



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA ESTABILIZACIÓN MICROBIANA DE ALIMENTOS MEDIANTE EL USO DE LA NANOTECNOLOGÍA

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN DE LA
SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO/A: PATRICIA NOGUERA MARGAIX
TUTORES ACADÉMICOS: ÉDGAR PÉREZ ESTEVE
JOSÉ MANUEL BARAT BAVIERA

Curso Académico: 2019/2020

VALENCIA, Julio 2020

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA ESTABILIZACIÓN MICROBIANA DE ALIMENTOS MEDIANTE EL USO DE LA NANOTECNOLOGÍA

Patricia Noguera Margaix¹, Édgar Pérez Esteve¹, José Manuel Barat
Baviera.

RESUMEN

Las recientes crisis alimentarias que se han dado lugar en España en el último año ponen de manifiesto que la seguridad alimentaria es un tema que todavía no está resuelto. En este sentido la búsqueda de nuevas técnicas de estabilización microbiana de alimentos para complementar o sustituir a los convencionales tratamientos térmicos es vista como una solución prometedora, como ha resultado ser el uso de la nanotecnología. El objetivo de este trabajo es analizar las recientes crisis alimentarias, identificar los organismos microbianos responsables, revisar casos de éxito descritos en la literatura para combatir de manera específica estos riesgos utilizando tratamientos no térmicos de conservación basados en la nanotecnología y detectar también oportunidades para la generación de nuevas vías de investigación. Resultado del cual se concluye que la nanotecnología, a pesar de encontrarse en un temprano período de investigación, da lugar a resultados antimicrobianos muy positivos. Sin embargo hay mucho contenido todavía por averiguar, ya que aparecen frente a las conclusiones de los mismos trabajos ya realizados y las nuevas posibilidades de estudio, la necesidad de conocer la completa inocuidad de este tratamiento hacia el ser humano y la mejora en su desarrollo.

PALABRAS CLAVE: Crisis alimentarias, antimicrobianos naturales, alertas, tratamientos térmicos, microorganismos alimentarios, estudios, nanotecnología, técnicas de procesado, aditivos.

RESUM

Les recents crisis alimentàries que han donat lloc a Espanya en l'últim any posen de manifest que la seguretat alimentària és un tema que encara no està resolt, en aquest sentit la recerca de noves tècniques d'estabilització microbiana d'elements per a emplenar o substituir els convencionals tractaments tèrmics és vist com una solució prometedora, com ha resultat ser l'ús de la nanotecnologia. L'objectiu d'aquest treball és analitzar les recents crisis alimentàries, identificar els organismes microbians responsables, revisar casos d'èxit descrites en la literatura per a combatre, de manera específica aquests

¹ Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València.

regs utilitzant tractaments no tèrmics de conservació i detectar oportunitats per a la generació de noves vies de investigació. Resultat del qual es conclou que la nanotecnologia, tot i trobar-se en un primerenc període d'investigació, dona lloc a resultats antimicrobians molt positius. No obstant, encara queda molt per descobrir, a causa de l'aparició en les conclusions de la mateixa feina ja realitzat i les noves possibilitats d'estudi, la necessitat de conèixer la completa innocuïtat d'aquest tractament per als humans i la millora en el seu desenvolupament.

PARAULES CLAU: Crisi alimentàries, antimicrobians naturals, alertes, tractaments tèrmics, microorganismes alimentaris, estudis, nanotecnologia, tècniques de processat, additius.

ABSTRACT

The current food crises that have taken place in Spain in the last year show that food security is an issue that has not yet been resolved, in this sense the search for new techniques for the microbial stabilization of elements to complete or replace the Conventional heat treatments is seen as a promising solution, as the use of nanotechnology has turned out to be. The objective of this work is to analyze the recent food crises, identify the responsible microbial organisms, review success stories described in the literature to specifically combat these risks using non-thermal conservation treatments and detect opportunities for the generation of new ways of investigation. Result of which it is concluded that the nanotechnology, despite being in an early period of investigation, gives rise to very positive antimicrobial results. However, there is much content still to be discovered, due to appear in the conclusions of the same work already carried out and the new possibilities of study, the need to know the complete harmlessness of this treatment for humans and the improvement in its development.

KEY WORDS: Food crises, natural antimicrobials, alerts, heat treatments, food microorganisms, studies, nanotechnology, processing techniques, additives.

1. INTRODUCCIÓN

Recientemente y en concreto durante el mes de agosto del pasado año 2019, se ha dado en España uno de los casos de intoxicación alimentaria: el conocido como caso de la carne mechada. Tras varios brotes de toxiinfección alimentaria en la Comunidad Autónoma de Andalucía, desde el laboratorio oficial de Sevilla se informó del resultado positivo de presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de carne mechada de la marca "La Mechá", elaborada por una empresa ubicada en el municipio de Sevilla. Para un mayor control se consideró como producto afectado todo el aquel fabricado desde el mes de mayo del mismo año 2019, dado que la fecha de caducidad era de tres meses (AESAN, 2019). Las consecuencias finales de este brote fueron siete abortos, tres muertes y más de 200 afectados (La Razón, 2019).

Esta alerta sanitaria no es un caso aislado. Sólo en el último año en España se informó desde la página web de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) de 8 alertas alimentarias, 6 por *Listeria*, de las cuales 4 estaban asociadas a productos cárnicos.

Los derivados de los animales como la carne o la leche, están considerados dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos, por su alto contenido en agua fácilmente disponible. Esto favorece el crecimiento en los mismos de una gran variedad de microorganismos (Hui et al., 2006; Varnam y Sutherland, 1998). En el caso de la carne, esta se encuentra expuesta a la contaminación microbiana desde el momento en que se desangra el animal hasta el momento del consumo. La correcta evaluación de la carga microbiana, así como la detección, identificación y caracterización de los microorganismos presentes en la misma o en la zona de procesado y condiciones posteriores a su manejo, como envasado y mantenimiento, es de suma importancia para evitar estas situaciones de riesgo (Rodríguez-Soto, 2007).

La seguridad alimentaria cada vez está más controlada y en constante evolución de mejora, pero a pesar de las medidas de control, aún en Europa siguen existiendo brotes infecciosos en la industria alimentaria debido a microorganismos capaces de poner en serio peligro a la población. Es cierto que el riesgo alimentario cero, no es real, pero es necesario incrementar la prevención y el control para llegar a estar lo más cerca posible de ello (Ventura, 2013).

Este número significativo de alertas sanitarias conviven por otra parte con el creciente interés y demanda por parte del consumidor de alimentos considerados como más naturales, provocando el consiguiente rechazo de aditivos y conservantes (Álvarez-Parrilla, 2005), responsables en parte de asegurar la seguridad alimentaria de los alimentos. Debido a este cambio, los profesionales e investigadores de la industria alimentaria se han centrado en los últimos años en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos naturales que permitan la confluencia de ambos escenarios: una reducción de aditivos de síntesis y salvaguardar la seguridad alimentaria (Capeletti et al., 2014; Weiss et al., 2009).

