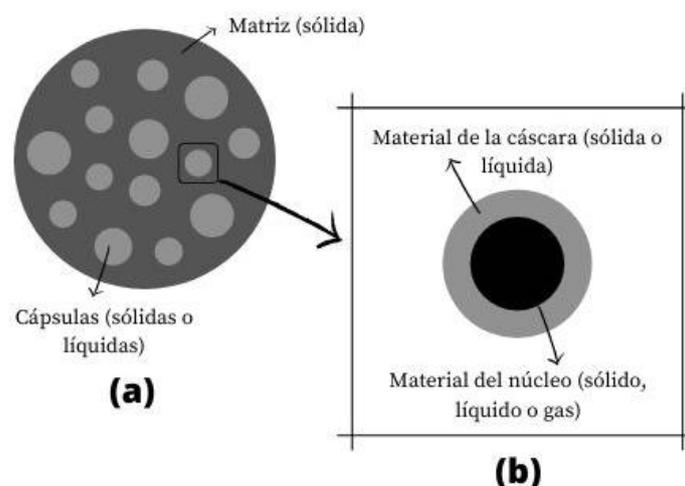
De este modo, emergió la encapsulación de diferentes compuestos, entre ellos los antimicrobianos, siendo un método que disminuye estas desventajas que presentan cuando se añaden directamente al producto. La encapsulación consiste en atrapar un componente en una sustancia inmiscible sólida o líquida, produciendo cápsulas con tamaños variados (Vinceković *et al.*, 2017), aumentando la vida útil de los alimentos (Medina, 2017), pero sin variar sus propiedades fisicoquímicas (Bagheri-Darvish *et al.*, 2020).

Esta tecnología proporciona una barrera física que protege a los compuestos encapsulados, asegurando su estabilidad en la matriz del alimento (Alarcón-Moyano y Matiacevich, 2019). Además, estos métodos favorecen la biodisponibilidad de los compuestos encapsulados (Assadpour *et al.*, 2017), disminuye las interacciones (Weiss *et al.*, 2009), y los protege de la degradación o volatilización (Becerril *et al.*, 2020).

Por tanto, la encapsulación resuelve todas estas limitaciones, mejorando la estabilidad físico-química del compuesto activo, y permitiendo una liberación controlada del mismo (Zanetti *et al.*, 2018).

### 4.3 Desarrollo de sistemas antimicrobianos para su uso en tecnología de alimentos basados en nano y microencapsulación.

La encapsulación es un proceso que permite insertar ingredientes bioactivos dentro de cápsulas para protegerlos del deterioro que le pueden causar las condiciones ambientales, como por ejemplo el pH, el oxígeno o la temperatura (Assadpour *et al.*, 2017; Comunian *et al.*, 2017). Los componentes que son encapsulados se pueden encontrar en partículas sólidas, gotas líquidas o burbujas de gas. Estas cápsulas se distribuyen uniformemente en una matriz homogénea de fase sólida (Vinceković *et al.*, 2017). Esto se puede observar de forma visual en la **Figura 2**.



**Figura 2.** (a) Matriz alimentaria con sistema de encapsulación y (b) ejemplo de cápsula de la matriz compuesta por el material de soporte y el ingrediente activo. Elaboración propia adaptada de Vinceković *et al.*, 2017.

La encapsulación no se utiliza únicamente con antimicrobianos, puesto que se han realizado estudios con probióticos (Librán *et al.*, 2017), micronutrientes (Dalmoro *et al.*, 2017), prebióticos (Poletto *et al.*, 2019), y otros compuestos. La encapsulación puede llegar a comprender el rango de nanómetros o micrómetros. La escala depende del tamaño de la partícula que se va a utilizar para encapsular.

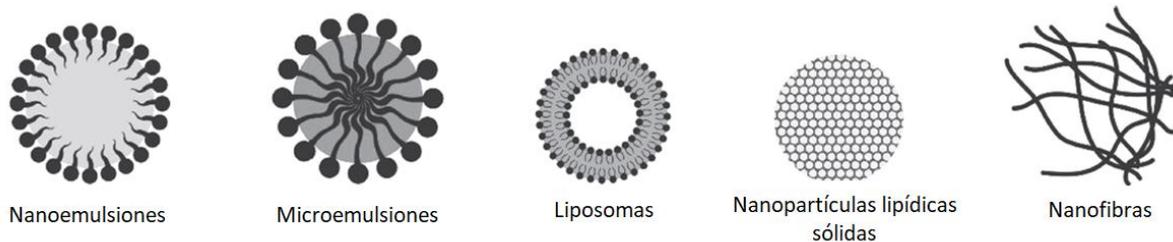
El nombre de nanoencapsulación es referido al uso de nanopartículas, que poseen diámetros de 1 a 100 nm, en aplicaciones alimentarias puede llegar el término hasta los 1.000 nm. En cambio, la microencapsulación utiliza partículas de un mayor tamaño, comprendiendo de 1 a 1.000  $\mu\text{m}$  (Pisoschi *et al.*, 2018b; Mourtzinou *et al.*, 2017). En comparación con las microcápsulas, la nanoencapsulación presenta mejor estabilidad física y química, mayor compatibilidad con las matrices de los alimentos, y permite el direccionamiento en superficies bacterianas (Weiss *et al.*, 2009). Además, proporciona una mayor área de superficie, y puede mejorar la eficacia y estabilidad de los ingredientes bioactivos sensibles (Zhang *et al.*, 2020). Los nanomateriales utilizados en alimentación pueden ser de dos tipos: orgánicos o inorgánicos (Pisoschi *et al.*, 2018b).

Las clasificaciones de estos sistemas son diversas puesto que se pueden diferenciar según la infraestructura específica que se utiliza (secado por aspersión, secado de lecho fluidizado...), los materiales usados (carbohidratos, lípidos o proteínas), los mecanismos fisicoquímicos involucrados (cocrystalización, emulsión, *cross-linking*...), o incluso se pueden clasificar según el costo (por ejemplo, la formación de microgeles es más barato que la coacervación), entre otros (Mourtzinou *et al.*, 2017; Vinceković *et al.*, 2017). En el presente trabajo se dividirán los sistemas de encapsulación en orgánicos (emulsiones, liposomas, partículas sólidas lipídicas y fibras), inorgánicos (arcillas, partículas de sílice mesoporosas y zeolitas) y sistemas emergentes combinados (agregados de cápsulas multi-ensambladas y cápsulas de doble capa).

A continuación, se describirán los principales sistemas para la encapsulación de compuestos bioactivos en el campo alimentario. Además, en cada uno de ellos se recogen ejemplos del uso de estos sistemas para la encapsulación y posterior liberación controlada de antimicrobianos con el fin de mejorar las propiedades de los antimicrobianos, aumentando su efecto y compatibilidad con el alimento donde se aplican, entre los cuales se encuentran los antimicrobianos descritos en la sección 4.1.

#### 4.3.1 Sistemas de encapsulación orgánicos

Estos sistemas de encapsulación se componen principalmente de sustancias orgánicas como son los lípidos, las proteínas y los carbohidratos, y las nanopartículas generadas pueden ser líquidas, semisólidas o sólidas a temperatura ambiente. En alimentación, la mayor parte de estas partículas son esféricas, pero existen algunas que no lo son, como las fibras (McClements y Xiao, 2017).



**Figura 3.** Representación esquemática de diferentes sistemas de encapsulación orgánicos en alimentos. Figura obtenida de Ruiz-Rico *et al.*, 2018

#### 4.3.1.a Emulsiones.

Las emulsiones están formadas por la mezcla de dos líquidos inmiscibles completa o parcialmente, que se unen en presencia de emulsionantes (Pavoni *et al.*, 2019). El sistema de emulsiones para encapsulación presenta una ventaja en la industria alimentaria, ya que se pueden fabricar con ingredientes que sean compatibles con los alimentos (Donsì *et al.*, 2012).

Esto es debido a que las emulsiones pueden ser de aceite en agua (O/W) en la cual se encapsulan agentes activos lipofílicos que actuaría llegando a la membrana de los microorganismos a través de la fase acuosa, o de agua en aceite (W/O) que se pueden utilizar para encapsular compuestos hidrófilos (Jafari *et al.*, 2017). También, se podría utilizar un antimicrobiano que actuara como tensioactivo y agregar un lípido inerte, que estabilizaría la emulsión (Weiss *et al.*, 2009).

Las emulsiones se pueden diferenciar en nanoemulsiones y microemulsiones. El prefijo nano y micro en este caso hace referencia a las características que presenta cada emulsión, no a diferencias en su tamaño. En concreto, las nanoemulsiones son sistemas coloidales inestables que forman una esfera, que puede variar de 10 a cientos de nanómetros (Jafari *et al.*, 2017), en las que se debe aportar energía o debe haber cambios químicos o termodinámicos para que una fase quede dispersa en otra (Pérez-Esteve y Gómez-Llorente, 2020a). Las nanoemulsiones tienen una ventaja frente a las emulsiones convencionales ya que la frecuencia de colisión con microorganismos es mayor debido al tamaño más pequeño (Weiss *et al.*, 2009).

En cambio, las microemulsiones son dispersiones isotrópicas que se forman espontáneamente asociando los grupos hidrófobos de las colas del tensioactivo, debido a la tendencia termodinámica del sistema a reducir su energía libre (Weiss *et al.*, 2009). Se diferencian de las nanoemulsiones por ser estables y transparentes, y se debe utilizar un emulsionante para que una fase se solubilice en otra (Chatzidaki *et al.*, 2019; Jafari *et al.*, 2017; Pérez-Esteve y Gómez-Llorente, 2020a).

También se han diseñado emulsiones dobles o múltiples y emulsiones multicapas. Las emulsiones dobles en comparación con las simples, están formadas por tres fases que pueden ser fase acuosa disuelta en fase oleosa y contenida a su vez en una fase acuosa (W/OW) o viceversa (O/W/O), es decir, gotas de aceite dentro una emulsión hidrofílica que a su vez está contenida en una fase oleosa (Dickinson, 2011). Las emulsiones multicapa de aceite en agua están formadas por gotas de aceite que poseen una capa interfacial, y que están dispersas en un medio acuoso. La capa puede estar formada por emulsionantes o biopolímeros (Pérez-Esteve y Gómez-Llorente, 2020b). La incorporación de biopolímeros aumenta la viscosidad y puede retrasar la colisión de las gotas de la emulsión, mejorando su estabilidad y provocando un efecto más duradero del antimicrobiano. Los más utilizados son gomas naturales, proteínas, carbohidratos y sus mezclas (Alarcón-Moyano y Matiacevich *et al.*, 2019).

En la literatura científica pueden encontrarse múltiples ejemplos del uso de emulsiones para encapsular antimicrobianos naturales. Por ejemplo, Alarcón-Moyano y Matiacevich (2019) comprobaron la eficacia de este método encapsulando aceite esencial del citral, que es un terpeno que resulta de la mezcla natural de geranial y neral, mediante microemulsión (Tabla 1). Esta tecnología redujo el tamaño de gota a escala nanométrica y aumentó la estabilidad de la emulsión. Todas las emulsiones presentaron inhibición del crecimiento bacteriano, independientemente de la concentración y del agente de encapsulación utilizado. Probablemente, las diversas concentraciones de citral utilizadas no provocaron diferencias en la actividad antimicrobiana porque todas ellas eran superiores a la CMI (0.6% (p/p)). Sin embargo, algunas propiedades físicas como la estabilidad y oxidación, y la diferencia de color se vieron afectadas por esta concentración. Otro ejemplo es la encapsulación del aceite esencial de clavo, estudio realizado por Radünz *et al.* (2019) (Tabla 1). Este estudio se propuso para comprobar si la encapsulación disminuía el olor dentro de la matriz, en contra de la dosificación directa. Los resultados mostraron que, además de enmascarar el olor, la

acción inhibitoria fue mayor, aumentándola significativamente. Los valores obtenidos de la CMI fueron 304 µg/mL para el aceite esencial sin encapsular, y 7.960, 12.460 y 23.660 (µg/mL) fueron los valores obtenidos siendo encapsulado en alginato, alginato y monolaurato de polioxitilensorbitán, y alginato y monoestearato de glicerol respectivamente. Por tanto, el sistema de encapsulación por emulsión consigue enmascarar fuertes aromas de antimicrobianos, consiguiendo que no cambien las propiedades organolépticas del alimento y potenciando el efecto antibacteriano.

