



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

## *ANTIMICROBIANOS NATURALES PRESENTES EN COLORANTES ALIMENTARIOS*

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

ALUMNO/A: Tania Guardiola San Román

TUTOR/A ACADEMICO: Ana Jiménez Belenguer

*Curso Académico: 2019-2020*  
**VALENCIA, DICIEMBRE 2020**

# ANTIMICROBIANOS NATURALES PRESENTES EN COLORANTES ALIMENTARIOS

Tania Guardiola San Román, Ana Isabel Jiménez Belenguer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Biotecnología Universitat Politècnica de València*

## Resumen

Una de las mayores preocupaciones de la industria alimentaria son las enfermedades causadas por microorganismos patógenos presentes en los alimentos. Para evitar esto se suelen utilizar conservantes de origen químico, pero el mercado cada vez requiere la utilización de productos de origen natural. Los antimicrobianos naturales se encuentran en diversas fuentes como plantas, animales y bacterias y podrían tener un papel clave en la reducción y eliminación de estos peligros. Por otro lado, los colorantes alimentarios se añaden a la mayoría de los alimentos que consumimos ya que mejoran el aspecto de los productos. La tendencia también se encamina hacia el uso de colorantes más naturales, que provienen mayoritariamente de plantas. Por eso en esta revisión bibliográfica profundizamos sobre los antimicrobianos naturales que están presentes en los colorantes naturales, observando el gran campo de estudio y las múltiples posibilidades que nos ofrecen.

Palabras clave: Antimicrobianos, colorantes, natural, curcumina, antocianos, betalaínas.

## Resum

Una de les majors preocupacions de la indústria alimentària són les malalties causades per microorganismes patògens presents en els aliments. Per a evitar això se solen utilitzar conservants d'origen químic, però el mercat cada vegada requereix la utilització de productes d'origen natural. Els antimicrobians naturals es troben en diverses fonts, come plantes, animals i bacteries i podrien tindre un paper clau en la reducció i eliminació d'aquests perills. D'altra banda, els colorants alimentaris s'afegeixen a la majoria dels aliments que consumim ja que milloren l'aspecte dels productes. La tendència també s'encamina cap a l'ús de colorants més naturals, que provenen majoritàriament de plantes. Per això, en aquesta revisió bibliogràfica indaguem sobre els antimicrobians naturals que estan presents en els colorants naturals, observant el gran camp d'estudi i les múltiples possibilitats que ens ofereixen.

Paraules clau: Antimicrobians, colorants, natural, curcumina, antocians, betalaïna.

## Abstract

One of the major concerns of the food industry is the diseases caused by pathogenic microorganisms present in food. To avoid this, preservatives of chemical origin are usually used, but the market nowadays requires the use of products of natural origin. Natural antimicrobials are found in different sources such as plants, animals and bacteria and could play a key role in reducing and eliminating foodborne pathogens and diseases. Moreover, food colorants are

present in the majority of products that we consume, usually because they improve the appearance of the aliment. The trend also leads to the use of more natural colorants, which mainly come from plants. Therefore, in this bibliographic review the point is to look at the natural antimicrobials present in the natural colorants, observing the great study field and the multiple possibilities that are offered.

Key words: Antimicrobials, colorants, natural, curcumin, anthocyanins, betalains.

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología

## ÍNDICE

1. Antimicrobianos naturales
  - 1.1. Introducción a antimicrobianos naturales
  - 1.2. Clasificación de los antimicrobianos naturales
    - 1.2.1. Compuestos derivados de plantas
    - 1.2.2. Compuestos de origen animal
    - 1.2.3. Compuestos de fuentes microbianas
    - 1.2.4. Compuestos de algas y hongos
  - 1.3. Uso de antimicrobianos de origen natural en la historia
2. Colorantes
  - 2.1.1. Introducción e historia de los colorantes alimentarios.
  - 2.1.2. Colorantes sintéticos
  - 2.1.3. Colorantes naturales
    - 2.1.3.1.1. Propiedades antimicrobianas de los colorantes naturales
      - 2.1.3.1.1.1. Antocianinas
      - 2.1.3.1.1.2. Betalaínas
      - 2.1.3.1.1.3. Curcumina
3. Conclusión
4. Referencias

## **1. ANTIMICROBIANOS NATURALES**

### **1.1. Introducción a antimicrobianos naturales.**

Muchas enfermedades de origen alimentario son causadas por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos patógenos. Para evitar su proliferación, durante años se han desarrollado muchos métodos de conservación alimentaria para asegurar la seguridad, los valores nutricionales y las características sensoriales de los alimentos que ingerimos (Quinto et al., 2019).

Los antimicrobianos se usan en los alimentos por dos razones principales, para controlar los procesos naturales de deterioro y para prevenir y controlar el crecimiento de microorganismos (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010). El problema es que algunos de los métodos utilizados en la industria alimentaria a veces pueden tener efectos indeseables en el producto final, alterando sus aspectos organolépticos y nutricionales, o causando problemas en la salud del consumidor, como sería el caso, por ejemplo, de las reacciones alérgicas causadas por sulfitos (Quinto et al., 2019).

Debido a ello, en los últimos años, los consumidores han demostrado su preocupación e interés por la seguridad y la calidad de los conservantes sintéticos que se usan en los alimentos (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010). Esta preocupación es debida en parte al uso excesivo de conservantes químicos, algunos de ellos siendo estudiados por su alta toxicidad potencial y el consiguiente aumento de las restricciones de uso de estos compuestos en algunos países (Nychas, 1995). Es por ello, que la ciencia y la industria alimentaria están intentando desarrollar nuevas técnicas y encontrar nuevos antimicrobianos naturales que inhiban tanto el crecimiento bacteriano como el fúngico para así mejorar la calidad de los productos que consumimos, abriendo una nueva vía al desarrollo y utilización de conservantes de origen natural (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010).

Los antimicrobianos naturales son una serie de compuestos naturales que tienen propiedades antimicrobianas y se pueden obtener de diversas fuentes, desde plantas a animales, pasando por bacterias, algas y hongos (Gyawali & Ibrahim, 2014). Algunos ejemplos de antimicrobianos naturales son las lactoperoxidasas, que se extraen de la leche; las lisozimas, que pueden venir de huevos e higos; las saponinas y flavonoides, provenientes de hierbas y especias, etc. Muchas de estas sustancias son utilizadas por las plantas para su propia defensa (Tiwari et al., 2009). Todavía queda mucho por descubrir en este campo, ya que existen muchos compuestos orgánicos que podrían ser usados como antimicrobianos naturales en una gran variedad de aplicaciones alimentarias (Gyawali & Ibrahim, 2014).

### **1.2. Uso de antimicrobianos de origen natural en la historia.**

La conservación de alimentos comienza en la era prehistórica, cuando los humanos comían carne fresca, que ya era almacenada en cuevas frescas y secas. Hace más o menos 400000 años, se estima que el ser humano podría haber utilizado ya métodos de conservación de alimentos (Juneja, Dwivedi & Sofos, 2017).

Algunos siglos más adelante, ya se utilizaban las especias y las hierbas aromáticas, no solo para añadir sabor a los alimentos, sino también por sus propiedades medicinales y conservantes, utilizadas para prevenir el deterioro de alimentos y para ampliar su vida útil (Ceylan & Fung, 2004).

El primer uso de especias data de la época de las pirámides de Egipto (2600 AC) mientras que en China data del siglo IV AC, donde algunas especias como el clavo, la canela, la mostaza, la menta y el jengibre todavía se utilizan como remedios naturales alternativos (Ceylan & Fung, 2004). En Arabia en el siglo IX ya hay constancia del uso de aceites esenciales provenientes de plantas, hierbas aromáticas y especias contra patógenos además de la función conocida de añadir y aumentar el sabor a los alimentos (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010).

En la Antigua Grecia las especias y las hierbas aromáticas tenían un rol importante en las ciencias médicas y en la conservación de alimento, importando algunas especias orientales como el pimiento, la canela y el jengibre, ya mencionado. El transporte de estas especias y otros bienes de Oriente creó muchas rutas de comercio como la ruta del incienso o la de la seda (Ceylan & Fung, 2004; Shin & Han, 2015) y algunas nuevas llegaron con el descubrimiento de América, como la vainilla ya utilizada por incas y mayas en sus comidas y alimentos (Ceylan & Fung, 2004).