Además de esto, se ha intentado llevar a cabo el desarrollo y diseño de nuevas tecnologías, equipos, procesos y metodologías que permitan obtener productos con características semejantes a los alimentos frescos ([Raybaudi-Massilia et al., 2006](#)).

En la tecnología de alimentos los tratamientos térmicos han sido por excelencia el método más utilizado para la conservación de los alimentos. Pero este procesamiento térmico provoca cambios sensoriales indeseables en los alimentos o cierto grado de pérdida nutricional de los mismos ([Choi y Nielsen, 2005](#)). En respuesta, desde la industria alimentaria se ha investigado y desarrollado la aplicación de métodos alternativos a este tratamiento térmico. Algunos de estos son la aplicación de las altas presiones hidrostáticas (HHP), la aplicación de luz ultravioleta (UV) sobre el alimento, y la estabilización microbiana de alimentos mediante el uso de ultrasonidos de alta intensidad (HPU). El uso de estas tecnologías de procesado, a pesar de ser eficaces contra microorganismos implica varias limitaciones. En el caso de HHP, las principales son: el alto coste de los equipos e instalación; discontinuidad en el proceso, ya que para una producción continua y más productiva se necesita varios cilindros trabajando en paralelo; su aplicación a determinados tipos de envasado de alimentos, como son envases al vacío o con poco aire, para así evitar la rotura del envase; y posibles afecciones sobre la textura del alimento ([Guignon, 2011](#)). La aplicación de luz UV a pesar de resultar una tecnología de procesado aventajada al resto, posee una serie de desventajas como son la limitada penetración en materiales sólidos y en líquidos no transparentes, además de la posible reparación por parte de los mismos microorganismos de los efectos producidos en los mismos tras su aplicación ([Domínguez y Parzanese, 2011](#)). Y en la aplicación de HPU nos encontramos que actualmente es difícil hallar equipos de ultrasonidos diseñados para ser usados en industrias alimenticias. Una oferta elevada de equipamiento hace que resulte más costosa que otras técnicas convencionales. Además, la presencia de pequeñas burbujas de gas en un alimento líquido puede atenuar la onda de ultrasonido hasta el punto de que no exista propagación de la misma, sin que sea posible por lo tanto su aplicación ([Parzanese, 2013](#)).

Otra opción también en auge es el uso de la nanotecnología, la cual proporciona grandes oportunidades para la obtención de productos y aplicaciones innovadoras para la producción, conservación y envasado de alimentos seguros, usando para ello una gran diversidad de nanomateriales, que van desde metales y óxidos de metales inorgánicos a orgánicos que llevan ingredientes bioactivos ([Fúnez et al., 2016](#)). De esta manera, la nanotecnología está ofreciendo a la industria agroalimentaria alternativas viables para la prevención del deterioro de los alimentos y la lucha contra los microorganismos responsables de las principales crisis alimentarias.

El objetivo de este trabajo es identificar las aplicaciones de la nanotecnología desarrolladas para luchar explícitamente contra los microorganismos causantes de las principales crisis alimentarias de manera alternativa o complementaria a los tratamientos térmicos. Para poder llegar a ese objetivo primeramente se revisarán cuáles han sido las alertas alimentarias más graves en los últimos años, y se identificarán los microorganismos causantes de las mismas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Estudio sobre alertas alimentarias

A raíz del polémico brote de *Listeria* de “La Mechá” y sus consecuencias, se realizó una revisión sistemática de información sobre la cantidad de alertas alimentarias en España y Europa con el fin de conocer la gravedad de las mismas y sus causas. Esta información se obtuvo mediante comunicados de prensa, registros oficiales de alertas alimentarias (RASFF) y páginas web de organismos tanto privados como públicos vinculados al Gobierno de España, relacionados al Ministerio de Sanidad (AESAN), así como a organismos europeos relacionados a La Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA).

Para la búsqueda de brotes se consultó la base de datos del portal RASFF, mediante las siguientes ecuaciones de búsqueda: “*Listeria*”, “*Salmonella*”, “*E.coli*” [Notification: Subject]; “Spain” [Notification: Notified by]; “Food” [Type: Type]; y todas las fechas desde 01/01/2014 hasta 31/12/2019 [Date].

2.2 Estudio de nuevas estrategias para la estabilización microbiana de los alimentos

Una vez conocida la cantidad de alertas de los últimos años, sus causas y los microorganismos que las provocan, se llevó a cabo una búsqueda de artículos, casos y estudios guía, publicados por diferentes autores, sociedades y asociaciones profesionales, tanto en España como en el contexto internacional, sobre nuevos sistemas antimicrobianos que involucraran de alguna manera la nanotecnología y que tuvieran por objetivo combatir primordialmente los microorganismos responsables de estas alertas alimentarias. Todos ellos fueron localizados a través de *Pubmed*, *Google Scholar* y *Primo Ex Libris*. Esta búsqueda se hizo tanto en español como en inglés, sin límite de fecha. El principal criterio de exclusión fue que no incluyeran información sobre técnicas antimicrobianas tradicionales o actuales, brotes toxiinfecciosos en alimentos, conservación, seguridad de alimentos y estudios estadísticos.

Tras la búsqueda inicial se localizaron una serie de estudios, de los cuales se excluyeron aquellos que no fueron relevantes para el objetivo de esta revisión. Finalmente se seleccionaron 33 trabajos para realizar el análisis de la información.

Para el análisis, primeramente se revisaron principalmente los resúmenes, introducciones, y conclusiones con el fin de decidir si la información que contenían, total o parcial, estaba o no relacionada con nuestro objetivo. Además, se analizaron las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados con el fin de rescatar otros estudios potencialmente incluíbles para la revisión. Todos aquellos trabajos considerados como relacionados con la temática se estudiaron detenidamente para extraer toda la información posible, la cual fue categorizada en dos secciones: nuevas tecnologías de procesado basadas en uso de diferentes materiales nanoestructurados como coadyuvantes tecnológicos o aditivos y desarrollo de nuevos envases con capacidad antimicrobiana.

2.3 Estudio de oportunidades para la generación de nuevas vías de investigación

Teniendo finalmente una visión general y conocimiento sobre las nuevas estrategias para la estabilización microbiana y sus resultados, se efectuó un compendio de nuevas posibles vías de investigación.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudio de las principales crisis alimentarias

Según el informe anual 2018 de El Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos de la Unión Europea (RASFF), a lo largo del mismo año se recibieron 3699 notificaciones en total, de las cuales 979 fueron de peligro por microorganismos patógenos, principalmente en alimentos de origen animal.