Por otro lado, en el artículo de [Moraes-Lovison et al. \(2017\)](#) se desarrolla el método de nanoemulsión para encapsular aceite esencial de orégano (**Tabla 1**), utilizando el método de temperatura de inversión de fase. Este método se basa en los cambios de solubilidad de los tensioactivos no iónicos que se producen al variar la temperatura, invirtiendo una emulsión O/W que contiene el tensioactivo en W/O al calentarse. En este estudio se hizo hincapié en que la dosificación directa del antimicrobiano al alimento puede cambiar sus características físico-químicas, aunque la encapsulación de este compuesto en nanoemulsión, consiguió evitar el cambio de estas características en el paté de pollo. Al mismo tiempo, extendió su vida útil, ya que la CMI en las muestras frescas fue de 560 y 600 µg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* respectivamente, y 430 y 470 µg/mL a los 90 días de almacenamiento. Esto indicó que la nanoemulsión no había perdido su efecto antibacteriano.

Finalmente, [Kumari et al. \(2018\)](#) también utilizaron la nanoemulsión para encapsular el terpeno timol, utilizando el método de sonicación (**Tabla 1**). El método consiste en aplicar energía generada por las ondas de ultrasonido para provocar el cambio de la distribución de partículas a menor tamaño y generar la nanoemulsión. Un problema que presentan muchos aceites esenciales es su baja solubilidad en agua, que reduce su actividad biológica y limita su aplicación a través de un medio acuoso. Además, son inestables frente a estímulos como el oxígeno, la luz y la temperatura. La utilización de la nanoemulsión consiguió resolver estos problemas mediante la conversión del timol en nanogotas, y consiguió inhibir completamente el crecimiento de *Xanthomonas axonopodis* en el rango de concentración entre 0.02 y 0.06% (p/p).

#### **4.3.1.b Liposomas.**

Los liposomas son partículas esféricas que pueden variar de tamaño en el rango de nanómetros a micrómetros ([Srinivasan et al., 2019](#); [Ghorbanzade et al., 2017](#)), generalmente, vesículas que poseen un núcleo líquido y una o más membranas bicapa de fosfolípidos, por ello son capaces de encapsular sustancias hidrofílicas, lipofílicas, y anfipáticas ([Zhang et al., 2019](#); [Marín et al., 2018](#); [Lin et al., 2018](#)). Se pueden estructurar en liposomas unilamellares cuando solo tienen una capa de la membrana bicapa, en vesículas multilamellares cuando poseen varias capas apiladas, y vesículas multivesiculares cuando un liposoma contiene otros liposomas en su interior ([Weiss et al., 2009](#)).

Los fosfolípidos, al ser colocados en un medio acuoso, se asocian entre sí y se forma una lámina bicapa para proteger las secciones hidrofóbicas de las moléculas de agua, manteniendo el contacto con la fase acuosa a través de los grupos de cabeza hidrofílica. La entrada suficiente de energía a los fosfolípidos agregados, genera que la lámina se organice en forma de bicapa cerrada, en vesículas ([Emami et al., 2016](#)). El término de vesícula y liposoma muchas veces se utiliza indistintamente ([Antonietti y Förster, 2003](#)).

Estos sistemas se pueden utilizar en la encapsulación de antimicrobianos debido a la capacidad de carga que poseen. No son termodinámicamente estables, sin embargo, son más estables a la separación gravitacional que las emulsiones ([Weiss et al., 2009](#)).

Los liposomas son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como sistema de encapsulación. Un ejemplo es el artículo de [Pabast et al. \(2018\)](#) donde utilizaron nanoliposomas para encapsular aceite esencial de la planta *Satureja* (**Tabla 1**). Se incorporó un recubrimiento de

quitosano debido a que es un biopolímero que suministra compuestos bioactivos lipofílicos que ayudan en la formación del liposoma, y debido a que produce efecto sinérgico antimicrobiano al utilizarse en la encapsulación de aceites esenciales. En este caso, la encapsulación en liposomas aportó muchas ventajas, ya que permitió una liberación más controlada del aceite esencial, prolongó la actividad antimicrobiana, y mantuvo los atributos sensoriales. Además, el límite para el recuento total viable en carne fresca es de 7 ciclos logarítmicos UFC/g. Las muestras sin recubrimiento superaron este límite a los 9 días, añadiendo un recubrimiento de quitosano aumentó a 12 días, y las muestras con recubrimiento de quitosano y aceite esencial de *Satureja*, lograron permanecer los 20 días indicados de almacenamiento, sin superar el valor límite, ya que el recuento fue de 4.85 ciclos logarítmicos UFC/g.

Además, [Jiao et al. \(2020\)](#) encapsularon la bacteriocina CAMT2 producida por *Bacillus amyloliquefaciens* mediante el método de evaporación de fase inversa, en el cual se eliminó el disolvente orgánico (**Tabla 2**). En presencia de CAMT2, el número de *Listeria monocytogenes* disminuyó aproximadamente  $1,5 \times 10^3$  UFC/mL y  $5,5 \times 10^3$  UFC/mL en 0 y a los 6 días de almacenamiento, respectivamente, concluyendo que podría ser efectiva contra bacterias patógenas en matrices de alimentos grasos. La razón de esta disminución podría estar relacionada con la lenta liberación de la bacteriocina de las nanovesículas, que provoca una concentración más controlada a lo largo del tiempo. En este caso, los liposomas beneficiaron el efecto antimicrobiano de la bacteriocina, ya que aumentó su estabilidad protegiéndola de la grasa de la leche y, de este modo, pudo aumentar su efectividad antibacteriana. También se comprobó la encapsulación de fagos de *Escherichia coli* en el artículo de [Lin et al. \(2018\)](#) (**Tabla 2**). Los liposomas se realizaron mediante el método de dispersión de película delgada, en el cual se consiguió formar una fina capa gracias a un evaporador rotatorio en un entorno de vacío. Se logró la capacidad antibacteriana con los liposomas con recubrimiento con poli-L-lisina, sin alterar la calidad de las muestras de cerdo. Sería necesaria la incubación de 1 día de los bacteriófagos en suspensión de cerdo para disminuir en 2.44 ciclos logarítmicos las UFC/mL de la bacteria *Escherichia coli*.

Los casos anteriormente mencionados eran de origen vegetal, pero también se han encapsulado compuestos de origen microbiano, como es el caso de la pediocina y de la bacteriocina de *Lactobacillus sakei*. La bacteria *Pediococcus acidilactici* ITV26 es la encargada de producir la bacteriocina pediocina, como se nos muestra en el estudio de [García-Toledo et al. \(2019\)](#) (**Tabla 2**). Gracias a la encapsulación de este compuesto en liposomas, se pudo proteger la pediocina, ya que si se agrega de forma libre al alimento, puede ser inactivada, uniéndose o interaccionando con ciertas enzimas de los alimentos. Por otro lado, [Malheiros et al. \(2016\)](#) encapsularon una bacteriocina procedente de *Lactobacillus sakei* mediante liposomas de fosfatidilcolina (FC) y 1,2-dioleoiloxi-3-trimetilamonio-propano (DOTAP) (**Tabla 2**), para determinar su actividad antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes in vitro* y en leche de cabra UHT contaminada. Las nanovesículas formadas mantuvieron su estabilidad y sus características físico-químicas durante 28 días, y además, retardaron el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, ya que el recuento indicó la reducción de 5 ciclos logarítmicos después de 5 días en comparación con los recuentos iniciales.

#### 4.3.1.c Partículas sólidas lipídicas.

Este sistema consta de partículas coloidales de una matriz lipídica en la cual se incorpora el antimicrobiano ([Ghanbarzadeh et al., 2019](#); [Weiss et al., 2009](#)). Se utilizan lípidos con alto punto de fusión, aquellos que son sólidos total o parcialmente a temperatura ambiente y corporal, siendo estabilizados con tensioactivos. Se pueden encapsular tanto moléculas hidrófilas como hidrófobas, mostrando más afinidad por las hidrófobas por ser una matriz hidrofóbica ([Aditya y Ko, 2015](#)).

Por tanto, el compuesto bioactivo forma parte de la matriz lipídica ([Ghanbarzadeh et al., 2019](#)). El uso de lípidos cristalizados en lugar de líquidos, aumenta el control sobre la liberación del bioactivo y

su estabilidad. Esto es debido a que se puede tener un control sobre la movilidad de los bioactivos, controlando el estado físico de la matriz lipídica (Weiss *et al.*, 2009).

En el artículo de Nasseri *et al.* (2016) se observa un ejemplo de este sistema de encapsulación, en el cual evaluaron la eficacia de partículas lipídicas sólidas con aceite esencial de la planta *Zataria multiflora* contra hongos (Tabla 1). Los valores de CMI obtenidos para *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Rhizopus stolonifer* fueron 300, 200, 300, 200, 200 y 200 ppm respectivamente para el aceite esencial libre. Sin embargo, estos valores se redujeron a 200, 200, 200, 100, 50 y 50 ppm respectivamente al tratarse del aceite encapsulado.

#### 4.3.1.d Fibras.

Este tipo de encapsulación consiste en la incorporación de compuestos bioactivos dentro polímeros capaces de formar fibras. El método más utilizado es el electrohilado, *electrospinning* o *electrospun*, en el cual se produce una repulsión de cargas que causa una fuerza opuesta a la tensión superficial, que cuando la superan, expulsa un chorro cargado eléctricamente, estirándose hasta que alcanza la placa colectora, y favoreciendo la incorporación del disolvente. Esto resulta en fibras secas al evaporarse el solvente durante el proceso (Do Evangelho *et al.*, 2019; García-Moreno *et al.*, 2016).

Con este método se consiguen fibras con elevada relación superficie-volumen y porosidad. Además, su estructura y el tamaño de las moléculas favorecen la liberación controlada del compuesto encapsulado (Do Evangelho *et al.*, 2019; Shin y Lee, 2018; Wen *et al.*, 2016). Por otro lado, la estructura es adecuada tanto para escala nano como micro (Padil *et al.*, 2018; Wen *et al.*, 2017). La ausencia de calor permite preservar la estructura y lograr una alta eficacia de encapsulación, obteniendo mayor estabilidad y funcionalidad del compuesto encapsulado (Wen *et al.*, 2017). Además, al poderse producir un tamaño reducido de encapsulación, permite su incorporación en alimentos sin alterar sus características organolépticas (García-Moreno *et al.*, 2016).

Este sistema es posterior a los anteriormente mencionados, sin embargo, se extendió rápidamente. Actualmente, existen múltiples encapsulaciones en las cuales se ha utilizado este método. Wen *et al.* (2016) es un ejemplo del uso de este sistema, en el que encapsularon aceite esencial de canela en una película nanofibrosa biodegradable formada por alcohol polivinílico/aceite esencial de canela/ $\beta$ -ciclodextrina mediante electrohilado (Tabla 1). La interacción molecular entre estas películas mejoró la estabilidad térmica del aceite esencial. El estudio sugirió que este tipo de encapsulación es más efectivo contra bacterias gram positivas que gram negativas, por presentar mayor resistencia las gram negativas debido a su membrana exterior. La encapsulación logró que las fresas mantuvieran sus propiedades sensoriales, alargando su vida útil, mejoró la estabilidad del aceite esencial y enmascaró el fuerte sabor de la canela.