Los primeros estudios científicos del potencial conservante de especias fueron realizados en 1880, donde se describió la actividad antimicrobiana de la canela contra esporas de *Ántrax*. En 1910 se hicieron varios estudios del poder conservante de la canela y la mostaza, y desde entonces muchos otros estudios han sido llevados a cabo sobre otras especias dando lugar a resultados optimistas sobre el uso de especias (Ibrahim & Cliver, 2010).

Pero podemos marcar el siglo XIX, por el desarrollo de la ciencia, especialmente de la microbiología, que gracias a científicos como a Leeuwenhoek, Pasteur, Metchnikoff y otros, cuando se establecieron las bases de conservación y fermentación de alimentos (Shin & Han, 2015).

### **1.3. Clasificación de los antimicrobianos naturales.**

Los antimicrobianos naturales se clasifican según su origen y su estructura química. Así encontramos antimicrobianos naturales que provienen de plantas, de animales, bacterias, algas y hongos.

#### **1.3.1. COMPUESTOS DERIVADOS DE PLANTAS.**

Los compuestos derivados de las plantas se han utilizado en la medicina tradicional, y como condimentos alimentarios y conservantes. Los compuestos utilizados son principalmente metabolitos secundarios de algunas plantas que poseen diversos beneficios, incluyendo las propiedades antimicrobianas contra microorganismos y patógenos (Lay & Roy, 2012). Se considera que las plantas que manifiestan altos niveles de acción antimicrobiana pueden ser buenas fuentes de extracción de compuestos que inhiban el crecimiento de patógenos alimentarios (Ibrahim et al., 2006).

Hay más de 1300 plantas con compuestos antimicrobianos definidos y más de 30000 compuestos ya han sido aislados de aceites esenciales vegetales que contienen el grupo fenol y utilizados en la industria alimentaria, aunque sólo hay caracterizaciones completas y realmente útiles de unos pocos compuestos (Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010). Algunos de los grupos de compuestos más conocidos por su función antimicrobiana incluyen los fenoles, ácidos fenólicos, quinonas, saponinas, flavonoides, taninos, terpenoides y alcaloides (Gyawali & Ibrahim, 2014); y cabe destacar que las variaciones en la estructura de estos compuestos tienen como resultado diferencias en las propiedades antimicrobianas de los mismos (Savoia, 2012).

Algunas de las hierbas aromáticas más empleadas son el orégano, romero, albahaca, menta, salvia y tomillo, de los que se extraen sustancias normalmente de las hojas. Entre las especias más conocidas con actividad microbiana podemos destacar la canela, el clavo, la mostaza, la vainilla, diferentes pimientas, el jengibre y la nuez moscada (Dorman & Deans, 2000; Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010). De aquí habría que destacar las buenas propiedades bactericidas y bacteriostáticas de los aceites esenciales presentes en el orégano y el tomillo (Burt & Reinders, 2003), así como los oleuropeinos del aceite de oliva compuestos. Además, mencionar las propiedades antibacterianas presentes en el ajo y en la cebolla (Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010).

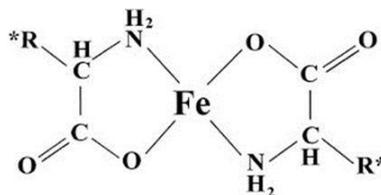
Para cualquier aplicación de compuestos y aceites esenciales en alimentos, se tiene que analizar y controlar la ausencia de patógenos (Reglamento (CE) nº 2073/2005) en el mismo alimento que en el que se va a aplicar. Y no sólo se evaluará la actividad antimicrobiana si no también, la posible variación de las propiedades organolépticas (Tiwari et al., 2009).

### **1.3.2. COMPUESTOS DE ORIGEN ANIMAL.**

Muchos sistemas antimicrobianos evolucionaron como defensa para el organismo de los animales, como por ejemplo sustancias extraídas de la leche como lactoferrinas, lípidos y lisozimas, con funciones antimicrobianas. Es el caso de algunos péptidos como la pleurocidina, lactoferrina, defensinas y portaminas, considerados como una vía alternativa para aumentar la resistencia del organismo frente a patógenos externos. También se ha demostrado que algunos compuestos tienen la capacidad de destruir rápidamente las membranas celulares de bacterias, tanto gram-positivas como gram-negativas, impidiendo que las bacterias desarrollen resistencia, y además, contar con actividad antifúngica y antiviral (Pisoschi et al., 2018; Hoskin & Ramamoorthy, 2008).

Los péptidos antimicrobianos presentan una solución prometedora al problema de la resistencia a antibióticos, ya que en contra de los agentes antimicrobianos tradicionales, los sitios moleculares específicos no son el objetivo, si no que se caracterizan por una destrucción rápida de las membranas, que no deja tiempo para que las bacterias se reproduzcan, ni a que las bacterias muten y se adapten (Tiwari et al., 2009). De entre los péptidos antimicrobianos los que más se han estudiado son:

La Lactoferrina (Fig.1) es una glicoproteína presente en la leche y tiene propiedades antimicrobianas frente a una gran variedad de bacterias y virus. En Estados Unidos ya ha sido aprobada su aplicación en diferentes productos cárnicos (USDA-FSIS, 2010), ya que se ha demostrado su efecto contra algunos patógenos alimentarios frecuentes como *Listeria monocytogenes*, *E. coli* o *Klebsiella* spp (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012). La acción microbiana de la lactoferrina se debe a que limita el acceso de nutrientes a los patógenos, gracias a la formación de quelatos de hierro y por tanto, crea un medio con cantidades insuficientes de hierro, desestabilizando la membrana externa de las bacterias (Orsi, 2004). Similar a la lactoferrina encontramos la lactoperoxidasa, que se origina también de la leche y se ha demostrado efectiva frente a bacterias gram negativas (Wit & van Hooydonk, 1996).

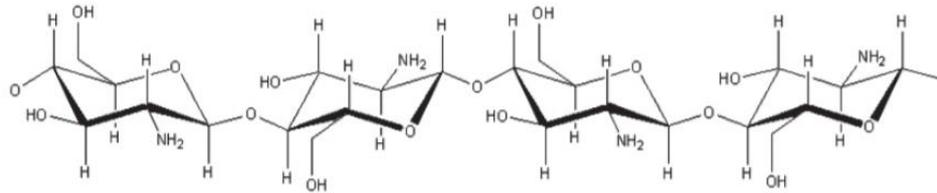


**FIGURA 1.** Estructura química de la lactoferrina.

La pleurocidina es un péptido que se puede extraer de los tejidos mucosos de vertebrados e invertebrados. Ayuda a la defensa natural de los peces (Jia et al., 2000) y actúa frente a las bacterias gram positivas y gram negativas, por lo que tiene bastante potencial como conservante alimentario. Es estable al calor y diferentes concentraciones de sal, aunque queda inhibida por altos niveles de magnesio y calcio, lo que podría limitar su uso (Tiwari et al., 2009; Juneja, Dwivedi & Yan, 2012).

Las defensinas son otro grupo de péptidos catiónicos antimicrobianos que se encuentran en las células epiteliales de muchos animales y de las que se han demostrado diversas características antimicrobianas contra las bacterias gram positivas y gram negativas, hongos y algunos virus (Jin et al., 2010).

Los quitosanos (Fig.2) son biopolímeros policatiónicos normalmente presentes en los exoesqueletos de crustáceos y artrópodos. Pueden ser utilizados gracias a su actividad antibacteriana y antifúngica, aunque su solubilidad varía a determinados pHs. También se ha visto que actúan mejor frente a bacterias gram-negativas (Friedman & Juneja, 2011).



**FIGURA 2.** Estructura química del quitosano (Mandujano-Castro & Vidal-Caldas, 2015).

También existen una gran variedad de lípidos de origen animal que poseen propiedades contra bacterias y hongos. Por ejemplo, algunos lípidos presentes en la leche pueden suprimir el crecimiento de bacterias Gram negativas y Gram positivas, y también se ha visto que otros ácidos grasos pueden cumplir esta función (Tiwari et al., 2009).