En comparación con 2017, el número de notificaciones de alerta aumentaron en un 19%, siendo un aumento significativo por quinto año consecutivo, implicando un grave riesgo para la salud ([Comisión Europea, 2019](#)). En la Tabla 1 se recogen el total de las alertas alimentarias aparecidas en Europa entre los años 2014 y 2019, además del número de alertas de infección causadas según los tres microorganismos más frecuentes presentes en los alimentos: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*. Como se puede observar en la Tabla 1, en los últimos años alrededor del 3% de las causas vienen derivadas por *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* y el 21% por *Salmonella typhimurium*. Estos datos concuerdan con lo publicado en el informe epidemiológico de listeriosis, hecho público por el Ministerio de Salud, el cual revela que los casos notificados a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) aumentaron casi un 70% entre 2015 y 2018 ([Centro Nacional de Epidemiología. ISCIII 2019](#)).

TABLA 1. Alertas alimentarias según la base de datos de RASFF entre 2014 y 2019.

Año	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Total UE	3089	2977	2921	3749	3165	3999
Total España	189	174	146	236	250	276
Listeria UE	97	99	81	91	119	139
Listeria España	1	2	0	2	3	6
Salmonella UE	477	522	449	787	680	869
Salmonella España	10	8	6	21	23	27
E.Coli UE	122	70	112	106	111	98
E.Coli España	6	1	0	2	9	9

En cuanto a salmonelosis, según un informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades en 2018 España fue el tercer país de la Unión Europea (UE) con más brotes detectados, por detrás de Eslovaquia y Polonia (EFSA, 2019).

Acerca de *Echerichia coli*, los datos hasta fecha de estudio concuerdan en una disminución de los casos según el informe de vigilancia llevado a cabo durante 2016, en el cual se verifica que ese mismo año no se notificó ningún brote (RENAVE, 2017). En vista del continuo aumento de estos tres brotes de origen alimentario y sus consecuencias, es esencial a la hora de desarrollar nuevos sistemas antimicrobianos tenerlos como principal foco de estudio. Dentro de las bacterias de origen alimentario cabe destacar también *Staphylococcus aureus* y *Costridium botulinum* como agentes causantes de intoxicación (Arias y Antillón, 2000), aunque su incidencia en el número de alertas es menor.

3.2 Alternativas para combatir los microorganismos desde la nanotecnología

Para hacer frente a los diferentes microorganismos patógenos descritos anteriormente, desde la tecnología de alimentos se está intentando proponer diferentes tecnologías que puedan actuar de manera alternativa o combinada con los actuales tratamientos térmicos. En los siguientes apartados se presentan las diferentes alternativas encontradas en la bibliografía para combatir la aparición y desarrollo de microorganismos en alimentos y su envasado basadas en la nanotecnología. Se han identificado 3 maneras de aplicar los productos nanoestructurados a los alimentos para alargar su vida útil: Como aditivo, como coadyuvante tecnológico o generando envases antimicrobianos. Se muestra en la Tabla 2, las principales diferencias entre los conceptos de aditivos y coadyuvantes.

TABLA 2. Principales diferencias entre aditivo y coadyuvante.

Aditivos	Coadyuvantes
Acción permanente	Efecto pasajero
Forman parte del producto terminado	No forman parte del producto terminado
Presencia intencionada	Presencia no intencionada
Declaración obligatoria en la etiqueta	Declaración no obligatoria en la etiqueta
Están presentes en el producto final	Están presentes en una etapa del tratamiento

3.2.2.1 Uso de materiales nanoestructurados como aditivo

Según la Real Academia Española, un aditivo es una sustancia que normalmente no se consume como alimento en sí misma y que se añade a un alimento para conservarlo, aromatizarlo, darle color o cualquier otro propósito tecnológico (RAE, 2014). Su regularización viene descrita en Real Decreto 142/2002, de 1 de febrero, para su uso en la elaboración de productos alimenticios, y sus condiciones de utilización.

Una de las tendencias para alargar la vida de los alimentos sin añadir aditivos artificiales a su formulación es la utilización de antimicrobianos naturales. Estos últimos se obtienen principalmente de hierbas, plantas o especias, y lo más difícil de su uso es: extraerlos, purificarlos, estabilizarlos e incorporarlos al alimento (Beuchat y Golden, 1989). Estos nuevos métodos para ser considerados como alternativas viables deben garantizar la ausencia y crecimiento de microorganismos patógenos y extender la vida útil del producto produciendo un impacto mínimo en las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos (Chemat et al., 2011). Sin embargo, su uso en alimentación está limitado por su alta volatilidad, falta de compatibilidad con algunas matrices (suelen ser hidrofóbicos) y por su intenso sabor y aroma, el cual puede resultar desagradable dependiendo del producto donde se adicione. Una opción para solucionar estas tres limitaciones es la encapsulación en micro y nanoestructuras generando sistemas de liberación controlada que se añadirían de forma directa a los alimentos como aditivos.

Varios estudios han demostrado la eficacia de sistemas nanoestructurados para encapsular y liberar controladamente antimicrobianos naturales en alimentos. Uno de los primeros antimicrobianos naturales en haber sido utilizado para hacer frente al crecimiento de patógenos habituales en los alimentos es el ácido caprílico (AC).

Uno de los estudios que tuvo como objetivo determinar la eficacia del AC para inactivar *Listeria monocytogenes* y *E. coli* en leche a diferentes temperaturas (Nair et al., 2004), reveló que la adición de AC a la leche fue efectiva para eliminar ambos patógenos, especialmente a 4°C y 8°C, que representan temperaturas normales de refrigeración y almacenamiento minorista de leche.

La adición de AC, por su parte, redujo significativamente el pH de la leche, por lo que no aunque no sería un método adecuado para ser incorporado como ingrediente antimicrobiano en leche líquida, sí podría emplearse en productos lácteos. En trabajos posteriores, el ácido caprílico se ha utilizado para controlar el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Cronobacter* spp., *Salmonella* spp. y *Enterobacter sakazakii* al ser agregado a productos lácteos o semillas de alfalfa, estos trabajos fueron los siguientes: [Choi et al., 2013](#); [Chang et al., 2010](#); [Jang y Rhee, 2009](#).

A pesar de ser demostrada la actividad antimicrobiana del AC, la aplicación de este ácido graso en alimentos tiene varias limitaciones: por una parte, sus propiedades sensoriales, ya que el AC posee un olor y sabor desagradable a rancio ([Hulankova et al., 2013](#)). Por otra parte, su elevada volatilidad, que hace que la acción antimicrobiana se pierda con el tiempo.

Como posible solución a estos problemas se llevó a cabo el desarrollo un nuevo sistema antimicrobiano, basado en la encapsulación del AC, el cual es descrito por [Ruiz-Rico et al., \(2015\)](#). En este trabajo, el AC se encapsuló en nanopartículas de sílice mesoporosas (familia MCM-41) para estudiar su eficacia contra *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Desarrollándose en condiciones *in vitro*, se compararon los efectos del bactericida del AC libre y encapsulado. Los resultados mostraron no solo la gran capacidad inhibitoria del ácido contra las bacterias en su forma encapsulada, sino también el enmascaramiento de su desagradable sabor.