Por otro lado, Surendhiran *et al.* (2019) encapsularon florotanino, que es un tanino que se encuentra principalmente en algas pardas, mediante este método en alginato de sodio y óxido de polietileno (Tabla 1). Este último es un polímero sintético que, junto a los otros dos biopolímeros, favorece el hilado de nanofibras finas. Se obtuvieron nanofibras lisas con un diámetro promedio de 331 nm. Además, en este artículo se expuso que las nanofibras permite la liberación controlada de este antimicrobiano, y obteniendo que la conservación de las nanofibras a 25°C fue más efectiva que a 4°C ya que el recuento celular de *Salmonella enteritidis* disminuyó de 6.20 a 3.28 ciclos logarítmicos UFC/g a 4°C y de 8.80 a 2.53 ciclos logarítmicos UFC/g a 25°C.

Además, Shin y Lee (2018) estudiaron la encapsulación de nanofibras formadas por alcohol de polivinilo (PVA) y fitoncida, que es un compuesto orgánico volátil (Tabla 1). En este artículo utilizaron el PVA por ser un compuesto no tóxico y biodegradable. Los resultados fueron que las nanofibras

consiguieron mantener la actividad antimicrobiana de la fitoncida durante 14 días, y redujeron en un 99.9% la cantidad de bacterias de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Otro ejemplo es el de Wang *et al.* (2017), en el cual se encapsuló curcumina en zeína, una proteína del maíz, por sus excelentes propiedades de barrera al oxígeno y resistencia térmica, características vitales para la realización de envases de uso alimentario (Tabla 1). Este estudio comprobó la actividad antibacteriana de las nanofibras obtenidas, mostrando eficacia de inhibición contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, aunque fue más significativa contra *Staphylococcus aureus*. Por último, Li *et al.* (2020) también aplicaron este método para encapsular resveratrol en un compuesto soluble en agua como es la gelatina y en zeína, que extendieron en 3 días la vida útil de carne de cerdo almacenada a 4 °C.

#### 4.3.2 Sistemas de encapsulación inorgánicos

Muchos tipos de partículas utilizadas en tecnología de alimentos se componen de materiales inorgánicos. Se caracterizan por ser partículas sólidas cristalinas o amorfas a temperatura ambiente y que varía su superficie y tamaño en función de los materiales iniciales y las condiciones que se han utilizado para su preparación (McClements y Xiao, 2017).

##### 4.3.2.a Arcillas.

Las arcillas son heteroestructuras compuestas por materiales mesoporosos, que pueden ser catiónicas (montmorillonita, haloisita) y aniónicas (doble hidróxido en capas (LDH)) (Gârea *et al.*, 2015). Respecto al uso de arcillas como sistemas de encapsulación inorgánico, destaca especialmente el uso de montmorillonita, un material volcánico formado por plaquetas de espesor nanométrico y que sirven para la formación de nanoarcillas (Rashidi y Khosravi-Darani, 2011). La haloisita también es un compuesto interesante debido a que posee una estructura tubular hueca, formando nanotubos que pueden contener antimicrobianos (Santos *et al.*, 2018a).

En el estudio de Lee *et al.* (2017) se utilizaron los tubos de haloisita para encapsular en su interior aceite esencial de tomillo (Tabla 1). Los diámetros de las zonas de inhibición frente a *Escherichia coli* fueron de 26±2 y 40±1 mm, con una concentración de 100 y 200 mg de nanocápsulas con aceite esencial de tomillo respectivamente. Por otro lado, Nouri *et al.* (2018) estudiaron nanocompuestos de montmorillonita-óxido de cobre incorporándolos en un recubrimiento de quitosano. Estos nanocompuestos aumentaron más del 99 % la actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Además de mejorar las propiedades antibacterianas, también mejoró las mecánicas, y disminuyó la solubilidad en agua y el efecto de los rayos ultravioleta en la transparencia de las películas.

##### 4.3.2.b Partículas de sílice mesoporosas.

Estas partículas están formadas por dióxido de silicio (SiO<sub>2</sub>), con un tamaño entre desde pocos nanómetros hasta micrómetros, que contienen una estructura porosa que permite almacenar compuestos en su interior. Son interesantes porque poseen un área de superficie grande, elevado volumen de poros, tamaños de poros ajustables, estructura de poros bien definida y alta estabilidad mecánica y química (Kapoor *et al.*, 2010; Clifford *et al.*, 2008). Debido a estas características y su capacidad de liberación controlada de bioactivos, es el material inorgánico más utilizado para encapsular compuestos (Ruiz-Rico *et al.*, 2018).

Algunos portadores que han sido desarrollados cambiando las rutas de síntesis son MCM-41, MCM-48, MCM-50, SBA-15, SBA-16, HMS, entre otros (Shah y Rajput, 2017). Principalmente destacan el uso de MCM-41 o SBA-15 como potencial uso en alimentación. La SBA-15 contiene una

distribución de poro grande y uniforme. Además, presenta estabilidad hidrotérmica debido a que las paredes son más gruesas que las de tipo MCM, mejorando la estabilidad térmica y mecánica (Park y Pendleton, 2012). El reducido tamaño que se consigue tanto con las partículas de MCM-41 como de SBA-15, no permite atravesar las mucosas del tracto digestivo, por lo que pueden ser excretadas por las heces tras la ingestión (Pérez-Esteve *et al.*, 2015).

Liu *et al.* (2020) prepararon nanopartículas de sílice MCM-41 con aceite esencial de canela, en una película de zeína que presentaron un excelente efecto de control en la liberación del compuesto encapsulado, alargando la efecto antimicrobiano de la canela. Además, presentó una amplia zona de inhibición contra *Staphylococcus aureus*.

#### **4.3.2.c Zeolitas.**

En su estructura contiene iones de sodio que pueden ser constituidos por otros iones metálicos. Presenta actividad antimicrobiana. Por ejemplo, la zeolita de plata es eficaz contra bacterias, levaduras y hongos (Tzia y Zorpas, 2012).

Para este sistema, Youssef *et al.* (2019) desarrollaron películas biocompatibles con la conservación de alimentos de carboximetilcelulosa y alcohol de polivinilo (CMC/PVA) con zeolita con cationes metálicos de plata ( $\text{Ag}^+$ ) u oro ( $\text{Au}^{+3}$ ). Desarrollaron este envasado debido a que posee altas propiedades mecánicas, baja tasa de transmisión de vapor de agua y de gas que favorece el envasado de productos alimentarios, y excelentes propiedades antimicrobianas. Las películas con oro y plata mostraron actividad significativa contra bacterias, hongos y levaduras. Aunque zeolita con cationes de plata a menos del 3% no exhibió actividad antimicrobiana notable.

### **4.3.3 Sistemas emergentes combinados de encapsulación**

Además de los sistemas citados anteriormente, en los últimos años han surgido nuevos sistemas entre los que destacan los agregados de cápsulas multi-ensambladas y las cápsulas de doble capa.

#### **4.3.3.a Agregados de cápsulas multi-ensambladas.**

Es un compuesto basado en nanoestructuras de multicapas orgánicas e inorgánicas, que permite la construcción modular de dispositivos con diferentes propiedades, pudiéndose combinar de diferentes maneras (Zhao *et al.*, 2019). Se trata de un sistema líquido-líquido que permite construir estructuras complejas como, por ejemplo, un liposoma cargado con una nanoemulsión (Khare y Vasisht, 2014; Weiss *et al.*, 2009).

#### **4.3.3.b Cápsulas de doble capa.**

Consiste en adicionar una segunda capa a la cápsula, generalmente polímeros, puesto que confiere mayor estabilidad y rendimiento a la estructura, evitando su temprana degradación. Además, se puede utilizar en otros sistemas como en las emulsiones, los liposomas o en fibras. Uno de los métodos más utilizados para su formación es la deposición electrostática capa por capa (LbL) (Zaeim *et al.*, 2019; Weiss *et al.*, 2009).

Este método se basa en la atracción electrostática entre el polímero en presencia de una superficie con carga opuesta, en el cual el polímero es adsorbido por la superficie y se invierten las cargas. Además, permite mejorar el control de la capa adsorbida, pudiendo acumular varias capas de polímeros que tengan cargas opuestas (Weiss *et al.*, 2009). Para este proceso es posible realizar nanocápsulas y microcápsulas (Zaeim *et al.*, 2019; Zheng y Pilla, 2018).

Su *et al.* (2018) investigaron la influencia de la goma arábica en una emulsión de  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) estabilizada con D-limoneno, utilizando el método de deposición electrostática capa por capa (LbL). Aunque exhibió una eficacia antimicrobiana ligeramente menor que la emulsión de capa única (el valor del CMI fue el doble (10  $\mu$ g/mL) para *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* con la emulsión de doble capa, pero fue superior que el D-limoneno libre), se observó un efecto más duradero durante el almacenamiento de zumo de naranja.

Más ejemplos de sistemas de encapsulación de antimicrobianos de origen vegetal y microbiano se muestran en las **Tablas 1 y 2**, respectivamente. En dichas tablas, podemos observar el nombre del antimicrobiano junto a su correspondiente categoría, los microorganismos con los que se realizó el estudio, la CMI, el sistema de encapsulación, y su uso o posible utilidad en tecnología de alimentos. Las letras ND se han utilizado cuando dicha información no se encontraba disponible en el artículo.

**Tabla 1.** Antimicrobianos de origen vegetal estudiados recientemente.

Compuesto con capacidades antimicrobianas	Microorganismo efectivo evaluado	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )	Sistema de encapsulación	Agente encapsulante	Utilidad	Referencia
Cagaita (extracto)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	160-1.480	Microencapsulación mediante secado por aspersión	Goma arábica e inulina	Evitar el deterioro de los compuestos bioactivos presentes en la fruta	<a href="#">Daza et al., 2017</a>
Canela (aceite esencial)	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	900-1000	Película nanofibrosa electrohilada	Alcohol polivinílico/aceite esencial de canela/ $\beta$ -ciclodextrina (PVA/CEO/ $\beta$ -CD)	Película biodegradable para fresas, envases activos, nanofilms	<a href="#">Wen et al., 2016</a>
Carvacrol (monoterpenoide)	<i>Escherichia coli</i> K12	250	Microencapsulación en una mediante el método de secado por aspersión o “spray drying”	Pectina-alginato de sodio	Descontaminación de alimentos con liberación controlada así como procesados o productos lácteos	<a href="#">Sun et al., 2019</a>
Citral (aceite esencial)	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria innocua</i>	0.6% p/p	Microemulsión estabilizada con alginato	Maltodextrina y Capsul®	Aditivos antimicrobianos naturales	<a href="#">Alarcón-Moyano y Matiacevich, 2019</a>
Clavo (aceite esencial)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i> Salmonella Typhimurium	7.960 con alginato, 23.660 con alginato y monoestearato y 12.460 con alginato y monolaurato	Emulsión con alginato de sodio y emulsionantes	Alginato de sodio, y monoestearato de glicerol o monolaurato de polioxietilensorbitano	Alternativa a los aditivos para productos cárnicos como las hamburguesas	<a href="#">Radünz et al., 2019</a>