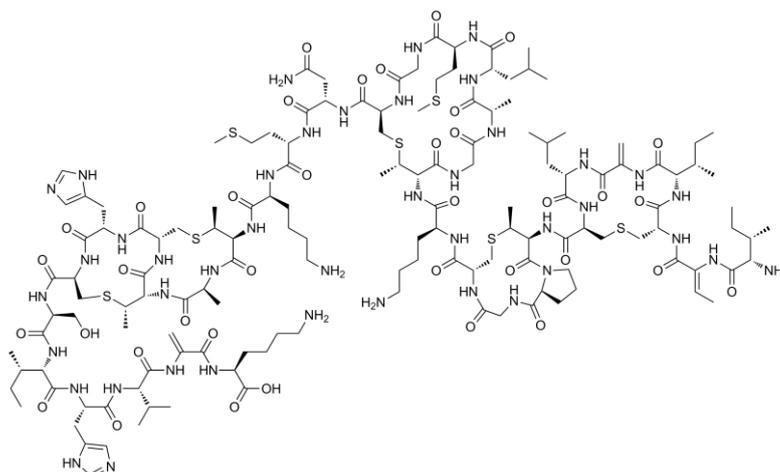
La lisozima es una enzima presente en la leche y de la que más se conoce. Esta tiene un rol bacteriolítico y se ha demostrado que actúan contra el deterioro de los alimentos, especialmente contra bacterias Gram negativas (Pisoschi et al., 2018). Igualmente se ha visto que inhiben el desarrollo de esporas de *Clostridium* en algunas muestras de queso (Van den Berg et al., 2004). Las lisozimas están reconocidas como “seguras” para su adición a alimentos en algunos países (FDA, 1998).

Además de los ya mencionados, hay diferentes estudios que muestran que otros péptidos pueden tener funciones y características buenas para ser considerados antimicrobianos naturales. Es por ejemplo el caso de la protamina, extraída de pescado, que actúa frente bacterias, levaduras y mohos o la magainina de las ranas, contra varios patógenos alimentarios (Potter, Hansen & Gill, 2005; Tiwari et al., 2009).

### 1.3.3. COMPUESTOS DE FUENTES MICROBIANAS.

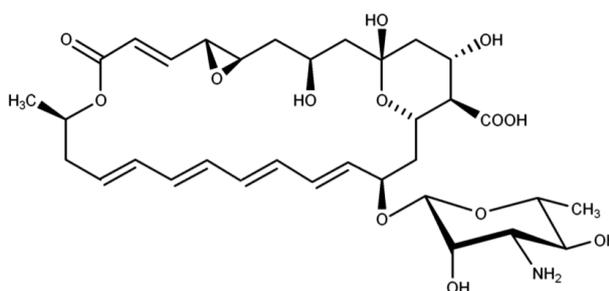
Muchos microorganismos producen productos metabólicos que actúan como inhibidores de otros microorganismos, incluyendo bacterias patógenas y bacterias presentes en el proceso de descomposición y putrefacción de los alimentos (Daeschel, 1989; Juneja, Dwivedi & Yan, 2012). Estos compuestos metabólicos incluyen productos finales de la fermentación como ácidos orgánicos, peróxidos de hidrógeno y diacetil, además de otros productos como bacteriocinas y reuterinas (Daeschel, 1989). Tanto las Gram positivas como las Gram negativas producen bacteriocinas, que son compuestos proteicos antibacterianos, más específicamente, péptidos catiónicos que tienen propiedades hidrofóbicas y anfipáticas (Tiwari et al., 2009).

La nisina (Fig.3) es una de las bacteriocinas más estudiadas. Es un péptido policíclico sintetizado ribosómicamente y producido principalmente por cepas de *Lactococcus lactis* y ha sido aprobada por la FDA para su uso como conservante en algunos alimentos como carnes, zumos y otras bebidas (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012). Actúa principalmente contra bacterias Gram positivas y bacterias formadoras de esporas (Pisoschi et al., 2018). El contra de usar nisina es su ineficacia frente bacterias Gram negativas y hongos (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012).



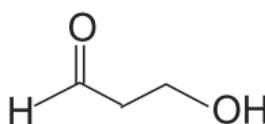
**FIGURA 3.** Estructura química de la nisina (Wikipedia).

La natamicina (Fig.4) es un metabolito de algunas especies de *Streptomyces* (*S. natalensis*, *S. gilvosporeus*, *S. lydicus* y *S. chattanoogensis*) (Aparicio et al., 2016) que, aunque es inactiva frente a virus y bacterias, actúa frente a la mayoría de las levaduras y mohos de los alimentos. Se utiliza ya sobre todo en las cubiertas de quesos y salchichones (Pisoschi et al., 2018). El polvo seco de natamicina es estable durante largos periodos de tiempo sin pérdidas en su actividad antifúngica (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012). Su consumo es seguro, es efectiva a concentraciones bajas, no tiene efectos en la calidad de la comida y su actividad microbiana es prolongada sobre todo si se usa en superficies (Stark, 2003).



**FIGURA 4.** Estructura química de la natamicina (Koontz & Marcy, 2003).

Otra molécula con actividad antimicrobiana frente a un gran espectro de patógenos alimentarios es la reuterina (b-hidroxipropionaldehído) (Fig.5), secretada por *Lactobacillus reuteri*. Tiene alta solubilidad en agua, resistencia al calor, enzimas proteolíticas y lipolíticas y estabilidad en un gran rango de pHs, además de ser eficaz frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Gyawali & Ibrahim, 2014; Arqués, Rodríguez & Núñez, 2011).



**FIGURA 5.** Estructura química de la reuterina (Wikipedia).

Otras bacteriocinas conocidas son las pediocinas, producidas por cepas de *Pediococcus*. Se caracterizan por su termoestabilidad y funcionalidad en un gran rango de pHs, y su eficiencia frente organismos patógenos (Pisoschi et al., 2018). Se suelen emplear en conservación de cárnicos y verduras (Papagianni & Anastasiadou, 2009).

Algunos otros ejemplos podrían ser la acidofilina, bulgaricina, helveticina y plantaricina, extraídas de diversos microorganismos (Gyawali & Ibrahim, 2014).

#### **1.3.4. COMPUESTOS DE ALGAS Y HONGOS.**

Tanto las macroalgas como las microalgas producen compuestos bioactivos que combaten las invasiones bacterianas en sus ecosistemas, de hecho, extractos de ambas mostraron capacidades antioxidantes y antimicrobianas frente a *S. aureus* y *E. coli* (Quinto et al., 2019; Herrero et al., 2012). Muchos derivados de algas se consideran agentes antimicrobianos muy prometedores y con muchas aplicaciones dentro de la industria alimentaria y farmacéutica (Pisoschi et al., 2018).

Eom, Kim y Kim en su estudio sobre los efectos antimicrobianos de los florotaninos de algas pardas marinas, se aislaron florotaninos de las algas y se observó que estos inhibían el crecimiento de bacterias alimentarias patógenas y también, bacterias resistentes a antibióticos (Eom, Kim, & Kim, 2012).

Entre la gran variedad de hongos que existen, muchos son consumidos como parte de nuestra dieta. Diferentes especies de hongos han demostrado tener algunas propiedades antimicrobianas frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, debido a los compuestos bioactivos que poseen (Gyawali & Ibrahim, 2014).

Por ejemplo, el extracto etanólico de diferentes setas posee actividad microbiana frente a bacterias presentes en alimentos y que contribuyen al deterioro del producto (Kalyoncu et al., 2010). Otro ejemplo es la actividad antimicrobiana detectada en extractos de setas comestibles como *Aphyllorphorales*, *Agaricus*, *A. mellea*, *M. giganteus*, *M. costata*, *M. elata*, *M. esculenta var. vulgaris*, *M. hortensis*, *M. rotunda*, *P. involutus*, *P. eryngii* y *P. ostreatus* (Quinto et al., 2019).

Las algas y hongos se postulan como prometedoras fuentes naturales de compuestos antibióticos y antioxidantes con una aplicabilidad variable en el sector alimentario (Pisoschi et al., 2018).