De la misma manera, otros autores han estudiado el efecto antimicrobiano de extractos de especias o hierbas, conocidos como componentes de aceites esenciales (EOCs). Estos compuestos, presentan un gran potencial como conservantes naturales de alimentos, ya que ejercen un amplio espectro de actividad antimicrobiana ([Elizaquível et al., 2013](#)).

Una de las primeras aproximaciones al uso de componentes de aceites esenciales de plantas encapsulados como sistemas antimicrobianos, fue el descrito por [Bernardos et al., \(2015\)](#). En este trabajo se demuestra que el comportamiento antifúngico de los EOCs (carvacrol, cinamaldehído, eugenol y timol) mejora a través de su encapsulación en soportes mesoporosos. Los autores indican que, incluso después de 30 días, el carvacrol y el timol encapsulados pudieron mantener la actividad antifúngica e inhibir el crecimiento de hongos.

Al igual que el AC, los EOCs también tienen como características su alta volatilidad ([Majeed et al., 2015](#)), baja disolución en agua ([Burt, 2004](#)) y un potente aroma incluso a bajas concentraciones ([Nostro y Papalia, 2012](#)). Para evitar estos problemas, en el estudio de [Ruiz-Rico et al., \(2017\)](#), anclaron diferentes EOCs (carvacrol, eugenol, timol y vainillina) los cuales han demostrado propiedades antimicrobianas reconocidas contra *Listeria innocua* y *Escherichia coli* ([Hyldgaard et al., 2012](#); [Burt 2004](#)) sobre varias estructuras de óxido de silicio. En este estudio de Ruiz-Rico, los autores demuestran que la actividad antimicrobiana y características de los compuestos anclados, mejoró en comparación con su forma libre (ver Figura 1).

Además, su incorporación a modo de aditivo en leche pasteurizada inoculada con *Listeria* demostró su eficacia no solo para condiciones *in vitro*, sino también en un sistema alimentario real.

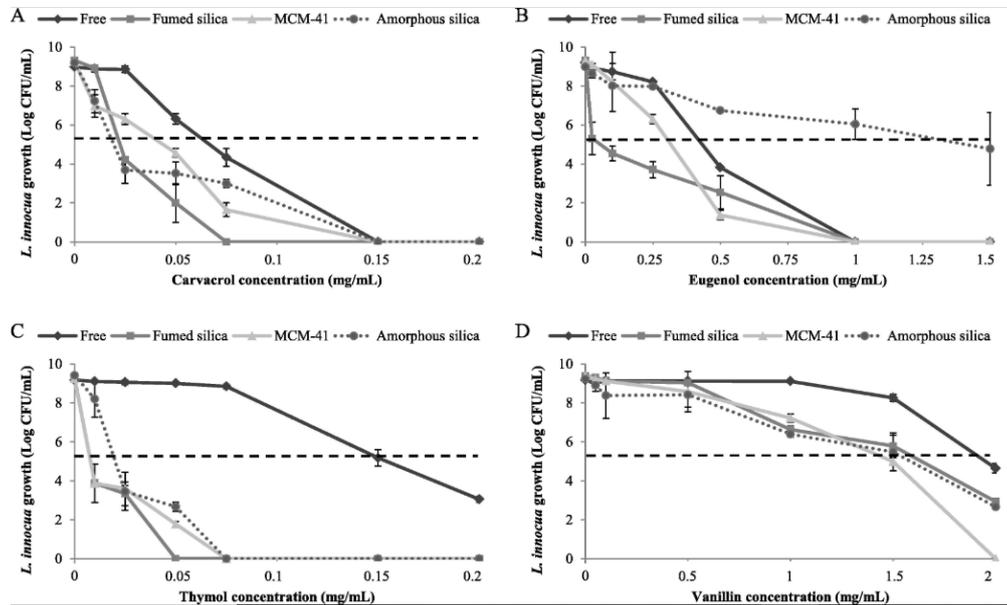


FIGURA 1. Crecimiento de *L. innocua* (log UFC/mL) después de la incubación con carvacrol (A), eugenol (B), timol (C) y vainillina (D) libres e inmovilizados sobre diferentes soportes: humo de sílice, sílice amorfa y micropartículas de óxido de silicio de la familia MCM-41. Fuente: Ruiz-Rico et al. (2017).

En esta misma línea, Ribes et al., (2017) evaluaron el uso de eugenol y timol encapsulados en partículas mesoporosas de óxido de silicio de la familia MCM-41 como agentes bioactivos en el impacto del aroma y descomposición fúngica de la mermelada de fresa. Los resultados muestran que no se observó inhibición del crecimiento en ninguna cepa de moho y levadura en presencia de las partículas MCM-41 desnudas. Sin embargo, la adición a la mermelada de partículas funcionalizadas en su superficie con eugenol y timol provocó la inhibición del desarrollo de moho y levadura durante el tiempo de almacenamiento estudiado. Respecto a los resultados extraídos de la evaluación sensorial, se confirmó que la inmovilización de eugenol y timol redujo el fuerte impacto típico en el sabor que supone la adición de cantidades equivalentes de compuesto libre a un alimento. Este trabajo demuestra el uso prometedor del eugenol inmovilizado, el cual mostró mayor eficiencia frente al timol contra todas las especies de hongos y levaduras. Dicha ventaja inhibitoria de crecimiento por parte del eugenol se había demostrado ya contra *Penicillium citrinum* en medios de cultivo y queso (Vázquez, et al., 2001). En este estudio se demostró el efecto inhibitorio del eugenol, en un medio de cultivo líquido se observó una inhibición completa del crecimiento fúngico. En medio sólido, su adición aumentó hasta en 9 días el tiempo de retraso del crecimiento de colonias. Por el contrario, el timol sólo afectó a la tasa de crecimiento.

Por otro lado [García-Ríos et al., \(2018\)](#) estudiaron la eficacia de diferentes soportes para la inmovilización de distintos EOC. Aquí se comprobó y comparó la eficacia de tres soportes diferentes: partículas de sílice, de celulosa y membrana celulósica, utilizando para ello cinco cepas de bacterias y levaduras relacionadas con el deterioro del vino. Se incubaron durante 24h en presencia de diferentes concentraciones de los EOC libres e inmovilizados en los distintos soportes. Los resultados mostraron que el tratamiento de microorganismos de descomposición con partículas antimicrobianas de sílice y celulosa, redujo significativamente la viabilidad y capacidad de crecimiento de los microorganismos. Teniendo en cuenta todos los resultados obtenidos, el soporte combinado de sílice y eugenol, demostró ser el más efectivo en todos los microorganismos del estudio.