Compuesto con capacidades antimicrobianas	Microorganismo efectivo evaluado	CMI (µg/mL)	Sistema de encapsulación	Agente encapsulante	Utilidad	Referencia
Curcumina (polifenol)	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	ND	Nanoencapsulación por fibras electrohiladas	Zeína	Envases activos	<a href="#">Wuang et al., 2017</a>
Fitoncida (compuesto orgánico)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i>	ND	Encapsulación en una matriz de nanofibras de polímeros mediante emulsión electrohilada	Alcohol de polivinilo (PVA) de fase acuosa y fitoncida de fase oleosa	Posible antimicrobiano para envases de alimentos	<a href="#">Shin y Lee, 2018</a>
Florotanino (biopolímero)	<i>Salmonella enteritidis</i>	512	Encapsulación de nanofibras mediante electrohilado	Alginato de sodio (SA) y poli (óxido de etileno) (PEO)	Mejorar la vida útil del pollo en conserva, remplazo conservantes artificiales	<a href="#">Surendhiran et al., 2019</a>
Lavanda (aceite esencial)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Candida albicans</i>	450/650/300	Microencapsulación con ciclodextrinas mediante liofilización	Hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD)	Aplicación en sistemas alimentarios	<a href="#">Yuan et al., 2019</a>
Nerolidol (sesquiterpeno)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	ND	Encapsulación con dextrinas mediante liofilización	Hidroxipropil-β-ciclodextrina	Limitación deterioro bacteriano en zumo de naranja fresco	<a href="#">Ephrem et al., 2019</a>
Orégano (aceite esencial)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i>	560/600	Nanoemulsión utilizando el método de temperatura de inversión de fase	Aceite de girasol y los tensoactivos aceite de ricino hidroxilado PEG-40 y monooleato de sorbitán	Potencial para formulaciones de alimento como en el paté de pollo	<a href="#">Moraes-Lovison et al., 2017</a>

Compuesto con capacidades antimicrobianas	Microorganismo efectivo evaluado	CMI (µg/mL)	Sistema de encapsulación	Agente encapsulante	Utilidad	Referencia
Resveratrol (polifenol)	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	ND	Nanoencapsulación en fibras mediante electrohilado	Gelatina-zeína	Conservación carne de cerdo y otros alimentos	<a href="#">Li et al., 2020</a>
<i>Satureja khuzestanica</i> (aceite esencial)	<i>Pseudomonas</i> Bacterias ácidolácticas	ND	Nanoliposoma con recubrimiento de quitosano por el método de hidratación-sonicación de película delgada	Lecitina de soja	Extensión vida útil de la carne de cordero	<a href="#">Pabast et al., 2018</a>
Timol (terpenoide)	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycine</i>	ND	Nanoemulsión por el método de sonicación	Tensoactivo saponina de <i>Quillaja</i> y agua	Posible agente microbiano y promotor del crecimiento vegetal	<a href="#">Kumari et al., 2018</a>
Tomillo (aceite esencial)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ND	Encapsulación mediante nanotubos	Haloisita modificados	Reducir microorganismos patógenos en algunos alimentos como en tomates cherry	<a href="#">Lee et al., 2017</a>

**Tabla 2.** Antimicrobianos de origen microbiano estudiados recientemente.

Compuesto con capacidades antimicrobianas	Microorganismo efectivo evaluado	CMI ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Sistema de encapsulación	Agente encapsulante	Utilidad	Referencia
CAMT2 (bacteriocina)	<i>Listeria</i>	625	Encapsulación en nanovesículas por el método de evaporación de fase inversa	Fosfatidilcolina de soja	Bioconservante en alimentos, protección de la bacteriocina frente a la grasa de la leche	<a href="#">Jiao et al., 2020</a>
Fagos de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 (bacteriófago)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ND	Encapsulación con liposomas recubiertos con poli-L-lisina por un método de dispersión de película delgada	Lecitina de soja y colesterol	Biocontrol en carne de cerdo y otras carnes	<a href="#">Lin et al., 2018</a>
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCC-41 (bacteria)	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	ND	Microencapsulación	Alginato	Aditivo en kimchi de col, otros alimentos	<a href="#">Song et al., 2019</a>
<i>Lactobacillus sakei</i> (bacteriocina)	<i>Listeria monocytogenes</i>	ND	Encapsulación en nanovesículas	Fosfatidilcolina (FC) y 1,2-dioleoiloxi-3-trimetilamonio-propano (DOTAP)	Conservación de alimentos como la leche de cabra	<a href="#">Malheiros et al., 2016</a>
Natamicina (polieno)	<i>Aspergillus niger</i>	2-64	Nanoencapsulación con dextrinas	Metil- $\beta$ -ciclodextrina (heptakis (2,6-di-O-metil) - $\beta$ ciclodextrina, Me- $\beta$ -CD)	Aplicación alimentaria de la encapsulación	<a href="#">Fang et al., 2019</a>
Nisina (bacteriocina)	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	Formación nano-micelas mediante emulsión	Monolaurina	Conservación de alimentos contra bacterias patogénicas	<a href="#">Sadiq et al., 2016</a>
Pediocina (bacteriocina)	<i>Listeria innocua</i>	ND	Nanoencapsulación con liposomas mediante microfluidización	Lecitina de soja	Películas bioactivas y aditivo en carnes y lácteos	<a href="#">García-Toledo et al., 2019</a>
T4 (bacteriófago)	<i>Escherichia coli</i>	ND	Encapsulación por microemulsión	Oleato de etilo, agua y Tween 80: Span 20 (tensoactivo)	Uso en distintos alimentos	<a href="#">Rastogi et al., 2018</a>

## 5. CONCLUSIONES

En este trabajo se han identificado cuatro orígenes de antimicrobianos naturales: vegetal, animal, microbiano y mineral. Las principales familias de moléculas naturales con capacidad antimicrobiana de origen vegetal son los aceites esenciales, los alcaloides, los compuestos fenólicos, los compuestos organosulfurados y los péptidos. Respecto los de origen animal destacan los biopolímeros, los péptidos y las enzimas. Las bacteriocinas y los bacteriófagos son los principales antimicrobianos de origen microbiano. Por último, se han encontrado antimicrobianos de origen mineral como son los metales nanoestructurados. De todos estos, aquellos que han sido más estudiados en trabajos científicos de los últimos cinco años son los aceites esenciales, los péptidos, las bacteriocinas y los bacteriófagos.

Una vez identificadas las principales familias de moléculas antimicrobianas de origen natural, se han recopilado ejemplos de estudios científicos donde se encapsulan con el propósito de mejorar alguna de sus propiedades. De los aproximadamente 30 estudios incluidos en esta parte de la revisión, la mayoría tienen un origen vegetal y microbiano. Esta razón puede deberse a que los antimicrobianos de origen animal y mineral son más estables, no son volátiles y no poseen un fuerte sabor y aroma, no siendo necesaria la encapsulación de estos compuestos ya que el proceso aumenta los costes.

Por otro lado, los principales sistemas utilizados son los siguientes: emulsiones, liposomas, partículas sólidas lipídicas y fibras como sistemas orgánicos; arcillas, partículas de sílice mesoporosas y zeolitas como sistemas inorgánicos; y finalmente, agregados de cápsulas multi-ensambladas y cápsulas de doble capa como sistemas emergentes. Para la encapsulación de metales los sistemas utilizados mayormente han sido inorgánicos, mientras que para el resto de los orígenes (vegetal, animal y microbiano) se utilizaban los orgánicos, destacando las emulsiones y liposomas. Además, en cuanto a los sistemas de encapsulación emergentes, ya se han comenzado a aplicar en la industria alimentaria debido a que resuelven problemas de estabilidad principalmente, evitando la temprana degradación de la cápsula y una liberación más controlada del compuesto encapsulado.

Por último, las concentraciones mínimas inhibitorias de varias de las moléculas estudiadas son menores cuando se administran de forma encapsulada que cuando se añaden de forma libre contra una gran variedad de microorganismos alterantes y patógenos. Este hecho permite además de abaratar costes, reducir el impacto de la adición de los antimicrobianos sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del alimento.

Por todo ello, se puede concluir que los sistemas de encapsulación permiten mejorar tanto el efecto antimicrobiano, la estabilidad del compuesto bioactivo una vez añadido en una matriz alimentaria y la compatibilidad con la misma.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

ADITYA, N. P.; KO, S., 2015. Solid lipid nanoparticles (SLNs): delivery vehicles for food bioactives. *Rsc Advances*, 5(39), 30902-30911.

AKHIDIME, I. D.; SAUBADE, F.; BENSON, P. S.; BUTLER, J. A.; OLIVIER, S.; KELLY, P.; VERRAN, J.; WHITEHEAD, K. A., 2019. The antimicrobial effect of metal substrates on food pathogens. *Food and bioproducts processing*, 113, 68-76.

AKHTAR, M.; VIAZIS, S.; CHRISTENSEN, K.; KRAEMER, P.; DIEZ-GONZALEZ, F., 2017. Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 75, 108-115.

- ALARCÓN-MOYANO, J.; MATIACEVICH, S., 2019. Active emulsions based on alginate and lemongrass/citral essential oils: effect of encapsulating agents on physical and antimicrobial properties. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1952-1965.
- AL-BAARRI, A. N. M.; LEGOWO, A. M.; ARUM, S. K.; HAYAKAWA, S., 2018. Extending shelf life of Indonesian soft milk cheese (dangke) by lactoperoxidase system and lysozyme. *International journal of food science*, 2018.
- ALOUI, H.; KHWALDIA, K., 2016. Natural antimicrobial edible coatings for microbial safety and food quality enhancement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1080-1103.
- AL-TAYYAR, N. A.; YOUSSEF, A. M.; AL-HINDI, R., 2020. Antimicrobial food packaging based on sustainable Bio-based materials for reducing foodborne Pathogens: A review. *Food Chemistry*, 310, 125915.
- ALVAREZ-SIEIRO, P.; MONTALBÁN-LÓPEZ, M.; MU, D.; KUIPERS, O. P., 2016. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(7), 2939-2951.
- ALVES, D.; MARQUES, A.; MILHO, C.; COSTA, M. J.; PASTRANA, L. M.; CERQUEIRA, M. A.; SILLANKORVA, S. M., 2019. Bacteriophage  $\phi$ IBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *International journal of food microbiology*, 291, 121-127.
- ANTONIETTI, M.; FÖRSTER, S., 2003. Vesicles and liposomes: a self-assembly principle beyond lipids. *Advanced Materials*, 15(16), 1323-1333.
- ARAYA, D. Antimicrobianos: una revisión sobre mecanismos de acción y desarrollo de resistencia. *Acta Médica Costarric*, 28(2), 79-83.
- ARIAS-RIOS, E. V.; CABRERA-DÍAZ, E.; MÁRQUEZ-GONZÁLEZ, M.; CASTILLO, A., 2017. Natural Food Antimicrobials of Animal Origin. In *Microbial Control and Food Preservation* (pp. 55-83). Springer, New York, NY.
- ARULRAJAH, B.; MUHIALDIN, B. J.; ZAREI, M.; HASAN, H.; SAARI, N., 2020. Lacto-fermented Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed protein as a source of bioactive peptides and their applications as natural preservatives. *Food Control*, 110, 106969.
- ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M.; ESFANJANI, A. F., 2017. Protection of phenolic compounds within nanocarriers. *CAB Reviews*, 12(057), 1-8.
- AZIZ, M.; KARBOUNE, S., 2018. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(3): 486-511.
- BAGHERI DARVISH, H.; BAHRAMI, A.; JAFARI, S. M.; WILLIAMS, L., 2020. Micro/nanoencapsulation strategy to improve the efficiency of natural antimicrobials against *Listeria monocytogenes* in food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-19.
- BAJPAI, V. K.; SHARMA, A.; BAEK, K. H., 2013. Antibacterial mode of action of *Cudrania tricuspidata* fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogens. *Food control*, 32(2), 582-590.
- BANO, I.; ARSHAD, M.; YASIN, T.; GHAURI, M. A.; YOUNUS, M., 2017. Chitosan: A potential biopolymer for wound management. *International journal of biological macromolecules*, 102, 380-383.
- BARBA, F. J.; CRIADO, M. N.; BELDA-GALBIS, C. M.; ESTEVE, M. J.; RODRIGO, D., 2014. Stevia rebaudiana Bertoni as a natural antioxidant/antimicrobial for high pressure processed fruit extract: Processing parameter optimization. *Food Chemistry*, 148, 261-267.

- BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F., 2020. Encapsulation Systems for Antimicrobial Food Packaging Components: An Update. *Molecules*, 25(5), 1134.
- BENELHADJ, S.; FEJJI, N.; DEGRAEVE, P.; ATTIA, H.; GHORBEL, D.; GHARSALLAOUI, A., 2016. Properties of lysozyme/*Arthrospira platensis* (Spirulina) protein complexes for antimicrobial edible food packaging. *Algal research*, 15, 43-49.
- BEN-FADHEL, Y.; MAHERANI, B.; ARAGONES, M.; LACROIX, M., 2019. Antimicrobial Properties of Encapsulated Antimicrobial Natural Plant Products for Ready-to-Eat Carrots. *Foods*, 8(11), 535.
- BERDEJO, D.; PAGÁN, E.; GARCÍA-GONZALO, D.; PAGÁN, R., 2019. Exploiting the synergism among physical and chemical processes for improving food safety. *Current Opinion in Food Science*, 30, 14-20.
- BETANCOURT, Y. F.; AGUILAR, E. C.; FALCÓN, L. F.; DEDIEU, D. M., 2015. Utilización de la terapéutica antimicrobiana. Algunas consideraciones. *Revista de Información Científica*, 91(3), 606-620.
- BOUARAB-CHIBANE, L.; DEGRAEVE, P.; FERHOUT, H.; BOUJILA, J.; OULAHAL, N., 2019. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457-1474.
- BOURBON, A. I.; MARTINS, J. T.; PINHEIRO, A. C.; MADALENA, D. A.; MARQUES, A.; NUNES, R.; VICENTE, A. A., 2019. Nanoparticles of lactoferrin for encapsulation of food ingredients. In *Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes* (pp. 147-168). Academic Press.
- BURT, S. A.; VAN DER ZEE, R.; KOETS, A. P.; DE GRAAFF, A. M.; VAN KNAPEN, F.; GAASTRA, W.; HAAGSMAN, H. P.; VELDHUIZEN, E. J., 2007. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157: H7. *Applied and environmental microbiology*, 73(14), 4484-4490.
- BURT, S., 2004. Essential oils: Their antimicrobial properties and potential applications in food—A review. *International Journal of Food Microbiology* 94:223–253.
- CAICEDO, J. G.; PAZ, J. V.; NAVARRO, J. F. R., 2017. Evaluación del efecto de temperatura, tiempo, pH y UFC, sobre la vida útil de leche pasteurizada en marcas comercializadoras en Pasto (Nariño). *Revista Biumar*, 1(1).
- CAMOU, T.; ZUNINO, P.; HORTAL, M., 2017. Alarma por la resistencia a antimicrobianos: situación actual y desafíos. *Revista Médica del Uruguay*, 33(4), 104-127.
- CAROCHO, M.; BARREIRO, M. F.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C., 2014. Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 377-399.
- CARVALHO, D. B. D.; FOX, E. G. P.; SANTOS, D. G. D.; SOUSA, J. S. D.; FREIRE, D. M. G.; NOGUEIRA, F. C. S.; DOMONT, G. B.; DE CASTILHO, L. V. A.; MACHADO, E. D. A., 2019. Fire Ant venom alkaloids inhibit biofilm formation. *Toxins*, 11(7), 420.
- CAVA, R.; NOWAK, E.; TABOADA, A.; MARIN-INIESTA, F., 2007. Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. *Journal of food protection*, 70(12), 2757-2763.
- CAVERA, V. L.; ARTHUR, T. D.; KASHTANOV, D.; CHIKINDAS, M. L., 2015. Bacteriocins and their position in the next wave of conventional antibiotics. *International journal of antimicrobial agents*, 46(5), 494-501.
- CHATZIDAKI, M. D.; PAPADIMITRIOU, V.; XENAKIS, A., 2019. Encapsulation of food ingredients by microemulsions. In *Lipid-Based Nanostructures for Food Encapsulation Purposes* (pp. 129-149). Academic Press.

- CLIFFORD, N. W.; IYER, K. S.; RASTON, C. L., 2008. Encapsulation and controlled release of nutraceuticals using mesoporous silica capsules. *Journal of Materials Chemistry*, 18(2), 162-165.
- COMUNIAN, T. A.; RAVANFAR, R.; DE CASTRO, I. A.; DANDO, R.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ABBASPOURRAD, A., 2017. Improving oxidative stability of echium oil emulsions fabricated by Microfluidics: Effect of ionic gelation and phenolic compounds. *Food chemistry*, 233, 125-134.
- DALMORO, A.; BOCHICCHIO, S.; LAMBERTI, G.; BERTONCIN, P.; JANSSENS, B.; BARBA, A. A., 2019. Micronutrients encapsulation in enhanced nanoliposomal carriers by a novel preparative technology. *RSC advances*, 9(34), 19800-19812.
- DANG, X.; ZHENG, X.; WANG, Y.; WANG, L.; YE, L.; JIANG, J., 2020. Antimicrobial peptides from the edible insect *Musca domestica* and their preservation effect on chilled pork. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3), e14369.
- DAVIDSON, P. M.; CRITZER, F. J.; TAYLOR, T. M., 2013. Naturally occurring antimicrobials for minimally processed foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, 163-190.
- DAZA, L. D.; FUJITA, A.; GRANATO, D.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GENOVESE, M. I., 2017. Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extract. *Food bioscience*, 18, 15-21.
- DE FRUTOS, M.; LÓPEZ-URRUTIA, L.; BERBEL, C.; ALLUE, M.; HERRERA, S.; AZCONA, J. M.; BERISTAÍN, X.; AZNAR, E.; ALBERT, M.; RUIZ, C.; EIROS, J. M., 2018. Brote de *Salmonella* Typhimurium monofásica asociada al consumo de carne asada de cerdo. *Revista Española de Quimioterapia*, 31(2), 156.
- DE VUYST, L.; LEROY, F., 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 13(4), 194-199.
- DI MARCO, N. I.; PUNGITORE, C. R.; LUCERO-ESTRADA, C. S., 2020. Aporphinoid alkaloids inhibit biofilm formation of *Yersinia enterocolitica* isolated from sausages. *Journal of Applied Microbiology*.
- DI MARCO, N.; LUCERO-ESTRADA, C.; R. PUNGITORE, C., 2019. Aporphinoid alkaloids as antimicrobial agents against *Yersinia enterocolitica*. *Letters in applied microbiology*, 68(5), 437-445.
- DICKINSON, E., 2011. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6(1), 1-11.
- DO EVANGELHO, J. A.; CRIZEL, R. L.; CHAVES, F. C.; PRIETTO, L.; PINTO, V. Z.; DE MIRANDA, M. Z.; GUERRA DIAS, A. R.; DA ROSA ZAVAREZE, E., 2019. Thermal and irradiation resistance of folic acid encapsulated in zein ultrafine fibers or nanocapsules produced by electrospinning and electrospraying. *Food Research International*, 124, 137-146.
- DONSÌ, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M.; FERRARI, G., 2011. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1908-1914.
- DONSÌ, F.; ANNUNZIATA, M.; VINCENSI, M.; FERRARI, G., 2012. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: effect of the emulsifier. *Journal of biotechnology*, 159(4), 342-350.
- DURAN, A.; KAHVE, H. I., 2017. The use of lactoferrin in food industry. *Acad J Sci*, 7, 89-94.
- EFSA, 2016. *Antimicrobial resistance*, visto el 19 de abril de 2020.  
<<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/antimicrobial-resistance>>
- EKLUND, T., 1980. Inhibition of growth and uptake processes in bacteria by some chemical food preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 48(3), 423-432.

EMAMI, S.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; PEIGHAMBARDoust, S. H.; VALIZADEH, H.; HESARI, J., 2016. Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector. *Journal of Experimental Nanoscience*, 11(9), 737-759.

EPHREM, E.; NAJJAR, A.; CHARCOSSET, C.; GREIGE-GERGES, H., 2019. Use of free and encapsulated nerolidol to inhibit the survival of *Lactobacillus fermentum* in fresh orange juice. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110795.

ESPAÑA, J. M.; FAGES, E.; MORIANA, R.; BORONAT, T.; BALART, R., 2012. Antioxidant and antibacterial effects of natural phenolic compounds on green composite materials. *Polymer composites*, 33(8), 1288-1294.

ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; PAGÁN, R., 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food control*, 22(6), 896-902.

FANG, S.; PENG, X.; LIANG, X.; SHEN, J.; WANG, J.; CHEN, J.; MENG, Y., 2019. Enhancing Water Solubility and Stability of Natamycin by Molecular Encapsulation in Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin and its Mechanisms by Molecular Dynamics Simulations. *Food Biophysics*, 1-8.

FERNÁNDEZ-LUCAS, J.; CASTAÑEDA, D.; HORMIGO, D., 2017. New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 91-101.

FRANCOLINI, I.; NORRIS, P.; PIOZZI, A.; DONELLI, G.; STOODLEY, P., 2004. Usnic acid, a natural antimicrobial agent able to inhibit bacterial biofilm formation on polymer surfaces. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(11), 4360-4365.

FU, L.; LU, W.; ZHOU, X., 2016. Phenolic compounds and in vitro antibacterial and antioxidant activities of three tropic fruits: persimmon, guava, and sweetsop. *BioMed research international*, 2016.

GARCÍA-MORENO, P. J.; STEPHANSEN, K.; VAN DER KRUIJS, J.; GUADIX, A.; GUADIX, E. M.; CHRONAKIS, I. S.; JACOBSEN, C., 2016. Encapsulation of fish oil in nanofibers by emulsion electrospinning: Physical characterization and oxidative stability. *Journal of food engineering*, 183, 39-49.

GARCÍA-TOLEDO, J. A.; TORRESTIANA-SÁNCHEZ, B.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, C. E.; TEJERO-ANDRADE, J. M.; GARCÍA-BÓRQUEZ, A.; MENDOZA-GARCÍA, P. G., 2019. Nanoencapsulation of a Bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* ITV26 by Microfluidization. *Food and Bioprocess Technology*, 12(1), 88-97.

GÂREA, S. A.; MIHAI, A. I.; GHEBAUR, A.; NISTOR, C.; SÂRBU, A., 2015. Porous clay heterostructures: A new inorganic host for 5-fluorouracil encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 491(1-2), 299-309.

GAVINI, E.; SANNA, V.; JULIANO, C.; BONFERONI, M. C.; GIUNCHEDI, P., 2002. Mucoadhesive vaginal tablets as veterinary delivery system for the controlled release of an antimicrobial drug, acriflavine. *AAPS PharmSciTech*, 3(3), 32-38.

GHANBARZADEH, B.; KEIVANI, F.; MOHAMMADI, M., 2019. Encapsulation of food ingredients by solid lipid nanoparticles (SLNs). In *Lipid-Based Nanostructures for Food Encapsulation Purposes* (pp. 179-216). Academic Press.

GHOORBANZADE, T.; JAFARI, S. M.; AKHAVAN, S.; HADAVI, R., 2017. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food chemistry*, 216, 146-152.

GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C., 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *science*, 327(5967), 812-818.