## **2. COLORANTES.**

### **2.1.1. Introducción e historia de los colorantes alimentarios.**

El color, de una forma u otra, ha sido añadido a nuestras comidas por tiempos inmemorables, ya que los productos con colores atractivos crean una necesidad de ellos (Siva et al., 2011). Además, los consumidores esperan un color particular de cada alimento, como el amarillo de la piña, el naranja del

zumo de naranja y el rosa-rojo de la fresa. Si los colores fueran intercambiados, el resultado no sería el mismo (Attokaran, 2017).

La historia de los colorantes data de antes del 1500 a.C., ya que incluso en algunas tumbas egipcias se pueden observar dibujos de dulces y caramelos de diferentes colores, mientras que el uso de colorantes en otros alimentos como el vino es un posterior, más o menos se realiza desde el año 400 a.C. (Stich, 2016; Dikshit & Tallapragada, 2018).

Hasta mediados del siglo XIX los únicos medios para colorear los alimentos eran colorantes naturales, mayoritariamente especias y otros materiales como flores, minerales y maderas (Stich, 2016). Por ejemplo, en la antigua Roma, el azafrán y otras especias se utilizaban como colorantes alimentarios para dotar los alimentos de color amarillo. También se utilizaban otros alimentos como zanahorias, granadas, espinacas, remolacha y algunas flores (Dikshit & Tallapragada, 2018). Incluso se utilizaban algunos colorantes derivados de animales como el ácido carmínico de las cochinillas y la tinta de calamar (Stich, 2016).

En 1856 el primer colorante sintético fue desarrollado por William Henry Perkin y al final del siglo ya se usaban más de 80 colorantes artificiales, de los cuales la mayoría nunca habían sido testados. Aunque sabemos que los colorantes naturales de plantas, animales y minerales se utilizaban en años anteriores, los colorantes sintéticos eran más fáciles y baratos de producir, además de que se necesitaba menos cantidad de producto para conseguir el mismo efecto de color (Donwham & Collins, 2000).

Hacia el 1900, la mayoría de los colorantes alimentarios se producían a partir de anilina, un derivado tóxico del petróleo (Donwham & Collins, 2000). En estos años, alrededor de 695 colorantes fueron identificados como utilizados por todo el mundo, como los utilizados para reestablecer el color de la leche que había sido mezclada con agua (Stich, 2016). Muchos de estos colorantes, al no haber sido probados sus efectos en la salud humana, contenían óxido de plomo, sulfato de cobre y mercurio. El uso de arsénico en la sal era bastante común. Todos estos compuestos, se sabe hoy en día que son especialmente tóxicos, pero la gente consumía estos productos sin saber nada de su toxicidad (Dikshit & Tallapragada, 2018).

Pero todo cambió rápido debido a la industrialización, ya que la clase trabajadora no siempre cultivaba y fabricaba sus propios alimentos, sino que los compraba. Las industrias, al tener que producir grandes cantidades de alimentos, tuvieron que inventar nuevas formas de conservación, marcando también el principio de la industria de colorantes alimentarios (Stich, 2016).

Hoy en día los colorantes se pueden clasificar en diferentes categorías dependiendo de su origen (Dikshit & Tallapragada, 2018):

- Colorantes sintéticos que no se encuentran en la naturaleza.
- Colorantes sintéticos idénticos a los pigmentos que se encuentran en la naturaleza (Carotenos, riboflavinas...)
- Colorantes naturales producidos por la naturaleza.

### 2.1.2. Colorantes sintéticos

Los colorantes sintéticos son normalmente sintetizados gracias a la modificación química de diferentes compuestos, mientras que los naturales se obtienen por la extracción y purificación de compuestos de las fuentes naturales. También existen algunos compuestos que son químicamente modificados para obtener la estructura de los colorantes naturales (König, 2015).

La mayoría de los colorantes sintéticos son colorantes azoicos, que no se producen de forma natural, sino que se fabrican por síntesis química, lo que permite que se produzcan en grandes cantidades obteniendo una alta pureza del color y una calidad constante (König, 2015), además de que tienen menos sensibilidad a cambios de temperatura, a la luz y no tienen sabor (Lakshmi, 2014).

Por todas estas características, el uso de los colorantes sintéticos se amplió y creció en el mercado, y a la vez, aumentó la preocupación de la población por la seguridad y toxicidad de estos (Donwham & Collins, 2000). Después de numerosas investigaciones, basadas sobre todo en estudios toxicológicos, las regulaciones y leyes alimentarias de la mayoría de los países se adaptaron reduciendo mucho el número de colorantes sintéticos permitidos (Attokaran, 2017). Por ejemplo, en Estados Unidos, la FDA solo permite el uso de 7 colorantes sintéticos, los cuales se muestran en la tabla 1:

**TABLA 1:** Colorantes químicos permitidos en EEUU y su número E correspondiente.

Nombre colorante	Nº E	Color
Azul Brillante FCF	133	Azul
Indigotina	132	Azul
Verde FCF	143	Verde azulado
Rojo Allura AC	129	Rojo
Eritrosina	127	Rosa
Tartrazina	102	Amarillo
Amarillo Sunset FCF	110	Naranja

Mientras que la autorización de uso de colorantes en la Unión Europea viene decretada por la Regulación de la Comisión Europea N° 1333/2008, donde hay una lista de los colorantes sintéticos autorizados (Tabla 2) (European Commission, 2011):

**TABLA 2:** Colorantes químicos permitidos en Europa y su número E correspondiente.

Colorante	NºE
Tartrazina	102
Amarillo Quinoleina	104
Amarillo Sunset FCF	110
Carmoisina	122
Amaranto	123
Rojo Ponceau 4R	124
Eritrosina	127
Rojo Allura AC	129
Azul Patente V	131
Azul Brillante FCF	133
Verde S	142
Negro Brillante	151
Marrón FK	154
Marrón HT	155
Beta-apo-8'-caroteno	160e
Litolubina BK	180

En Europa en particular, ha habido un gran cambio en el uso de colorantes sintéticos hacia el uso de colorantes más naturales. El origen de este cambio fue el estudio Southampton en 2007, donde a unos 300 niños de 3,8 y 9 años se les proporcionaron bebidas que contenían una mezcla de colorantes sintéticos y benzoato de sodio o placebo (McCann et al., 2007). Los resultados apuntaban que el consumo de estos colorantes con benzoato aumentaba la hiperactividad en niños, aunque hubo mucha controversia con este estudio, del que incluso la EFSA dijo: “Los datos que están actualmente disponibles, incluido el estudio de Southampton en sí, no demostraron un vínculo causal entre los colorantes individuales y los posibles efectos en el comportamiento” (EFSA, 2009).

La aprobación del uso o no de diferentes colorantes depende del conocimiento científico del momento, por lo tanto, es necesario revisar las recomendaciones y la información nueva que aparezca. Para facilitar la búsqueda a los estados miembros, la Comisión Europea prepara un informe resumido sobre el uso de aditivos y colorantes (Amchova, Kotolova & Ruda-Kucerova, 2015).

### 2.1.3. Colorantes naturales.

A medida que aumenta la conciencia sobre los efectos nocivos del uso de colorantes sintéticos y químicos, aumenta la demanda de colorantes naturales (Lakshmi, 2014). Para que una sustancia sea considerada natural debe cumplir

diversos requisitos como que exista en la naturaleza, que el material crudo sea natural y que los procesos de extracción no se utilicen químicos. Dependiendo del proceso de extracción, uso y propiedades los extractos pueden ser considerados colorantes o alimentos con propiedades colorantes (como sería el caso de la tinta de calamar o del jugo de tomate) (Solymosi et al., 2015).

Pero los colorantes derivados de plantas, animales y minerales tienen también sus puntos débiles, como su inestabilidad a la temperatura, la luz, al pH y a los agentes oxidantes de algunos alimentos (Lakshmi, 2014), pero son considerados seguros para su uso en alimentos.

Para clasificar los colorantes naturales podemos usar diversas clasificaciones; por origen, por método de extracción y por sus compuestos químicos (Uchegbu, Nnamocha, & Ishiwu, 2020), aunque también se pueden clasificar por tonos de colores (Wrolstad & Culver, 2012).