En otro trabajo se investigó, en zumos de manzana y uva, la actividad antimicrobiana y el efecto sinérgico del eugenol, el carvacrol y la vainillina inmovilizados en micropartículas contra levaduras del género *Zygosaccharomyces* y patógenos como *Escherichia coli*. Los compuestos bioactivos mostraron una notable actividad antimicrobiana y la inmovilización vuelve a demostrar que enmascara el aroma. El eugenol fue más eficiente para inhibir el desarrollo de la levadura en el zumo de uva y el carvacrol exhibió mayor efectividad el de manzana ([Ribes et al., 2019](#)). Un nuevo estudio buscó evaluar las propiedades inhibitorias de los EOC (carvacrol, eugenol, timol y vainillina) inmovilizados en micropartículas de sílice, esta vez contra *Helicobacter pylori*. Se demostró que la capacidad de crecimiento del cultivo microbiano se inhibió por completo en los soportes inmovilizados con eugenol y vainillina ([Ruiz-Rico et al., 2020](#)). De manera análoga a la inmovilización de EOCs, la funcionalización de partículas de sílice mesoporosas con aminas, también se ha estudiado. Por parte de [Ruiz-Rico et al., 2018](#) se probó la eficacia de la adición de partículas de óxido de silicio funcionalizadas con una triamina para la reducción de *L. monocytogenes* tanto en medio de cultivo como en zumos de frutas. Los resultados demostraron que este procedimiento permitió obtener nanodispositivos con una actividad antimicrobiana 100 veces mayor contra *L. monocytogenes* que la cantidad equivalente de poliamina libre. El nanodispositivo además, demostró no ser tóxico para las células humanas.

3.2.2.2 Uso de materiales nanoestructurados como coadyuvante

Otra manera de trabajar con antimicrobianos es usarlos en etapas del procesado en forma de coadyuvantes. Éstos son definidos en el Reglamento (CE) nº 1333/2008 sobre aditivos alimentarios como sustancias que no se consumen como alimentos en sí mismas, pero que se utilizan intencionalmente en la transformación de los alimentos y que solamente permanecen en el producto alimenticio final como residuos sin ningún efecto tecnológico productos que no queda luego residuo en el producto final ([Parlamento de la Unión Europea, 2008](#)).

Los coadyuvantes tecnológicos son imprescindibles en muchos procesos de producción de alimentos líquidos, pudiendo influir de manera importante en su calidad final, de ahí que a nivel nacional se haya regulado su uso y se disponga de listados de coadyuvantes tecnológicos utilizados en los distintos procesos industriales (AESAN, 2019).

Uno de los primeros materiales nanoestructurados utilizado como coadyuvante fue el descrito en el trabajo de Peña Gómez et al. (2018). Estos autores desarrollaron una prueba de concepto de membranas de papel funcionalizadas con grupos amino para la eliminación de microorganismos en agua de consumo mediante su filtrado. Desde siempre, se ha garantizado la desinfección de agua mediante el uso de cloro, considerado uno de los mejores logros del siglo XX en el campo de la salud pública (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades, 1999). Esta nueva propuesta consiste en preparar las membranas de papel de celulosa mediante la inmovilización covalente de poliaminas en su superficie. De esta forma, se proporcionan sistemas de desinfección simples, portátiles y baratos que no requieren equipos especiales y reducen eficientemente la densidad microbiana. Las membranas permiten que las células bacterianas, en este caso cepas no patógenas de *Escherichia coli*, se retengan y se proporcione agua purificada libre de contaminantes bacterianos y subproductos de desinfección tóxicos o cancerígenos. El resultado fue que las membranas no presentaron una aparente pérdida de eficacia en su función, pudiéndose reutilizar para el filtrado de varias muestras, además de su alto potencial por su capacidad de eliminación significativa en muestras con altas concentraciones.

Los mismos autores investigaron la eficacia de eliminación microbiana a través del filtrado de agua inoculada con *Escherichia coli* a través de lechos compuestos por partículas de sílice de diferentes tamaños, funcionalizadas con EOCs como carvacrol, eugenol, timol y vainillina. Los resultados mostraron la eficacia de estos soportes, ya que el microorganismo se eliminó por completo después de la filtración, requiriendo el paso de la muestra a través del filtro sólo unos segundos. La filtración de las muestras a través del lecho de partículas funcionalizadas con carvacrol y timol dio lugar a la descontaminación total del agua (Peña Gómez et al., 2019a). Siguiendo con esta línea de estudios (Peña Gómez et al., 2019b) se analizó la respuesta antimicrobiana de micropartículas de sílice, las cuales contenían aceites esenciales de eugenol y vainillina, para la filtración de zumo de manzana inoculado con *Escherichia coli*. Los resultados concluyeron que el eugenol demostró ser el soporte más adecuado para esta aplicación, ya que eliminó la carga microbiana del producto sin afectar sus parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, °Brix) y perfil sensorial del producto. De hecho, tratar el zumo con esta tecnología eliminó su flora nativa resultando en un zumo de manzana con una vida útil mucho más larga que la obtenida por tratamiento térmico.

En un estudio posterior, [Peña-Gómez et al., \(2020\)](#) proponen la filtración a través de las mismas micropartículas de sílice de diferentes dimensiones funcionalizadas con aceites esenciales como tecnología de pasteurización en frío para atrapar y/o inactivar la microbiota de la cerveza. El análisis microbiológico mostró que los soportes presentaban una notable capacidad de eliminación contra *Escherichia coli* entre otros, como moho y levaduras. Además, el potencial de conservación de la tecnología de filtración se mantuvo estable después de filtrar varias muestras.

3.2.2.3 Envases antimicrobianos

En la actualidad, los envases de plástico son los más utilizados en el sector agroalimentario. Comparados con otros materiales también en uso como papel, madera, metales, vidrio y cerámica, éste presenta características ventajosas frente al resto, como peso, flexibilidad, resistencia mecánica, así como otras características fisicoquímicas y biológicas, vinculadas a la calidad, salud y seguridad ([Davis y Song, 2006](#)).

Una de las opciones de incorporar la nanotecnología para alargar la vida útil de los alimentos a través del *packaging* es la creación de envases activos, que brindan beneficios adicionales a la protección, comunicación, contención y seguridad del transporte. Los conocidos como envases activos ([Reglamento \(CE\) N° 450/2009 \[UE, 2009\]](#)) se pueden obtener introduciendo el elemento activo en el envase junto con el producto o en el material de embalaje ([Tampau et al., 2020](#)).

El envasado activo o de liberación controlada ofrece un potencial significativo para extender la vida útil de los alimentos, al liberar lentamente antioxidantes y antimicrobianos con el tiempo, que reponen los componentes activos consumidos originalmente presentes ([Mastromatteo et al., 2010](#)).