- GOMES, L. P.; SOUZA, H. K.; CAMPIÑA, J. M.; ANDRADE, C. T.; SILVA, A. F.; GONÇALVES, M. P.; PASCHOALIN, V. M. F., 2019. Edible chitosan films and their nanosized counterparts exhibit antimicrobial activity and enhanced mechanical and barrier properties. *Molecules*, 24(1), 127.
- GOY, R. C.; BRITTO, D. D.; ASSIS, O. B., 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), 241-247.
- GOZÁLBEZ, M.; PEROTTI, M.; WOLF, I., 2018. Uso de aditivos fosfóricos en la industria alimentaria: Implicancia en la salud de los pacientes con problemas renales.
- GRANATA, G.; STRACQUADANIO, S.; LEONARDI, M.; NAPOLI, E.; CONSOLI, G. M. L.; CAFISO, V.; STEFANI, S.; GERACI, C., 2018. Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. *Food chemistry*, 269, 286-292.
- GUARDABASSI, L.; COURVALIN, P., 2006. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin* (pp. 1-18). American Society of Microbiology.
- GUIL-GUERRERO, J. L.; RAMOS, L.; MORENO, C.; ZÚÑIGA-PAREDES, J. C.; CARLOSAMA-YEPEZ, M.; RUALES, P., 2016. Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics. *Livestock Science*, 189, 32-49.
- GUIMARÃES, A. C.; MEIRELES, L. M.; LEMOS, M. F.; GUIMARÃES, M. C. C.; ENDRINGER, D. C.; FRONZA, M.; SCHERER, R., 2019. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13): 2471.
- 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(3), 309-315.
- GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A., 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429.
- HASSAN, M.; KJOS, M.; NES, I. F.; DIEP, D. B.; LOTFIPOUR, F., 2012. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *Journal of applied microbiology*, 113(4), 723-736.
- HE, C.; ZHANG, Z.; LI, B.; XU, Y.; TIAN, S., 2019. Effect of natamycin on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*—Postharvest pathogens of grape berries and jujube fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 151, 134-141.
- HERNANDEZ, M. R.; HERNÁNDEZ, M. D. L. P. A.; ALMARAZ, M. J.; GUEVARA, M. L. L.; GUEVARA J. J. L., 2019. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*), en fase de vapor sobre *Salmonella* entérica, en un emulsionado cárnico. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 2.
- HIDALGO ARRIAGA, M. N.; VARGAS GONZALEZ, F. K., 2010. *Análisis del efecto del tipo de agente osmótico en la transferencia de masa durante el secado y en la vida útil del babaco deshidratado* (Bachelor's thesis).
- HONIKEL, K. O., 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat science*, 78(1-2), 68-76.
- HU, J.; SHI, X.; CHEN, J.; MAO, X.; ZHU, L.; YU, L.; SHI, J., 2014. Alkaloids from *Toddalia asiatica* and their cytotoxic, antimicrobial and antifungal activities. *Food chemistry*, 148, 437-444.
- HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L., 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.

- IBRAHIM, S. A.; YANG, H.; SEO, C. W., 2008. Antimicrobial activity of lactic acid and copper on growth of Salmonella and Escherichia coli O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. *Food Chemistry*, 109(1), 137-143.
- IRKIN, R.; ESMER, O. K., 2015. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. *Journal of food science and technology*, 52(10), 6095-6111.
- JABEEN, U.; KHANUM, A., 2017. Isolation and characterization of potential food preservative peptide from Momordica charantia L. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3982-S3989.
- JAFARI, S. M.; PAXIMADA, P.; MANDALA, I.; ASSADPOUR, E.; MEHRNIA, M. A., 2017. Encapsulation by nanoemulsions. In *Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries* (pp. 36-73). Academic Press.
- JIAO, D.; LIU, Y.; ZENG, R.; HOU, X.; NIE, G.; SUN, L.; FANG, Z., 2020. Preparation of phosphatidylcholine nanovesicles containing bacteriocin CAMT2 and their anti-listerial activity. *Food Chemistry*, 314, 126244.
- JING, L.; LEI, Z.; LI, L.; XIE, R.; XI, W.; GUAN, Y.; SUMNER, L. W.; ZHOU, Z., 2014. Antifungal activity of citrus essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(14), 3011-3033.
- JORQUERA, D.; GALARCE, N.; BORIE, C., 2015. El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista chilena de infectología*, 32(6), 678-688.
- JUNEJA, V. K.; DWIVEDI, H. P.; YAN, X., 2012. Novel natural food antimicrobials. *Annual review of food science and technology*, 3, 381-403.
- JUNKA, A.; DUDEK, B.; CZAJKOWSKA, J.; ZEGAN, A.; MIGDAL, P.; BIL-LULA, I.; FIJALKOWSKI, K., 2019. The Prospect of Bacterial Cellulose Impregnated with Antimicrobials in Treatment of Biofilm-Related Bone Infections. In *4th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BACTERIAL NANOCELLULOSE*.
- KAPOOR, M. P.; VINU, A.; FUJII, W.; KIMURA, T.; YANG, Q.; KASAMA, Y.; YANAGI, M.; JUNEJA, L. R., 2010. Self-assembly of mesoporous silicas hollow microspheres via food grade emulsifiers for delivery systems. *Microporous and mesoporous materials*, 128(1-3), 187-193.
- KASHIRI, M.; CERISUELO, J. P.; DOMÍNGUEZ, I.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; MURIEL-GALLET, V.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P., 2017. Zein films and coatings as carriers and release systems of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil for antimicrobial food packaging. *Food Hydrocolloids*, 70: 260-268.
- KERESZT, A.; MERGAERT, P.; MONTIEL, J.; ENDRE, G.; KONDOROSI, É., 2018. Impact of plant peptides on symbiotic nodule development and functioning. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1026.
- KHARE, A. R.; VASISHT, N., 2014. Nanoencapsulation in the food Industry: technology of the future. In *Microencapsulation in the food industry* (pp. 151-155). Academic Press.
- KHORSHIDIAN, N.; YOUSEFI, M.; KHANNIRI, E.; MORTAZAVIAN, A. M., 2018. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45: 62-72.
- KIM, W. S.; OHASHI, M.; SHIMAZAKI, K. I., 2016. Inhibitory Effects of Synthetic Peptides Containing Bovine Lactoferrin C-lobe Sequence on Bacterial Growth. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(4), 452.
- KO, S. J.; KANG, N. H.; KIM, M. K.; PARK, J.; PARK, E.; PARK, G. H.; KANG, T. W.; NA, D. E.; PARK, J. B.; YI, Y. E.; JEON, S. H.; PARK, Y., 2019. Antibacterial and anti-biofilm activity, and mechanism of action of pleurocidin against drug resistant Staphylococcus aureus. *Microbial pathogenesis*, 127, 70-78.

KOVALSKAYA, N. Y.; HERNDON, E. E.; FOSTER-FREY, J. A.; DONOVAN, D. M.; HAMMOND, R. W., 2019. Antimicrobial activity of bacteriophage derived triple fusion protein against *Staphylococcus aureus*. *AIMS microbiology*, 5(2), 158.

KUMARI, S.; KUMARASWAMY, R. V.; CHOUDHARY, R. C.; SHARMA, S. S.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V., 2018. Thymol nanoemulsion exhibits potential antibacterial activity against bacterial pustule disease and growth promotory effect on soybean. *Scientific reports*, 8(1), 1-12.

KUMARIYA, R.; GARSA, A. K.; RAJPUT, Y. S.; SOOD, S. K.; AKHTAR, N.; PATEL, S., 2019. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial pathogenesis*, 128, 171-177.

KWON, S. J.; CHANG, Y.; HAN, J., 2017. Oregano essential oil-based natural antimicrobial packaging film to inactivate *Salmonella enterica* and yeasts/molds in the atmosphere surrounding cherry tomatoes. *Food microbiology*, 65, 114-121.

LEE, M. H.; SEO, H. S.; PARK, H. J., 2017. Thyme oil encapsulated in halloysite nanotubes for antimicrobial packaging system. *Journal of food science*, 82(4), 922-932.

LI, L.; WANG, H.; CHEN, M.; JIANG, S.; CHENG, J.; LI, X.; ZHANG, M.; JIANG, S., 2020. Gelatin/zein fiber mats encapsulated with resveratrol: Kinetics, antibacterial activity and application for pork preservation. *Food Hydrocolloids*, 101, 105577.

LI, W.; ZHANG, C.; CHI, H.; LI, L.; LAN, T.; HAN, P.; CHEN, H.; QIN, Y., 2017. Development of antimicrobial packaging film made from poly (lactic acid) incorporating titanium dioxide and silver nanoparticles. *Molecules*, 22(7), 1170.

LIAQAT, A.; ZAHOOR, T.; ATIF RANDHAWA, M.; SHAHID, M., 2019. Characterization and antimicrobial potential of bioactive components of sonicated extract from garlic (*Allium sativum*) against foodborne pathogens. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), e13936.

LIBRÁN, C. M.; CASTRO, S.; LAGARON, J. M., 2017. Encapsulation by electrospray coating atomization of probiotic strains. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 216-222.

LIN, L.; ZHU, Y.; CUI, H., 2018. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 treated by poly-L-lysine-coated bacteriophages liposomes in pork. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12535.

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.

MAAZOUN, A. M.; HAMDANE, A. M.; BELHADJ, F.; MARZOUKI, M. N., 2019. In vitro antimicrobial activity of *Urginea maritima* (L.) Baker bulb extract against food-borne pathogens.

MALHEIROS, P. S.; CUCCOVIA, I. M.; FRANCO, B. D., 2016. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in vitro and in goat milk by liposomal nanovesicles containing bacteriocins produced by *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a. *Food Control*, 63, 158-164.

MARIANI, M.; JAIMES, G.; FERNANDEZ, R., 2010. Efecto bacteriostático del extracto de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* in vitro. *ODOUS científica*, 11(1), 15-22.

MARÍN, D.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., 2018. Encapsulation of food waste compounds in soy phosphatidylcholine liposomes: Effect of freeze-drying, storage stability and functional aptitude. *Journal of food engineering*, 223, 132-143.

- MARTÍNEZ, B.; GARCÍA, P.; RODRÍGUEZ, A., 2019. Swapping the roles of bacteriocins and bacteriophages in food biotechnology. *Current opinion in biotechnology*, 56, 1-6.
- MATTAR, E. H.; ALMEHDAR, H. A.; YACOUB, H. A.; UVERSKY, V. N.; REDWAN, E. M., 2016. Antimicrobial potentials and structural disorder of human and animal defensins. *Cytokine & growth factor reviews*, 28, 95-111.
- MCCLEMENTS, D. J.; XIAO, H., 2017. Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. *npj Science of Food*, 1(1), 1-13.
- MEDINA VENTURA, C., 2017. Evaluación de la actividad antimicrobiana de componentes bioactivos de aceites esenciales inmovilizados sobre micropartículas de sílice.
- MÉRILLON, J. M.; RIVIERE, C. (Eds.), 2018. *Natural antimicrobial agents*. 1st ed. (Vol. 19). Springer.
- MIN, S.; HARRIS, L. J.; KROCHTA, J. M., 2005. Antimicrobial effects of lactoferrin, lysozyme, and the lactoperoxidase system and edible whey protein films incorporating the lactoperoxidase system against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Food Science*, 70(7), m332-m338.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2012. *Plan de Acción para la Calidad de los Productos Pesqueros 2010-2012*, visto el 19 de abril de 2020.  
<<https://www.mapa.gob.es/eu/pesca/temas/calidad-seguridad-alimentaria/guias.aspx>>
- MORAES-LOVISON, M.; MAROSTEGAN, L. F.; PERES, M. S.; MENEZES, I. F.; GHIRALDI, M.; RODRIGUES, R. A. F.; FERNANDES, A. M.; PINHO, S. C., 2017. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: Production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. *LWT*, 77, 233-240.
- MOURTZINOS, I.; BILIADERIS, C. G., 2017. Principles and applications of encapsulation technologies to food materials. *Thermal and Nonthermal Encapsulation Methods*.
- MULLA, M.; AHMED, J.; AL-ATTAR, H.; CASTRO-AGUIRRE, E.; ARFAT, Y. A.; AURAS, R., 2017. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. *Food Control*, 73, 663-671.
- MURILLO, J. M. S., 2019. Es noticia...: Los veterinarios, profesionales imprescindibles ante un brote de origen alimentario. *Badajoz Veterinaria*, (17), 12-13.
- MUSTAPHA, A.; LEE, J. H., 2017. Food preservation and safety. In *Microbial Control and Food Preservation* (pp. 1-15). Springer, New York, NY.
- NAKANO, M.; WAKABAYASHI, H.; SUGAHARA, H.; ODAMAKI, T.; YAMAUCHI, K.; ABE, F.; XIAO, J.; MURAKAMI, K.; ISHIKAWA, K.; HIRONAKA, S., 2017. Effects of lactoferrin and lactoperoxidase-containing food on the oral microbiota of older individuals. *Microbiology and immunology*, 61(10), 416-426.
- NAKAZATO, G.; KOBAYASHI, R. K.; SEABRA, A. B.; DURAN, N., 2017. Use of nanoparticles as a potential antimicrobial for food packaging. In *Food Preservation* (pp. 413-447). Academic Press.
- NECIOSUP, E.; VERGARA, M.; PAIRAZAMÁN, O.; APABLAZA, M.; ESPARZA, M., 2015. Cobre antimicrobiano contra patógenos intrahospitalarios en Perú. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 76, No. 1, pp. 9-14). UNMSM. Facultad de Medicina.
- OLEJNÍKOVÁ, P.; THOMAY, S.; PAGÁČ, T.; JEŽÍKOVÁ, Z.; MARCHALÍN, Š.; ŠAFAŘ, P., 2017. Antimicrobial activity of newly synthesized thienoquinolizidines derivatives: inspired by natural plant alkaloids. *Chemical Papers*, 71(12), 2375-2383.