Si clasificamos por origen encontramos colorantes que tienen un origen vegetal, que vienen de plantas, flores, frutas, hojas y verduras, como puede ser colorantes verdes de la clorofilina, el color azul de los arándanos, el rojo del pimentón y el rosado de la remolacha. Más de 500 especies de plantas y vegetales sirven de colorantes en la India (Lakshmi, 2014). Otros colorantes tienen origen en animales e insectos, como el extracto rojo de la cochinilla o el color violeta que se extrae de algunos moluscos (Bechtold & Mussak, 2009). También podemos obtener colorantes de origen mineral que se obtienen de minerales y de la tierra como el hierro, algunos óxidos y dióxidos. Los microorganismos como las algas, hongos, levaduras y bacterias también generan gran cantidad de colorantes, incluyendo el colorante marrón de *Bacillus* spp. y el rojo de *Dunaliella salina*, con propiedades anticancerígenas y antioxidantes (Uchegbu, Nnamocha & Ishiwu, 2020).

Si clasificamos los colorantes según los componentes químicos que contienen, podríamos ordenarlos por antocianinas, carotenoides, flavonoides, taninos, clorofilas, antoxantinas, licopenos, etc. (Lakshmi, 2014; Uchegbu, Nnamocha & Ishiwu, 2020).

Según Lakshmi podemos hacer la siguiente clasificación de los colorantes naturales (Tabla 3) (Lakshmi, 2014):

**TABLA 3:** Clasificación según clasificación química de Lakshmi de colorantes naturales.

Color	Clasificación química	Fuentes vegetales de extracción
Amarillo-naranja	Flavonoides, Isoquinolinas, Polienos, Piranos, Cromenos	Caléndula, B-carotenos, licopenos, cúrcuma, azafrán...
Marrón	Naftoquinonas	Camelia, arjeña...
Rojo	Chinonas, Antraquinonas, Cromenos	Achiote, remolacha, pimentón, uva...
Púrpura-azul	Benzopironas, Indigoides, Indoles	Acianos, arándanos, <i>I. inctoria</i> ...

Lakshmi (2014) comenta que se relaciona el color púrpura azulado a las antocianinas, el verde a las clorofilinas, el blanco a las antoxantinas, el naranja-amarillo a los carotenoides y el rojo a los licopenos o antocianinas.

En la siguiente tabla (Tabla 4) se puede ver los colorantes naturales que se comercializan en el mercado y las tonalidades que proporcionan (Galaffu, Bortlik & Michel, 2015).

**TABLA 4:** Colorantes naturales, tonalidades y fuentes de extracción que se comercializan en el mercado.

Color	Tonalidades	Fuentes típicas de extracción
<b>Antocianinas</b>		Uva negra, rábanos, zanahoria negra, bayas
<b>Carmín</b>		Cochinillas
<b>Betalaínas</b>		Remolacha
<b>Licopeno</b>		Tomates, Blakeslea trispora
<b>Annato</b>		Semillas de achiote
<b>Pimentón</b>		Pimiento rojo
<b>B-Caroteno</b>		Aceite de palma, Blakeslea trispora
<b>Cártamo</b>		Cártamo
<b>Luteína</b>		Alfalfa, caléndula
<b>Curcumina</b>		Cúrcuma
<b>Clorofilas</b>		Alfalfa, ortiga
<b>Clorofilina</b>		Alfalfa, ortiga
<b>Caramelo</b>		Azúcar
<b>Azul gardenia</b>		Gardenia
<b>Espirulina</b>		Espirulina, alga

### 2.1.3.1.1. Propiedades antimicrobianas de los colorantes naturales

En la industria alimentaria la contaminación y el deterioro de alimentos por microorganismos como bacterias, mohos y levaduras es un problema que no está totalmente bajo control (Wang et al., 2009). Por eso se utilizan químicos, para asegurar e incrementar la seguridad de los alimentos (Konuray & Erginkaya, 2015), pero la demanda de conservantes naturales y sin toxicidad ha ido aumentando en los últimos años (Giusti & Wrolstad, 1996).

A pesar de la gran diversidad de colorantes naturales presentes en el mercado, la mayoría están lejos de ser utilizados con su máximo potencial (Carocho, Morales & Ferreira, 2015), ya que algunos pigmentos pueden actuar además de como colorante como conservante como es el caso de la curcumina, antocianinas, betaninas, etc. (Wang et al., 2009).

### 2.1.3.1.1. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LAS ANTOCIANINAS.

Las antocianinas (Fig.6) son una clase de pigmentos hidrosolubles que incluyen muchos tipos diferentes de antocianinas (cianidina, peonidina, malvidina...) (Wrolstad & Culver, 2012) y son responsables de la gama de colores del rojo al morado de diferentes frutas y verduras, como en las uvas, las moras, las cerezas y las frambuesas (Donwham & Collins, 2000). En las plantas estos pigmentos sirven para atraer a polinizadores, protegerse de la luz ultravioleta y por sus propiedades antivirales y antimicrobianas (Wrolstad, 2004).

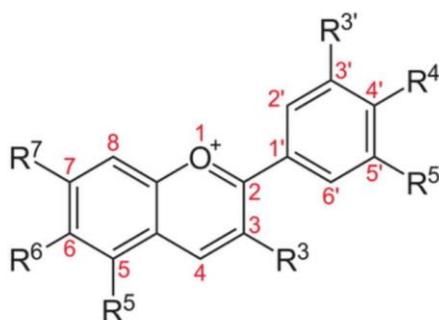


FIGURA 6. Estructura básica de las antocianinas (Khoo et al.,2017).

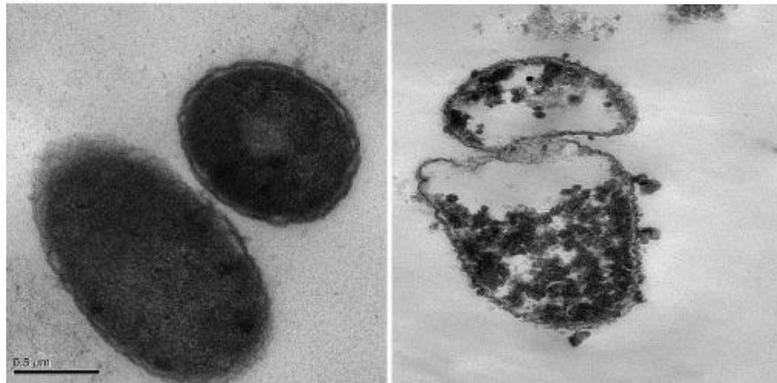
Las antocianinas demuestran la actividad antimicrobiana a través de diversos mecanismos como daño celular al destrozarse la pared celular, la membrana y la matriz (Cisowska, Wojnicz & Hendrich, 2011).

Los compuestos presentes en el vino tinto, como las antocianinas, se saben que son buenos antioxidantes y que tienen un gran rango de efectos bioquímicos y farmacológicos como propiedades anticarcinogénicas, antimicrobianas y antiinflamatorias (Donwham & Collins, 2000).

Hay diversos estudios que tienen como punto central las antocianinas presentes en algunas bayas, como es el caso de las investigaciones de Burdulis et al. sobre las propiedades antimicrobianas de extractos de bayas. Se observó que mostraban efectos inhibitorios del crecimiento de bacterias gram positivas como *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. faecalis*, además de inhibir también algunas gram negativas como (*E. coli* y *Salmonella enterica*). Algunas especies de levaduras como *S. cerevisiae* y *C. parapsilosis* demostraron una resistencia completa a los extractos de antocianinas (Burdulis et al., 2009).

Lacombe et al. demostraron que las antocianinas de los arándanos reducían el crecimiento de *E. coli* hasta ser indetectables a pH 2-4, pero en pH neutro reducían su capacidad antimicrobiana debido a su inestabilidad en estas condiciones (Fig. 7) (Lacombe et al., 2010). Côté et al. también realizaron

un estudio sobre las frambuesas y vieron las propiedades antibacterianas frente a *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. coli* (Côté et al., 2011; Khoo et al., 2017).