Sobre esta línea de investigación, se han llevado a cabo una serie de estudios para probar la eficacia de este tipo de tecnología sobre diferentes productos alimentarios altamente perecederos. En el estudio realizado por [Ming et al., \(1997\)](#) se inocularon muestras de carne de aves con *Listeria monocytogenes*. Las muestras de carne fueron guardadas en envases, los cuales fueron bolsas de plástico con bacteriocinas retenidos en las películas de envasado, éstos fueron polvos de pediocina o nisina. Las recubiertas con polvo de pediocina inhibieron completamente el crecimiento de la bacteria durante 12 semanas de almacenamiento a 47°C. Los resultados proporcionaron un enfoque eficaz para reducir la contaminación por *Listeria* en carnes de aves de corral.

Investigaciones como la de [Scannell et al. \(2000\)](#) describen el poder inhibitorio contra cepas de *Lactococcus lactis*, *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus*, también mediante la inmovilización de bacteriocinas (nisina y lacticina) en materiales plásticos en los cuales se envasó queso y jamón. Como resultado se observó que la adsorción de lacticina a la película plástica no tuvo éxito, en cambio la nisina se unió bien mediante adsorción a la película y mantuvo su actividad durante un período de 3 meses, tanto a temperatura ambiente como bajo refrigeración.

El trabajo de [Marcos Muntal et al., \(2006\)](#) trata sobre un envasado activo y biodegradable al cual se le adiciona la bacteriocina enterocina. Las láminas antimicrobianas se obtuvieron añadiendo, previa repartición de las soluciones en las placas de poliestireno, la cantidad de enterocina necesaria para obtener la concentración final más adecuada para un mejor resultado. La lámina, se probó usando tres tipos de polímeros (alginato, zeína y polivinil alcohol) para el control de *Listeria monocytogenes* en jamón cocido. La evolución similar del patógeno en todas las muestras envasadas con los tres tipos de material, indicó que dichos materiales no interfirieron en el crecimiento del patógeno inoculado. El efecto antimicrobiano fue diferente según el polímero utilizado, observándose una mayor efectividad en el lote envasado con láminas de alginato. Se pudo concluir que la adición de enterocina a dichas matrices permite reducir el crecimiento de *L. monocytogenes* en el producto y condiciones ensayadas. El objetivo de otro trabajo ([Rubilar et al., 2008](#)) fue el desarrollo de un film plástico flexible, inmovilizado químicamente con EOCs (timol y carvacrol) los cuales se liberan de forma controlada con el tiempo, con el objetivo de conocer el poder de inhibición contra *Escherichia coli* y *Listeria innocua* entre otros. El efecto resultó en que los EOC exhibieron una importante actividad antimicrobiana contra los microorganismos estudiados. En el estudio de [Suppakul et al., \(2008\)](#), se investigó la viabilidad de linalol o metilchavicol (principales componentes de la albahaca) anclados de forma parcial en una matriz polimérica de polietileno, para mejorar la calidad y la seguridad del envasado de quesos. El efecto antimicrobiano se comprobó contra *E. coli* y *Listeria innocua* en muestras de queso cheddar. El número de *E.coli* en el queso Cheddar envuelto con linalool-LDPE (polietileno de baja densidad) y metilchavicol-LDPE disminuyó después de 35 días de almacenamiento a 4 ° C y 12 ° C (abuso de temperatura). Los resultados del presente estudio demuestran que estos componentes naturales de la albahaca pueden incorporarse con éxito en polímeros basados en LDPE y retener su efecto inhibidor contra el crecimiento microbiano. Otro estudio con EOCs ([Kluz et al, 2016](#)), en este caso de alcaravea y anís, se realizó con el fin de evaluar la extensión de la vida útil de la carne de pollo envasada al vacío contra *Enterobacterias*, *bacterias ácido lácteas* y *Pseudomonas spp.* La combinación de estos tratamientos fue muy efectiva contra el crecimiento de *bacterias de ácido láctico* y *Enterobacterias*.

La nanotecnología, además, ha permitido generar nuevos films biodegradables y compostables con actividad antimicrobiana, mediante la obtención de materiales multicapa en los que se ensamblan polímeros con propiedades complementarias para cumplir con los requisitos de envasado de alimentos. Muestra de ello son los estudios realizados como el de [Tampau et al., \(2020\)](#) cuyo objetivo fue evaluar la capacidad de las matrices de PLA (ácido poliláctico), un poliéster biodegradable obtenido de la fermentación microbiana con alto contenido de carbohidratos, electrohiladas para encapsular carvacrol. Los materiales obtenidos se caracterizaron por su eficiencia de encapsulación, microestructura y comportamiento térmico.

Un estudio anterior (Tampau et al., 2017) informó de una buena eficiencia de encapsulación de carvacrol en esferas de PCL (poli-(ϵ -caprolacton)). Estas esferas exhibían una estructura fibrosa, que podía recubrir adecuadamente las películas de empaque biodegradables para obtener materiales activos para aplicaciones alimentarias. Los mismos autores más tarde (Tampau et al., 2018) usaron esferas de PCL cargadas con carvacrol, obtenidas por electrohilado y en películas de almidón multicapa, el cual es un buen candidato ya que está ampliamente disponible y es barato y con muy buenas propiedades de barrera al oxígeno. Los resultados evidenciaron que este método proporcionó actividad antimicrobiana y el uso del almidón disminuyó la permeabilidad al vapor de agua.

3.3 DETECCIÓN DE NUEVAS OPORTUNIDADES

Las tecnologías de procesado, se encuentran siendo ya aplicadas dentro de los procesos industriales como alternativas a procesos de desinfección mediante productos sintéticos y tratamientos térmicos, demostrando su posible aplicación aún con sus limitaciones.

En cuanto a la nanotecnología, que se encuentra todavía en fase de investigación, muchas son sus aplicaciones en la industria alimentaria y muchos son también los estudios y análisis que han hecho posible la viabilidad de esta ciencia para su aplicación como alternativa a antimicrobianos sintéticos y métodos de conservación de alimentos tradicionales. Sin embargo, a pesar de los resultados positivos, existen una serie de vacíos y posibles oportunidades o alternativas de aplicación, que ha hecho que el sector alimentario fuera cauteloso sobre su uso. En lo que se refiere a este trabajo de revisión podríamos encontrar como posibles focos de estudio la investigación de la probabilidad de posibles migraciones de nanopartículas a los alimentos en su aplicación en envases, un área en la que falta mucho por recorrer, así como su absorción y comportamiento en el organismo humano. También investigaciones en las cuales se determine la cantidad exacta de agente antimicrobiano natural o tipo de soporte específico para según qué tipo de alimento, ya que de esa forma se potenciaría su conservación. La posibilidad de utilizar otros EOCs diferentes a los usados comúnmente como son el timol, eugenol, carvacrol y vainillina, también deberían ser estudiados. También es importante incidir sobre la verificación de la eficacia de estos sistemas contra *Salmonella*, debido a que la mayoría de estudios están centrados en *Listeria* y *E.coli*. Y como último, su aplicación y resultados en alimentos reales, la mayoría de los casos de aditivos y coadyuvantes se han descrito en alimentos líquidos, pero es necesario conocer los efectos en alimentos sólidos y semisólidos.