OMS, 2015. *Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria*, visto el 12 de mayo de 2020.

<<https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>>

OMS, 2020. *Uso de los antimicrobianos*, visto el 21 de mayo de 2020.

<<https://www.who.int/drugresistance/use/es/>>

OPS, 2015. *Clasificación de los peligros*, visto el 29 de abril de 2020.

<[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10837:2015-clasificacion-peligros&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10837:2015-clasificacion-peligros&Itemid=41432&lang=es)>

ÖTKER, H. M.; AKMEHMET-BALCIOĞLU, I., 2005. Adsorption and degradation of enrofloxacin, a veterinary antibiotic on natural zeolite. *Journal of Hazardous Materials*, 122(3), 251-258.

OUERGHEMMI, I.; REBEY, I. B.; RAHALI, F. Z.; BOURGOU, S.; PISTELLI, L.; KSOURI, R.; MARZOUK, B.; TOUNSI, M. S., 2017. Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of food and drug analysis*, 25(2), 350-359.

PABAST, M.; SHARIATIFAR, N.; BEIKZADEH, S.; JAHED, G., 2018. Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated *Satureja* plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food control*, 91, 185-192.

PADIL, V. V.; WACŁAWEK, S.; ČERNÍK, M.; VARMA, R. S., 2018. Tree gum-based renewable materials: Sustainable applications in nanotechnology, biomedical and environmental fields. *Biotechnology advances*, 36(7), 1984-2016.

PANDIT, R.; RAI, M.; SANTOS, C. A., 2017. Enhanced antimicrobial activity of the food-protecting nisin peptide by bioconjugation with silver nanoparticles. *Environmental Chemistry Letters*, 15(3), 443-452.

PARK, S. Y.; PENDLETON, P., 2012. Mesoporous silica SBA-15 for natural antimicrobial delivery. *Powder technology*, 223, 77-82.

PARRA, A.; TORO, M.; JACOB, R.; NAVARRETE, P.; TRONCOSO, M.; FIGUEROA, G.; REYES-JARA, A., 2018. Antimicrobial effect of copper surfaces on bacteria isolated from poultry meat. *Brazilian journal of microbiology*, 49, 113-118.

PARRY, M.; PARRY, M. L.; CANZIANI, O.; PALUTIKOF, J.; VAN DER LINDEN, P.; HANSON, C. (Eds.), 2007. *Climate change 2007-impacts, adaptation and vulnerability: Working group II contribution to the fourth assessment report of the IPCC* (Vol. 4). Cambridge University Press.

PAVONI, L.; MAGGI, F.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; EBANI, V. V.; CESPI, M.; BONACUCINA, G.; PALMIERI, G. F., 2019. Microemulsions: An effective encapsulation tool to enhance the antimicrobial activity of selected EOs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101101.

PEREIRA-VICTORIO, C. J.; ALMAR MARQUÉS, E.; PEDREGAL CASTILLO, F.; MATEOS RAMOS, A.; DE JULIÁN, C.; GÓMEZ MARTINEZ, A.; VÁZQUEZ MOLINERO, A.; JOSEPH, J., 2016. Brote de toxiinfección alimentaria por Norovirus: estudio epidemiológico y medidas sanitarias aplicadas para evitar su recurrencia. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 9(1), 8-15.

PÉREZ-ESTEVE, E.; GÓMEZ LLORENTE, H., 2020a. Sistemas nanoestructurados basados en lípidos para la encapsulación de compuestos bioactivos.

PÉREZ-ESTEVE, E.; GÓMEZ LLORENTE, H., 2020b. Sistemas de encapsulación de compuestos bioactivos basados en emulsiones.

PÉREZ-ESTEVE, É.; RUIZ-RICO, M.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R.; BARAT, J. M., 2015. Mesoporous silica-based supports for the controlled and targeted release of bioactive molecules in the gastrointestinal tract. *Journal of food science*, 80(11), E2504-E2516.

PÉREZ-REYES, M. E.; SOSA-MORALES, M. E., 2013. Mecanismos de transferencia de calor que ocurren en tratamientos térmicos de alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de alimentos*, 7(1), 37-47.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; GEORGESCU, C.; TURCUȘ, V.; OLAH, N. K.; MATHE, E., 2018a. An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922-935.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; CIMPEANU, C.; TURCUȘ, V.; PREDOI, G.; IORDACHE, F., 2018b. Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity-A critical view. *European journal of medicinal chemistry*, 157, 1326-1345.

PLÁCIDO, A.; BRAGANÇA, I.; MARANI, M.; DE ARAUJO, A. R.; VASCONCELOS, A. G.; BATZIOU, K.; DOMINGUES, V. F.; EATON, P.; ALMEIDA LEITE, J. R.; DELERUE-MATOS, C., 2017. Antibacterial activity of novel peptide derived from Cry1Ab16 toxin and development of LbL films for foodborne pathogens control. *Materials Science and Engineering: C*, 75, 503-509.

POLETTI, G.; RADDATZ, G. C.; CICHOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; BARIN, J. S.; WAGNER, R.; DE MENEZES, C. R., 2019. Study of viability and storage stability of *Lactobacillus acidophilus* when encapsulated with the prebiotics rice bran, inulin and Hi-maize. *Food Hydrocolloids*, 95, 238-244.

PORTO, M. C. W.; KUNIYOSHI, T. M.; AZEVEDO, P. O. S.; VITOLO, M.; OLIVEIRA, R. P. D. S., 2017. *Pediococcus* spp.: an important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, 35(3), 361-374.

QUESADA, A.; REGINATTO, G. A.; RUIZ ESPAÑOL, A.; COLANTONIO, L. D.; BURRONE, M. S., 2016. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 33, 32-44.

RADÜNZ, M.; DA TRINDADE, M. L. M.; CAMARGO, T. M.; RADÜNZ, A. L.; BORGES, C. D.; GANDRA, E. A.; HELBIG, E., 2019. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food chemistry*, 276, 180-186.

RAI, M.; PARALIKAR, P.; JOGEE, P.; AGARKAR, G.; INGLE, A. P.; DERITA, M.; ZACCHINO, S., 2017. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: emerging trends and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1-2), 67-78.

RASFF, 2018. *2018 annual report*, visto el 19 de abril de 2020.

<[https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff\\_annual\\_report\\_2018.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2018.pdf) >

RASHIDI, L.; KHOSRAVI-DARANI, K., 2011. The applications of nanotechnology in food industry. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(8), 723-730.

RASTOGI, V.; YADAV, P.; VERMA, N.; VERMA, A., 2018. Preparation and characterization of transdermal mediated microemulsion delivery of T4 bacteriophages against *E. coli* bacteria: a novel anti-microbial approach. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 48(3), 393-407.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T.; BRUNTON, N., 2011. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44(7), 1875-1887.

REN, D.; ZHU, J.; GONG, S.; LIU, H.; YU, H., 2018. Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. *BioMed research international*, 2018.

- RODRÍGUEZ-RUBIO, L.; MARTÍNEZ, B.; RODRÍGUEZ, A.; DONOVAN, D. M.; GÖTZ, F.; GARCÍA, P., 2013. The phage lytic proteins from the Staphylococcus aureus bacteriophage vB\_SauS-phiPLA88 display multiple active catalytic domains and do not trigger staphylococcal resistance. *PloS one*, 8(5).
- ROJAS, J. J.; OCHOA, V. J.; OCAMPO, S. A.; MUÑOZ, J. F., 2006. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 1-6.
- ROMEO, F. V.; FABRONI, S.; BALLISTRERI, G.; MUCCILLI, S.; SPINA, A.; RAPISARDA, P., 2018. Characterization and Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts from Seeds of Different Genotypes of Lupinus spp. *Sustainability*, 10(3), 788.
- RUIZ-RICO, M.; PÉREZ-ESTEVE, É.; BARAT, J. M., 2018. Use of Nanotechnology as an Antimicrobial Tool in the Food Sector. In *Nanobiotechnology* (pp. 413-452). CRC Press.
- RUIZ-ROLDÁN, L.; MARTÍNEZ-PUCHOL, S.; GOMES, C.; PALMA, N.; RIVEROS, M.; OCAMPO, K.; DURAND, D.; OCHOA, T. J.; RUIZ, JOAQUIM.; PONS, M. J., 2018. Presencia de Enterobacteriaceae y Escherichia coli multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35, 425-432.
- SADIQ, S.; IMRAN, M.; HABIB, H.; SHABBIR, S.; IHSAN, A.; ZAFAR, Y.; HAFEEZ, F. Y., 2016. Potential of monolaurin based food-grade nano-micelles loaded with nisin Z for synergistic antimicrobial action against Staphylococcus aureus. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 227-233.
- SAEED, F.; AFZAAL, M.; TUFAIL, T.; AHMAD, A., 2019. Use of Natural Antimicrobial Agents: A Safe Preservation Approach, en: *Active Antimicrobial Food Packaging*, 0-18.
- SAHA, D.; MUKHERJEE, R., 2019. Ameliorating the antimicrobial resistance crisis: phage therapy. *IUBMB life*, 71(7), 781-790.
- SALEEM, M.; NAZIR, M.; ALI, M. S.; HUSSAIN, H.; LEE, Y. S.; RIAZ, N.; JABBAR, A., 2010. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural product reports*, 27(2), 238-254.
- SAMOYLENKO, V.; JACOB, M. R.; KHAN, S. I.; ZHAO, J.; TEKWANI, B. L.; MIDIWO, J. O.; WALKER, L. A.; MUHAMMAD, I., 2009. Antimicrobial, antiparasitic and cytotoxic spermine alkaloids from Albizia schimperiana. *Natural product communications*, 4(6), 1934578X0900400611.
- SAN LUCAS, C.; CÁCERES, P. J., 2012. Uso de natamicina en pan de molde sin corteza para aumentar el tiempo de vida útil. *Ecuador.[Página de internet]*, 50-56.
- SANTOS, A. C.; FERREIRA, C.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. J.; PANCHAL, A.; LVOV, Y.; AGARWAL, A., 2018a. Halloysite clay nanotubes for life sciences applications: From drug encapsulation to bioscaffold. *Advances in colloid and interface science*, 257, 58-70.
- SANTOS, J. C.; SOUSA, R. C.; OTONI, C. G.; MORAES, A. R.; SOUZA, V. G.; MEDEIROS, E. A.; ESPITIA, P. J.; PIRES, A. C.; COIMBRA, J. S.; SOARES, N. F., 2018b. Nisin and other antimicrobial peptides: Production, mechanisms of action, and application in active food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 179-194.
- SANTOS, M. C.; NUNES, C.; SARAIVA, J. A.; COIMBRA, M. A., 2012. Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations. *European Food Research and Technology*, 234(1), 1-12.
- SAUCEDA, E. N. R., 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.