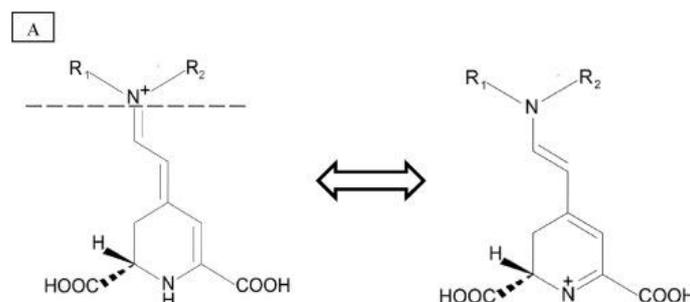


**FIGURA 7.** Fotografía de microscopio de transmisión por electrones de *E. coli* O157:H7 control y tratada con 5% v/v de enocianinas de arándanos (Lacombe et al., 2010).

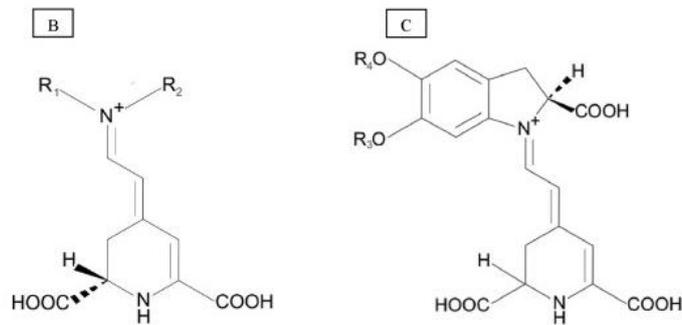
La actividad antimicrobiana de las bayas y otras frutas que contienen antocianinas es probablemente causada por diferentes mecanismos y sinergias, ya que contienen diferentes químicos aparte de antocianinas (Cisowska, Wojnicz & Hendrich, 2011), pero la mayoría de los estudios hasta la fecha se han basado en el estudio único de antocianinas en vez de tener en cuenta el total de químicos que interactúan (Khoo et al., 2017).

### 2.1.3.1.1.2. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LAS BETALAÍNAS.

Las betalaínas (Fig. 8) son pigmentos nitrogenados solubles en agua que consisten en las betacianinas de color rojo rosado (como la betanina de la remolacha, que es una betacianina (Fig.9)) y las betaxantinas amarillas (Fig.9) (como la indicaxantina de la pera cactus). Se encuentran en flores, frutas, raíces, semillas y granos del reino Plantae pero tienen una presencia limitada en alimentos (Rodríguez-Amaya, 2019). Las betalaínas de la remolacha se utilizan como colorante natural y una ventaja es que no dependen del pH y por tanto, son más estables que las antocianinas (Tanaka, Sasaki, & Ohmiya, 2008).



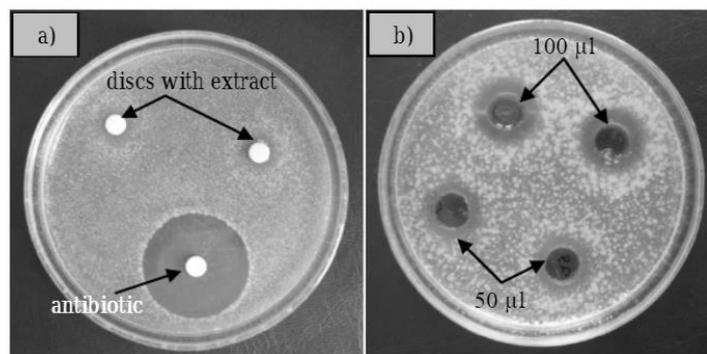
**FIGURA 8.** (A) Estructura de resonancia de la betalaína (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2002).



**FIGURA 9.** (B) Estructura básica de la betacianina. (C) Estructura básica de la betaxantina (Dalgado-Vargas & Paredes-López, 2002).

La remolacha es un colorante natural que se utiliza en gran cantidad de productos como sopas, gelatinas, etc. El color rojo rosado es debido a las betalaínas (Alsherhy, 2019).

Se ha visto que el orujo de remolacha inducía al menor crecimiento de *Salmonella Typhymurium*, *S. aureus* y *B. cereus*, además de inhibir bacterias Gram negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. freundii*. De todas las probadas, *S. aureus* y *B. cereus* mostraron ser más susceptibles. En el resto de las bacterias Gram positivas no se mostró actividad antibacteriana (Čanadanović-Brunet et al., 2011; Velićanski et al., 2011). En la siguiente imagen (Fig.10) podemos observar la actividad antibacteriana del extracto de remolacha frente *B. cereus* (Velićanski et al., 2011).



**FIGURA 10.** Actividad antibacteriana de extracto de remolacha frente *B. cereus* (A) Método de difusión de disco, (B) método de difusión en agar (Velićanski et al., 2011).

En otros estudios con betalaínas extraídas de la pitahaya roja o fruta del dragón se observó que un gran espectro antimicrobiano inhibiendo bacterias gram positivas como *B. cereus*, *S. aureus* y *L. monocytogenes* a 7.8 µg/mL, y gram negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. Typhi* y *Y. enterocolitica* entre otras a 15.6-62.5 µg/mL, algunas levaduras como *C. albicans* y *R. solani* a 125-150 µg/mL y algunos mohos como *F. oxysporum* y *A. flavus* a 500 µg/mL (Tenore, Novellino, & Basile, 2012; Gengatharan, Dykes & Choo, 2015).

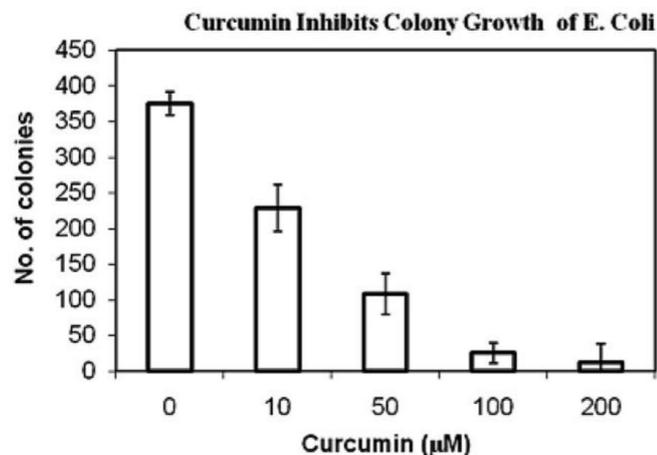
En otro estudio se utilizó la remolacha como pigmento y antimicrobiano en la fabricación de cupcakes y su posterior almacenaje. Se observó que el recuento total de bacterias y hongos era menor en los cupcakes que tenían remolacha comparándolos con el grupo control, concluyendo que los cupcakes



respectivamente, mientras que usando ciprofloxacina se obtenían 15,5 y 13,4 mm, sugiriendo que la curcumina tiene un buen efecto en la inhibición del crecimiento antimicrobiano de estas dos bacterias (Mohammed & Habil, 2015).

Además, en la literatura encontramos otros estudios como el de Lawhavinit et al., en el que utilizan un extracto de cúrcuma que contiene un 86,5% de curcumina se observaron efectos inhibitorios en 24 cepas de bacterias patogénicas presentes en gambas y pollo. Los curcuminoides como la curcumina, mostraron efectos inhibitorios frente a *A. hydrophila*, *S. agalactiae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. intermidis*, *B. subtilis*, *B. cereus* y *Edwardsiella tarda*, con concentraciones mínima inhibitorias de 3,91 a 500 ppt. (Lawhavinit, Kongkathip & Kongkathip, 2010).

En el estudio de Infante et al., se centraron en la capacidad antimicrobiana de la curcumina utilizándola en la industria avícola, en pavos y pollos. Observaron las capacidades antimicrobianas de la curcumina frente a *E. coli* y *Salmonella*, viendo que el número de colonias disminuye con la aplicación de curcumina. En la siguiente imagen (Fig.12) observamos el número de colonias de *E. coli* dependiendo de la curcumina aplicada, obteniendo unos porcentajes de inhibición de 0% a 0  $\mu\text{M}$  de curcumina, 39% a 10  $\mu\text{M}$ , 61% a 50  $\mu\text{M}$ , 94% a 100  $\mu\text{M}$  y 97% a 200  $\mu\text{M}$  (Infante et al., 2014).