4. CONCLUSIONES

Pese a los avances en seguridad alimentaria todavía se siguen detectando alertas alimentarias generadas por microorganismos patógenos, principalmente *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*. Esto evidencia la necesidad de buscar alternativas de conservación que sustituyan o complementen a los tratamientos sintéticos y térmicos convencionales, y que además cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento. Una de las nuevas tendencias para incrementar la estabilidad microbiana de los alimentos es el uso de la nanotecnología para producir nuevos sistemas antimicrobianos que puedan utilizarse como aditivos, como coadyuvantes tecnológicos o se introduzcan en los envases de los alimentos. En los tres tipos de aplicaciones, la encapsulación de antimicrobianos naturales en sistemas nanoestructurados se muestra como una alternativa eficaz para reducir la carga microbiana de los alimentos, y sobre todo para luchar contra el crecimiento de los tres microorganismos patógenos causantes de las principales crisis alimentarias. Se toma como fuerte deducción la importancia en la selección del agente antimicrobiano para así cumplir con las necesidades específicas del alimento o material de envasado, repercutiendo así en la extensión de la vida útil del alimento, manteniendo su calidad e inocuidad, lo que influye finalmente en una mayor y mejor seguridad hacia el consumidor. Sin embargo, para que la nanotecnología llegue a ser una realidad en el sector alimentario todavía queda mucho recorrido. Concretamente las limitaciones actuales son la legislación, la cual es muy limitada, y la falta de estudios que avalen su inocuidad en el ser humano y el medio ambiente.

5. REFERENCIAS

- Daoudi, L. (2006). Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre el gazpacho y zumo de uva. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Del Campo-Sacre, J. A., Flores-Cervantes, D. X., Gómez-Díaz, J. J., Vigil, A. L. M., Jiménez-Munguía, M. T., & Palou-García, E. (2009). Inactivación de esporas de *Aspergilli* con radiación UVC y sorbato de potasio en néctar de durazno. Recuperado de: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSA-3 (2)-Del-Campo-Sacre-et-al-2009. pdf].
- Delgado, J. O. (2012). Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos. Publicaciones e Investigación, 6, 141-152.
- Douillet-Breuil, A. C., Jeandet, P., Adrian, M., & Bessis, R. (1999). Changes in the phytoalexin content of various *Vitis* spp. in response to ultraviolet C elicitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4456-4461.
- Hauben, K. J., Wuytack, E. Y., Soontjens, C. C., & Michiels, C. W. (1996). High-pressure transient sensitization of *Escherichia coli* to lysozyme and nisin by disruption of outer-membrane permeability. *Journal of Food Protection*, 59(4), 350-355.
- Hoover, D. G., 1993 Pressure effects on biological systems. *Food Technology*, 47: 150-157.
- Mejía Cano, A. M. (2013). Evaluación del efecto de factores intrínsecos de una matriz líquida sobre la inactivación microbiana mediante la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (Master's thesis, Universidad de La Sabana).
- Ortuño Cases, C. (2014). Aplicación de ultrasonidos de potencia para la mejora de procesos de inactivación con fluidos supercríticos (Doctoral dissertation).

- Tomás, R. P., Raso, J., Cano, I. Á., & Resano, R. V. (2000). Inactivación microbiana por ultrasonidos: aplicaciones en la conservación de alimentos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 19(9), 77-86.
- Villarroel, D. M., González, L. R., Brito, M., & Ramos-Villarroel, A. Y. (2015). Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27(3), 454-469.
- Zamudio, R. I. C. (2015). Inactivación microbiana en matrices cárnicas mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. [Aecosan.msssi.gob.es](http://www.aecosan.msssi.gob.es). <http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/home/aecosan_inicio.htm>
- Almeida, A. C., Franco, E. A., Peixoto, F. M., Pessanha, K. L., Melo, N. R., Sergio Almeida, A., Ferreira Pessanha, F. (2015). Application of nanotechnology in food packaging. *Polimeros-Ciencia E Tecnologia*, 25(spe), 89–97.
- Álvarez-Parrilla, 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas. Disponible en: http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/im_ages/files_pdf/brasil/olga.pdf, [Consulta: 09/02/2020]
- Arias-Echandi, M. L., & Antillón, F. (2000). Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. *Revista Biomédica*, 11(2), 113-122.
- Bernardos, A., Marina, T., Žáček, P., Pérez-Esteve, É., Martínez-Mañez, R., Lhotka, M. & Klouček, P. (2015). Antifungal effect of essential oil components against *Aspergillus niger* when loaded into silica mesoporous supports. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(14), 2824-2831.
- Beuchat, L. R., & Golden, D. A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food technology (USA)*.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Capeletti, L. B., de Oliveira, L. F., Goncalves, K. D. A., de Oliveira, J. F. A., Saito, A., Kobarg, J. & Cardoso, M. B. (2014). Tailored silica-antibiotic nanoparticles: overcoming bacterial resistance with low cytotoxicity. *Langmuir*, 30(25), 7456-7464.
- Chemat, F. Zill-e-Huma, & Khan, MK (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Choi, L. H., & Nielsen, S. S. (2005). The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *Journal of Food quality*, 28(1), 13-29.
- Davis, G. & Song, J. H. (2006). Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 147-161.
- Domínguez, L., & Parzanese, M. (2011). Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. *Alimentos argentinos*, 52(2), 70-76.
- Elizaquível, P., Azizkhani, M., Sánchez, G., & Aznar, R. (2013). Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil activity against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* by propidium monoazide quantitative PCR in vegetables. *Food control*, 34(2), 770-776.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSa Journal*, 16(12), e05500.
- Fúnez, A. Á., Duaso, A. I. H., & Gómez, P. M. (2016). Nanotecnología en la industria alimentaria I: Aplicaciones/nanotechnology in the food industry I: Applications. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(2), 1.
- García-Ríos, E., Ruiz-Rico, M., Guillamón, J. M., Pérez-Esteve, É., & Barat, J. M. (2018). Improved antimicrobial activity of immobilised essential oil components against representative spoilage wine microorganisms. *Food Control*, 94, 177-186.
- Guignon, B. (2011). Altas presiones en tecnología de alimentos.
- H.I. Jang, M.S. Rhee. Inhibitory effect of caprylic acid and mild heat on *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in reconstituted infant formula and determination of injury by flow cytometry *International Journal of Food Microbiology*, 133 (2009), pp. 113-120