- SCOCCHI, M.; MARDIROSIAN, M.; RUNTI, G.; BENINCASA, M., 2016. Non-membrane permeabilizing modes of action of antimicrobial peptides on bacteria. *Current topics in medicinal chemistry*, 16(1), 76-88.
- SERAFINI, K. F. C.; ALENCAR, E. R.; RIBEIRO, J. L.; FERREIRA, M. D. A., 2019. Influence of the salt concentration on action mechanisms of natamycin against microorganisms of importance in food manufacture. *Food Science and Technology*, (AHEAD).
- SHAH, P. V.; RAJPUT, S. J., 2017. A comparative in vitro release study of raloxifene encapsulated ordered MCM-41 and MCM-48 nanoparticles: a dissolution kinetics study in simulated and biorelevant media. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41, 31-44.
- SHIN, J.; LEE, S., 2018. Encapsulation of phytoncide in nanofibers by emulsion electrospinning and their antimicrobial assessment. *Fibers and Polymers*, 19(3), 627-634.
- SHWAIKI, L. N.; ARENDT, E. K.; LYNCH, K. M., 2020. Study on the characterisation and application of synthetic peptide Snakin-1 derived from potato tubers–Action against food spoilage yeast. *Food Control*, 107362.
- SILVETTI, T.; MORANDI, S.; HINTERSTEINER, M.; BRASCA, M., 2017. Use of hen egg white lysozyme in the food industry. In *Egg Innovations and Strategies for Improvements* (pp. 233-242). Academic Press.
- SOMMER, M. O.; MUNCK, C.; TOFT-KEHLER, R. V.; ANDERSSON, D. I., 2017. Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm?. *Nature reviews microbiology*, 15(11), 689-696.
- SONG, C. E.; KUPPUSAMY, P.; JEONG, Y. I.; SHIM, H. H.; LEE, K. D., 2019. Microencapsulation of endophytic LAB (KCC-41) and its probiotic and fermentative potential for cabbage kimchi. *International Microbiology*, 22(1), 121-130.
- SOUZA, E. L. D.; SILVA, C. A. D.; SOUSA, C. P. D., 2005. Bacteriocins: molecules of fundamental impact on the microbial ecology and potential food biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(4), 559-566.
- SRINIVASAN, D.; NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, P. L., 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 74(3), 217-220.
- SRINIVASAN, V.; CHAVAN, S.; JAIN, U.; TARWADI, K., 2019. Liposomes for Nanodelivery Systems in Food Products. In *Nanoscience for Sustainable Agriculture* (pp. 627-638). Springer, Cham.
- STEPHEN-VICTOR, E.; FICKENSCHER, H.; BAYRY, J., 2016. IL-26: an emerging proinflammatory member of the IL-10 cytokine family with multifaceted actions in antiviral, antimicrobial, and autoimmune responses. *PLoS pathogens*, 12(6), e1005624.
- SUN, X.; CAMERON, R. G.; BAI, J., 2019. Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectin-alginate matrix. *Food hydrocolloids*, 92, 69-73.
- SURENDRHIRAN, D.; CUI, H.; LIN, L., 2019. Encapsulation of Phlorotannin in Alginate/PEO blended nanofibers to preserve chicken meat from Salmonella contaminations. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100346.
- TABAR, A. I.; ACERO, S.; ARREGUI, C.; URDÁNOZ, M.; QUIRCE, S., 2003. Asma y alergia por el colorante carmín Asthma and allergy due to carmine dye. *An. sis. sanit. Navar*, 26(Suplemento 2).
- TAYLOR, M. (Ed.), 2014. *Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality*. Elsevier.
- THERY, T.; LYNCH, K. M.; ARENDT, E. K., 2019. Natural Antifungal Peptides/Proteins as Model for Novel Food Preservatives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1327-1360.

- THUNG, T. Y.; LEE, E.; MAHYUDIN, N. A.; ANURADHA, K.; MAZLAN, N.; KUAN, C. H.; PUI, C. F.; GHAZALI, F. M.; RASHID, K. M. A.; ROLLON, W. D.; TAN, C. W., 2019. Evaluation of a lytic bacteriophage for bio-control of Salmonella Typhimurium in different food matrices. *LWT*, 105, 211-214.
- TIWARI, B. K.; VALDRAMIDIS, V. P.; O'DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J., 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 5987-6000.
- TUMBARSKI, Y.; LANTE, A.; KRASTANOV, A., 2018. Immobilization of bacteriocins from lactic acid bacteria and possibilities for application in food biopreservation. *The Open Biotechnology Journal*, 12(1).
- TZIA, C.; ZORPAS, A. A., 2012. Zeolites in food processing industries. *Handbook of Natural Zeolites*, 601-651.
- ULLAH, N.; WANG, X.; WU, J.; GUO, Y.; GE, H.; LI, T.; KHAN, S.; LI, Z.; FENG, X., 2017. Purification and primary characterization of a novel bacteriocin, LiN333, from Lactobacillus casei, an isolate from a Chinese fermented food. *LWT*, 84, 867-875.
- UNE-EN ISO 9235:2013, 2014. *Materias primas aromáticas naturales. Vocabulario*. Asociación Española de Normalización y Certificación.
- VICENTE, M. D. C. E., 2017. Envasado, conservación y desarrollo de nuevos productos de dorada (*Sparus aurata*). *Revista AQUATIC*, (45), 24-25.
- VILLAVICENCIO, S. A., 2007. *Relación entre la ausencia de tratamiento térmico de la leche con la contaminación microbiológica del queso fresco en el cantón Píllaro* (Bachelor's thesis).
- VIMONT, A.; FERNANDEZ, B.; AHMED, G.; FORTIN, H. P.; FLISS, I., 2019. Quantitative antifungal activity of reuterin against food isolates of yeasts and moulds and its potential application in yogurt. *International journal of food microbiology*, 289, 182-188.
- VINCEKOVIĆ, M.; VISKIĆ, M.; JURIĆ, S.; GIACOMETTI, J.; KOVAČEVIĆ, D. B.; PUTNIK, P.; DONSI, F.; BARBA, F. J.; JAMBRAK, A. R., 2017. Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. *Trends in food science & technology*, 69, 1-12.
- WANG, H.; HAO, L.; WANG, P.; CHEN, M.; JIANG, S.; JIANG, S., 2017. Release kinetics and antibacterial activity of curcumin loaded zein fibers. *Food Hydrocolloids*, 63, 437-446.
- WANG, S.; ZENG, X.; YANG, Q.; QIAO, S., 2016. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 603.
- WEISS, J.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J.; KRISTBERGSSON, K.; HELGASON, T.; AWAD, T., 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), 146-154.
- WEISS, J.; GAYSINSKY, S.; DAVIDSON, M.; MCCLEMENTS, J., 2009. Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In *Global issues in food science and technology* (pp. 425-479). Academic Press.
- WEN, P.; ZHU, D. H.; WU, H.; ZONG, M. H.; JING, Y. R.; HAN, S. Y., 2016. Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. *Food Control*, 59, 366-376.
- WEN, P.; ZONG, M. H.; LINHARDT, R. J.; FENG, K.; WU, H., 2017. Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 70, 56-68.
- WITZLER, M.; KÜLLMER, F.; HIRTZ, A.; GÜNTHER, K., 2016. Validation of gold and silver nanoparticle analysis in fruit juices by single-particle ICP-MS without sample pretreatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(20), 4165-4170.

- WORAPRAYOTE, W.; PUMPUANG, L.; TOSUKHOWONG, A.; ZENDO, T.; SONOMOTO, K.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W., 2018. Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with Bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. *LWT*, *89*, 427-433.
- XIE, J.; OBIEFUNA, V.; HODGKINSON, J. W.; MCALLISTER, M.; BELOSEVIC, M., 2019. Teleost antimicrobial peptide hepcidin contributes to host defense of goldfish (*Carassius auratus* L.) against *Trypanosoma carassii*. *Developmental & Comparative Immunology*, *94*, 11-15.
- YOUSSEF, H. F.; EL-NAGGAR, M. E.; FOUUDA, F. K.; YOUSSEF, A. M., 2019. Antimicrobial packaging film based on biodegradable CMC/PVA-zeolite doped with noble metal cations. *Food Packaging and Shelf Life*, *22*, 100378.
- YU, H.; ZHANG, L.; LI, L.; ZHENG, C.; GUO, L.; LI, W.; SUN, P.; QIN, L., 2010. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological research*, *165*(6), 437-449.
- YUAN, C.; WANG, Y.; LIU, Y.; CUI, B., 2019. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Industrial crops and products*, *130*, 104-110.
- ZAEIM, D.; SARABI-JAMAB, M.; GHORANI, B.; KADKHODAEI, R., 2019. Double layer co-encapsulation of probiotics and prebiotics by electro-hydrodynamic atomization. *LWT*, *110*, 102-109.
- ZANETTI, M.; CARNIEL, T. K.; DALCANTON, F.; DOS ANJOS, R. S.; RIELLA, H. G.; DE ARAUJO, P. H.; DE OLIVEIRA, D.; FIORI, M. A., 2018. Use of encapsulated natural compounds as antimicrobial additives in food packaging: A brief review. *Trends in Food Science & Technology*, *81*, 51-60.
- ZAPATA-ÁLVAREZ, A.; MEJÍA, C. E.; RESTREPO-MOLINA, D. A., 2019. Efecto Protector de un Antimicrobiano Natural Frente a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* y *E. coli* en Salchicha y Mortadela. *Información tecnológica*, *30*(2), 235-244.
- ZASLOFF, M., 2002. Antimicrobial peptides in health and disease. *New England Journal of Medicine*, *347*(15), 1199-1199.
- ZHANG, H.; LIANG, Y.; LI, X.; KANG, H., 2020. Effect of chitosan-gelatin coating containing nano-encapsulated tarragon essential oil on the preservation of pork slices. *Meat Science*, 108137.
- ZHANG, M.; WEI, W.; SUN, Y.; JIANG, X.; YING, X.; TAO, R.; NI, L., 2016. Pleurocidin congeners demonstrate activity against *Streptococcus* and low toxicity on gingival fibroblasts. *Archives of oral biology*, *70*, 79-87.
- ZHANG, Y.; PU, C.; TANG, W.; WANG, S.; SUN, Q., 2019. Gallic acid liposomes decorated with lactoferrin: characterization, in vitro digestion and antibacterial activity. *Food chemistry*, *293*, 315-322.
- ZHAO, S.; CARUSO, F.; DAHNE, L.; DECHER, G.; DE GEEST, B. G.; FAN, J.; FELIU, N.; GOGOTSI, Y.; HAMMOND, P. T.; HERSAM, M. C.; KHADEMHOSEINI, A.; KOTOV, N.; LEPORATTI, S.; LI, Y.; LISDAT, F.; LIZMARZÁN, L. M.; MOYA, S.; MULVANEY, P.; ROGACH, A. L.; ROY, S.; SHCHUKIN, D. G.; SKIRTACH, A. G.; STEVENS, M. M.; SUKHORUKOV, G.B.; WEISS, P. S.; YUE, Z.; ZHU, D.; PARAK, W. J., 2019. The Future of Layer-by-Layer Assembly: A Tribute to ACS Nano Associate Editor Helmuth Möhwald. *ACS nano*, *13*(6), 6151-6169.
- ZHENG, T.; PILLA, S., 2018. Encapsulating Hydrophilic Solution by PU-PMF Double-Component Capsule Based on Water-In-Oil-In-Oil Emulsion Template. *Macromolecular Chemistry and Physics*, *219*(4), 1700418.