**FIGURA 12.** Inhibición del crecimiento de colonias de *E.coli* utilizando curcumina (Infante et al., 2014).

Como se ha mencionado previamente, la curcumina es inestable a factores de luz y calor, por lo que diversos estudios se centran en su utilización en forma de micro capsula para observar efectos antimicrobianos, como es el caso del estudio de Wang et al. La curcumina micro encapsulada ha sido estudiada por su actividad antibacteriana y antifúngica frente algunos patógenos alimentarios como *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. Aureus*, *B. subtilis*, *A. niger*, *P. notatum* y *S. cerevisiae*. En los organismos seleccionados la curcumina actuó mejor contra los Gram positivos, pero en lo que destacó más fue en la lucha contra los hongos (Wang et al., 2009).

La curcumina micro encapsulada mantiene sus propiedades antibacterianas y antifúngicas después de la encapsulación, por lo que puede seguir siendo usada como colorante y conservante en la industria alimentaria,

incluso en las situaciones donde los alimentos tengan que soportar condiciones de exposición a la luz y al calor (Wang et al., 2012).

La sociedad apunta cada vez más a un mercado de productos naturales, por lo que el uso de antimicrobianos naturales en los alimentos es cada vez más común y está en aumento (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010). Podemos encontrar antimicrobianos naturales en diferentes especies de plantas, animales, bacterias, algas y hongos en forma de diferentes compuestos y con posibles diferentes aplicaciones (Gyawali & Ibrahim, 2014).

El mercado de los colorantes sigue la misma perspectiva que el resto de los productos alimentarios, por lo que los colorantes sintéticos están siendo prohibidos por sus propiedades nocivas y en el futuro, pueden caer en total desuso frente a la utilización de colorantes de origen natural (Donwham & Collins, 2000). Estos colorantes provienen de diferentes fuentes en su mayoría plantas, pero también animales, hongos y bacterias (Uchegbu, Nnamocha & Ishiwu, 2020).

Algunos colorantes alimentarios naturales han demostrado tener propiedades antimicrobianas, aunque en esta revisión se comentan solo las antocianinas, las betalaínas y la curcumina.

Las antocianinas tienen propiedades anticarcinogénicas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Donwham & Collins, 2000). Han mostrado efectos inhibitorios del crecimiento de bacterias como *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, además de *Salmonella enterica* y *E. coli*, la última siendo objeto central de estudio de Lacombe et al. (Burdulis et al., 2009; Lacombe et al., 2010; Côté et al., 2011; Khoo et al., 2017).

Las betalaínas también han demostrado tener propiedades antimicrobianas en algunos estudios realizados con remolacha, se ha observado la reducción total de bacterias y hongos en su uso en cupcakes (Ali Alshehry, 2019), así como un menor crecimiento de *S. typhimurium*, *S. aureus* y *B. cereus*, y la inhibición de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. freundii* (Čanadanović-Brunet et al., 2011; Velićanski et al., 2011). Otros estudios de betalaínas nos confirman la inhibición de *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. Typhi* y *Y. enterocolitica*, algunas levaduras como *C. albicans* y *R. solani* y algunos mohos como *F. oxysporum* y *A. flavus* (Tenore, Novellino & Basile, 2012; Gengatharan, Dykes & Choo, 2015).

La curcumina ha demostrado diversos efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos, entre otros (Silva et al., 2018). Muestra propiedades antimicrobianas frente *B. subtilis*, *E. coli* y *S. aureus*, y inhibe el crecimiento de *S. typhi* y *S. dysenteriae*, así como mostraron efectos inhibitorios frente a *A. hydrophila*, *S. agalactiae*, *S. epidermidis*, *S. intermidis*, *B. cereus* y *E. tarda* (Lawhavinit, Kongkathip & Kongkathip, 2010; Wang et al., 2012). También ha resultado ser efectiva inhibiendo el crecimiento de diferentes cepas de *H. pylori* in vitro (De et al., 2009). Comparando la efectividad de la curcumina con la Ciprofloxacina vemos que aunque no son los mismos, los resultados son satisfactorios en la inhibición del crecimiento de *S. mutans* y *S. pyogenes* (Mohammed & Habil, 2015).

En la industria avícola la aplicación de curcumina disminuyó el recuento de colonias de *E. coli* y *Salmonella* (Infante et al., 2014).

### 3. CONCLUSIÓN

Los productos naturales en el mercado alimentario están mejor valorados que los químicos, por lo que el uso de productos de origen natural es cada vez más demandado. Es el caso del uso de los antimicrobianos naturales, ya que hoy en día se utilizan muchos agentes químicos para aumentar la vida útil y eliminar microorganismos de los alimentos. Se ha visto que hay antimicrobianos naturales que se pueden extraer de muchas fuentes diferentes y que podrían sustituir a los químicos.

De forma similar sucede con los colorantes alimentarios, ampliamente utilizados en el mercado. Los químicos son más utilizados, pero los naturales abren un mercado de productos que serán más demandados. Como tienen fuentes naturales, muchos colorantes tienen funciones antimicrobianas como las descritas en el presente trabajo. Es por ello, que se deben hacer futuras investigaciones en su uso y aplicación en alimentos para poder conseguir colorantes que además de ser naturales y cumplir su función de tinte alimento, añadan un valor extra como antimicrobianos naturales.

### 4. REFERENCIAS

Ali Alshehry, G., (2019). Utilization of Beetroot As a Natural Antioxidant, Pigment and Antimicrobial in Cupcake During the Storage Period. *International Journal of Engineering Research And*. <https://doi.org/10.17577/ijertv8is100053>.

Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>

Aparicio, J. F., Barreales, E. G., Payero, T. D., Vicente, C. M., de Pedro, A., & Santos-Aberturas, J. (2016). Biotechnological production and application of the antibiotic pimaricin: biosynthesis and its regulation. In *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7077-0>.

Arqués, J. L., Rodríguez, E., Nuñez, M., & Medina, M. (2011). Combined effect of reuterin and lactic acid bacteria bacteriocins on the inactivation of food-borne pathogens in milk. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.027>

Attokaran, M. (2017). Natural Food Flavors and Colorants. In *Natural Food Flavors and Colorants*. <https://doi.org/10.1002/9781119114796>

Bechtold, T., & Mussak, R. (2009). Handbook of Natural Colorants. In *Handbook of Natural Colorants*. <https://doi.org/10.1002/9780470744970>

Burdulis D, Šarkinas A, Jasutienė I, Stackevičienė E, Nikolajevs L, Janulis V. (2009) Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 66, 399-408.

Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. *Letters in Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01285.x>

Čanadanović-Brunet, J. M., Savatović, S. S., Četković, G. S., Vulić, J. J., Djilas, S. M., Markov, S. L., & Cvetković, D. D. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. *Czech Journal of Food Sciences*. <https://doi.org/10.17221/210/2010-cjfs>

Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Natural food additives: Quo vadis? In *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.007>

Ceylan, E., & Fung, D. Y. C. (2004). Antimicrobial activity of spices. In *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2004.tb00046.x>

- Cisowska, A., Wojnicz, D., & Hendrich, A. B. (2011). Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. In *Natural Product Communications*. <https://doi.org/10.1177/1934578x1100600136>
- Côté, J., Caillet, S., Doyon, G., Dussault, D., Sylvain, J. F., & Lacroix, M. (2011). Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.024>
- Daeschel, M. A. (1989). Antimicrobial substances from lactic-acid bacteria for use as food preservatives. In *Food Technology*.
- De wit, J., & Van Hooydonk, A. (1996). Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Nederlands Melk En Zuiveltijdschrift*.
- De, R., Kundu, P., Swarnakar, S., Ramamurthy, T., Chowdhury, A., Nair, G. B., & Mukhopadhyay, A. K. (2009). Antimicrobial activity of curcumin against helicobacter pylori isolates from India and during infections in mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1128/AAC.01242-08>
- Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2002). Natural colorants for food and nutraceutical uses. In *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. <https://doi.org/10.1201/9781420031713>
- Dikshit, R., & Tallapragada, P. (2018). Comparative study of natural and artificial flavoring agents and dyes. In *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes: Handbook of Food Bioengineering*. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-00380-7>
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>
- Downham, A., & Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00373.x>
- EFSA, EFSA Updates Safety Advice on Six Food Colours, (2009)
- Eom, S. H., Kim, Y. M., & Kim, S. K. (2012). Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. In *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.06.028>
- European Commission, 2011. Commission Regulation (EU) No. 1129/2011 amending Annex II to Regulation (EC) No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. European Commission.
- FDA. (1998). Direct food substances affirmed as generally recognized as safe: egg white lysozyme. *Federal Register*, 63(4), 12421e12426
- Friedman, M., & Juneja, V. K. (2011). Antimicrobial and other beneficial applications of chitosans. In *Natural Antimicrobials in Food Safety and Quality*. <https://doi.org/10.1079/9781845937690.0131>
- Galaffu, N., Bortlik, K., & Michel, M. (2015). An industry perspective on natural food colour stability. In *Colour Additives for Foods and Beverages*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00005-2>
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. In *LWT*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (1996). Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb12182.x>
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. In *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- Herrero, M., Mendiola, J. A., Plaza, M., & Ibañez, E. (2012). Screening for bioactive compounds from algae. In *Advanced Biofuels and Bioproducts*. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4\\_35](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4_35)
- Hoskin, D. W., & Ramamoorthy, A. (2008). Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. In *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.11.008>
- Ibrahim, S. A., Salameh, M. M., Phetsomphou, S., Yang, H., & Seo, C. W. (2006). Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine, to control Escherichia coli O157: H7. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.026>