- Hui, Y. H., Guerrero, I., & Rosmini, M. R. (2006). Músculo PSE y DFD en cerdo. Editorial Limusa, SA Grupo Noriega. Ciencia y tecnología de carnes. Primera Edición. México, DF, 271-280.
- Hulankova, R., Borilova, G., & Steinhauserova, I. (2013). Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat science*, 95(2), 190-194.
- 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. *International Journal of Food Microbiology*, 166 (2013), pp. 499-507
- J. Weiss, S. Gaysinsky, M. Davidson, J. McClements Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials *Global Issues in Food Science and Technology* (2009).
- Kluz, M., Terentjeva, M., Puchalski, C., Hutková, J., Kántor, A., Petrová, J., ... & Kunová, S. (2016). The extension of shelf-life of chicken meat after application of caraway and anise essential oils and vacuum packaging. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 10(1), 132-138.
- M.J. Choi, S.A. Kim, N.Y. Lee, M.S. Rhee. (2013) New decontamination method based on caprylic acid in combination with citric acid or vanillin for eliminating *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in reconstituted infant formula
- Majeed, H., Bian, Y. Y., Ali, B., Jamil, A., Majeed, U., Khan, Q. F., & Fang, Z. (2015). Essential oil encapsulations: uses, procedures, and trends. *Rsc Advances*, 5(72), 58449-58463.
- Marcos Muntal, B., Aymerich Calvet, M., Garriga Turón, M., & Monfort i Bolivar, J. M. (2006). Envasado activo biodegradable para el control de *Listeria monocytogenes* en jamón cocido.
- Mastromatteo, M., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2010). Advances in controlled release devices for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 21(12), 591-598.
- MING, X., WEBER, G. H., AYRES, J. W., & SANDINE, W. E. (1997). Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. *Journal of Food Science*, 62(2), 413-415.
- Nair, M. K. M., Vasudevan, P., Hoagland, T., & Venkitanarayanan, K. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* in milk by caprylic acid and monocaprylin. *Food microbiology*, 21(5), 611-616.
- Nostro, A., & Papalia, T. (2012). Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future perspectives. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 7(1), 28-35.
- Parzanese, M. (2013). *Tecnologías para la Industria Alimentaria: Ultrasonidos* (Ficha No. 19) Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires (Argentina)
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. M. (2019 b). Study of apple juice preservation by filtration through silica microparticles functionalised with essential oil components. *Food Control*, 106, 106749.
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fernandez-Segovia, I., & Barat, J. M. (2020). Microbial stabilization of craft beer by filtration through silica supports functionalized with essential oil components. *LWT*, 117, 108626.
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. M. (2019 a). Novel antimicrobial filtering materials based on carvacrol, eugenol, thymol and vanillin immobilized on silica microparticles for water treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 58, 102228.
- Peters, R. J., Brandhof, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., & Aschberger, K. (2014). RIKILT and JRC, 2014. Inventory of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector, 125.
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., & Martin-Belloso, O. (2006). Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *Journal of food protection*, 69(7), 1579-1586.
- Real Academia Española: Diccionario de la lengua española, 23ª ed., [versión 23.3 en línea]. <<https://dle.rae.es>> [Consulta: 27/03/2020].
- Ribes, S., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fuentes, A., & Barat, J. M. (2019). Enhancing the antimicrobial activity of eugenol, carvacrol and vanillin immobilised on silica supports against *Escherichia coli* or *Zygosaccharomyces rouxii* in fruit juices by their binary combinations. *LWT*, 113, 108326.

- Ribes, S., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fuentes, A., Talens, P., Martínez-Máñez, R., & Barat, J. M. (2017). Eugenol and thymol immobilised on mesoporous silica-based material as an innovative antifungal system: Application in strawberry jam. *Food Control*, 81, 181-188.
- Rodríguez, Paco. "Cronología del peor brote de listeriosis en España: Siete abortos, tres muertes y más de 200 afectados". Periódico La Razón <<https://www.larazon.es/local/andalucia/cronologia-del-peor-brote-de-listeriosis-en-espana-siete-abortos-tres-muertes-y-mas-de-200-afectados-FN24834652/>>[Consulta: 09/01/2020].
- Rodríguez-Soto, Y. (2007). Evaluación microbiológica de la carne de res de Puerto Rico bajo dos formas de empaque (Doctoral dissertation).
- Rubilar, J., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2008) Incorporación de agentes antimicrobianos de origen natural en un film plástico flexible.
- Ruiz-Rico, M., Fuentes, C., Pérez-Esteve, É., Jiménez-Belenguer, A. I., Quiles, A., Marcos, M. D., & Barat, J. M. (2015). Bactericidal activity of caprylic acid entrapped in mesoporous silica nanoparticles. *Food Control*, 56, 77-85.
- Ruiz-Rico, M., Moreno, Y., & Barat, J. M. (2020). In vitro antimicrobial activity of immobilised essential oil components against *Helicobacter pylori*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 3.
- Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Bernardos, A., Sancenón, F., Martínez-Máñez, R., Marcos, M. D., & Barat, J. M. (2017). Enhanced antimicrobial activity of essential oil components immobilized on silica particles. *Food chemistry*, 233, 228-236.
- Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., de la Torre, C., Jiménez-Belenguer, A. I., Quiles, A., Marcos, M. D., & Barat, J. M. (2018). Improving the Antimicrobial Power of Low-Effective Antimicrobial Molecules through Nanotechnology. *Journal of food science*, 83(8), 2140-2147.
- S. Chang, M. Redondo-Solano, H. Thippareddi. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on alfalfa seeds by caprylic acid and monocaprylin *International Journal of Food Microbiology*, 144 (2010), pp. 141-146
- Scannell, A. G., Hill, C., Ross, R. P., Marx, S., Hartmeier, W., & Arendt, E. K. (2000). Development of bioactive food packaging materials using immobilised bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin®. *International journal of food microbiology*, 60(2-3), 241-249.
- Silva, F. & Gibbs, P. (2009). Principles of Thermal Processing: Pasteurization. *Engineering Aspects of Thermal Food Processing*, Edition: Contemporary Food Engineering Series, Chapter 2, pp.13-48.
- Suppakul, P., Sonneveld, K., Bigger, S. W., & Miltz, J. (2008). Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. *LWT-Food Science and Technology*, 41(5), 779-788.
- Tampau, A., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2017). Carvacrol encapsulation in starch or PCL based matrices by electrospinning. *Journal of Food Engineering*, 214, 245-256.
- Tampau, A., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2018). Release kinetics and antimicrobial properties of carvacrol encapsulated in electrospun poly-(ε-caprolactone) nanofibres. Application in starch multilayer films. *Food hydrocolloids*, 79, 158-169.
- Tampau, A., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2020). Polylactic acid-based materials encapsulating carvacrol obtained by solvent casting and electrospinning. *Journal of Food Science*, 85(4), 1177-1185
- Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1998). Carne y productos cárnicos: tecnología, química y microbiología. Acribia.
- Vazquez, B. I., Fente, C., Franco, C. M., Vazquez, M. J., & Cepeda, A. (2001). Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 67(1-2), 157-163.
- Ventura, J. (2013). 50 Congreso Científico de avicultura. El riesgo cero en alimentación no existe. *Albéitar: publicación veterinaria independiente*, (170), 16-17.