- Infante, K., Chowdhury, R., Nimmanapalli, R., & Reddy, G. (2014). Antimicrobial Activity of Curcumin Against Food-Borne Pathogens. *Vedic Research International Biological Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.14259/bmc.v2i1.102>
- Jayaprakasha, G. K., Jagan Mohan Rao, L., & Sakariah, K. K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. In *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.08.006>
- Jia, X., Patrzykat, A., Devlin, R. H., Ackerman, P. A., Iwama, G. K., & Hancock, R. E. W. (2000). Antimicrobial peptides protect coho salmon from *Vibrio anguillarum* infections. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.1928-1932.2000>
- Jin, J. Y., Zhou, L., Wang, Y., Li, Z., Zhao, J. G., Zhang, Q. Y., & Gui, J. F. (2010). Antibacterial and antiviral roles of a fish  $\beta$ -defensin expressed both in pituitary and testis. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012883>
- Juneja, V. K., Dwivedi, H. P., & Sofos, J. N. (2017). Microbial Control and Food Preservation: Theory and Practice. In *Food Microbiology and Food Safety Research and Development Microbial Control and Food Preservation Theory and Practice*.
- Juneja, V. K., Dwivedi, H. P., & Yan, X. (2012). Novel natural food antimicrobials\*. *Annual Review of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101241>
- Kalyoncu, F., Oskay, M., Sağlam, H., Erdoğlan, T. F., & Tamer, A. U. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of mycelia of 10 wild mushroom species. *Journal of Medicinal Food*. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0090>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. In *Food and Nutrition Research*. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- König, J. (2015). Food colour additives of synthetic origin. In *Colour Additives for Foods and Beverages*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00002-7>
- Konuray, G., & Erginkaya, Z. (2015). Antimicrobial and antioxidant properties of pigments synthesized from microorganisms. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*.
- Koontz, J. L., & Marcy, J. E. (2003). Formation of Natamycin:Cyclodextrin Inclusion Complexes and Their Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf030332y>
- Lacombe A, Wu VC-H, Tyler S, Edwards K. (2010) Antimicrobial action of the American cranberry constituents: phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 102-107.
- Lai, P., & Roy, J. (2012). Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices. *Current Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.2174/0929867043365107>
- Lakshmi, C. (2014). Food Coloring: The Natural Way. *Research Journal of Chemical Sciences Res. J. Chem. Sci.*
- Lawhavinit, O. A., Kongkathip, N., & Kongkathip, B. (2010). Antimicrobial activity of curcuminoids from *Curcuma Longa* L. on pathogenic bacteria of shrimp and chicken. *Kasetsart Journal - Natural Science*.
- Mandujano-Castro, N., & Vidal-Caldas, C. C. (2015). Obtención y caracterización de quitina y quitosano del *Emerita* analoga a escala piloto. *Revista Tzhoecoen*. <https://doi.org/10.1300/J030v04n02>
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J. O., & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3)
- Mohammed, A., & Habil, N. (2015). Evaluation of Antimicrobial Activity of Curcumin Against Two Oral Bacteria. *Automation, Control and Intelligent Systems*. <https://doi.org/10.11648/j.acis.s.2015030201.14>
- Nychas, G. J. E. (1995). Natural antimicrobials from plants. In *New Methods of Food Preservation*. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2105-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2105-1_4)
- Orsi, N. (2004). The antimicrobial activity of lactoferrin: Current status and perspectives. In *BioMetals*. <https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000027691.86757.e2>

- Papagianni, M., & Anastasiadou, S. (2009). Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. In *Microbial Cell Factories*. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-3>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N. K., & Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. In *European Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.095>
- Potter, R., Hansen, L. T., & Gill, T. A. (2005). Inhibition of foodborne bacteria by native and modified protamine: Importance of electrostatic interactions. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.019>
- Quinto, E. J., Caro, I., Villalobos-Delgado, L. H., Mateo, J., De-Mateo-silleras, B., & Redondo-Del-río, M. P. (2019). Food safety through natural antimicrobials. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040208>
- Reglamento (CE) nº 2073/2005, Comisión, DOUE num 228, Criterios microbiológicos aplicables a productos alimenticios.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028>
- Savoia, D. (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: Alternatives to antibiotics. In *Future Microbiology*. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.68>
- Sharma, R. A., Gescher, A. J., & Steward, W. P. (2005). Curcumin: The story so far. *European Journal of Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.05.009>
- Shin, S., & Han, N. S. (2015). Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals. In *Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals*.
- Silva, A. C. da, Santos, P. D. de F., Silva, J. T. do P., Leimann, F. V., Bracht, L., & Gonçalves, O. H. (2018). Impact of curcumin nanoformulation on its antimicrobial activity. In *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.004>
- Siva, R., Palackan, M. G., Maimoon, L., Geetha, T., Bhakta, D., & Balamurugan, P. (2011). Evaluation of antibacterial, antifungal, and antioxidant properties of some food dyes. *Food Science and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0002-0>
- Solyosi, K., Latruffe, N., Morant-Manceau, A., & Schoefs, B. (2015). Food colour additives of natural origin. In *Colour Additives for Foods and Beverages*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00001-5>
- Stark, J. (2003). Natamycin: An effective fungicide for food and beverages. In *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85573-669-6.50010-1>
- Stich, E. (2016). Food Color and Coloring Food: Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. In *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00001-4>
- Tajkari, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>
- Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. In *Plant Journal*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>
- Tenore, G. C., Novellino, E., & Basile, A. (2012). Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.003>
- 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. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf900668n>
- Uchegbu, N., Nnamocha, T., & Ishiwu, C. (2020). Natural Food Colourants Juxtaposed with Synthetic Food Colourant: A Review. *Pakistan Journal of Nutrition*. <https://doi.org/10.3923/pjn.2020.404.419>
- USDA-FSIS. (2010). Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg products. FSIS Dir. 7120.1 Revision 2
- Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Markov, S. L., Vulić, J. J., & Djilas, S. M. (2011). Antibacterial activity of beta vulgaris L. pomace extract. *Acta Periodica Technologica*. <https://doi.org/10.2298/APT1142263V>

W.C.M. van den Berg, E.M. Düsterhoft, G. Smit, Gouda and related cheeses, in: P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 3 ed., Elsevier Academic Press, London, UK, 2004, pp. 103e140.

Wang, Y. F., Shao, J. J., Zhou, C. H., Zhang, D. L., Bie, X. M., Lv, F. X., Zhang, C., & Lu, Z. X. (2012). Food preservation effects of curcumin microcapsules. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.008>

Wang, Y., Lu, Z., Wu, H., & Lv, F. (2009). Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.001>

Wang, Y., Lu, Z., Wu, H., & Lv, F. (2009). Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.001>

Wrolstad, R. E. (2004). Symposium 12: Interaction of natural colors with other ingredients. Anthocyanin pigments - Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10709.x>

Wrolstad, R. E., & Culver, C. A. (2012). Alternatives to those artificial FD & C food colorants. *Annual Review of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101118>