

EMPAQUES ANTIMICROBIANOS PARA ALIMENTOS

*Jairo H. Patiño*¹, Luis E. Henríquez¹ y María Isabel² Lantero*

¹Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (INTAL)

Carretera 50 G, No 12 Sur - 91, Itagui, Colombia.

²Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Ave. 23, No. 21425, C.P. 13 600

La Habana, Cuba.

E-mail: director@fundacionintal.org

RESUMEN

En los últimos años nuevas técnicas de elaboración de alimentos han sido desarrolladas. Dado que algunas de estas técnicas podrían requerir la implementación de empaques con características especiales, una nueva gama de empaques activos han surgido ante esta necesidad. Los empaques antimicrobianos además de proteger el producto del ambiente externo, inhiben o retrasan el crecimiento de microorganismos en los alimentos. El objetivo principal de este artículo fue revisar la información presente en la literatura sobre las diferentes gamas de empaques antimicrobianos, sus mecanismos de acción y los nuevos agentes antimicrobianos en el desarrollo de estos empaques.

Palabras clave: empaques activos, empaques antimicrobianos, agentes antimicrobianos.

ABSTRACT

Antimicrobial packaging on food

In recent years, new food processing techniques have been developed. Since some of these techniques may require of the implementation of packages with special features, a new range of active packaging have been created to this needs. Antimicrobial packaging and protects the product from the external environment, inhibiting or slowing the growth of microorganisms in food. The main objective of this paper was to review the information in the literature on the different ranges of antimicrobial packaging and its mechanisms of action and new antimicrobial agents in the development of these packages.

Key words: active packaging, antimicrobial packaging, antimicrobial agents.

INTRODUCCIÓN

Los empaques en alimentos han sido tradicionalmente diseñados para el soporte mecánico y protección de las influencias externas, como luz, oxígeno, calor, presencia o ausencia de humedad, presión, insectos, microorganismos, malos olores, suciedad o partículas de polvo, entre muchos otros, y con ello garantizar la comodidad en la manipulación y la preservación de la calidad de los alimentos durante un período de tiempo prolongado (1- 5).

**Jairo H. Patiño Gómez: Licenciado en Alimentos, Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Especialista en Empaques, Máster en Administración de Negocios. Director del Instituto de Ciencia y Tecnología Alimentaria. FUNDACION INTAL. Medellín. Colombia.*

El objetivo clave de seguridad para los materiales de empaque en contacto con los alimentos es ser lo más inertes posible, donde solo debe haber un mínimo de interacción entre los alimentos y el empaque (6). Sin embargo, a pesar de que esta concepción de empaque se mantiene, en cuanto a las disposiciones generales de migración de compuestos nocivos envase/alimento y la exposición del ser humano a estos (7), la industria alimentaria y de empaques ha utilizado a su favor este tipo de interacciones y el efecto del empaque sobre el alimento. Es así, como a finales del siglo XX, se desarrollaron una gama de nuevas tecnologías de empaque que además de satisfacer las necesidades obligatorias de un empaque, presentan una serie de características benéficas al producto alimenticio tratando de garantizar su vida útil y la seguridad al consumidor (8-10), clasificándose en empaques activos, diseñados para tratar de mantener o aumentar la calidad y la inocuidad de los alimentos envasados (11), como los controladores de oxígeno, antimicrobiales, medidores de respiración y controladores de olor/aroma (12); empaques inteligentes, que indican la carga microbiana, la presencia de agentes patógenos y los niveles de antioxidantes de los productos envasados (13-15); y los empaques bioactivos, empaques especialmente diseñados para alimentos funcionales, capaces de retener principios bioactivos en óptimas condiciones hasta su eventual liberación en el alimento o bien mediante liberación rápida o controlada durante el almacenamiento, o justo antes de su consumo, teniendo en cuenta el producto específico y las características de la sustancia funcional (16); basados en una deliberada interacción de los envases con el alimento y su entorno directo (15).

Los empaques activos para alimentos son una de las tecnologías emergentes más dinámicas que la industria de alimentos investiga como una alternativa a técnicas tradicionales en procesos de alimentos (tratamientos térmicos intensos, salado, acidificación, deshidratación, aditivos químicos, etc.) para diversos usos, especialmente combinados con otras tecnologías como las atmósferas modificadas de empaque, radiación, pulsos eléctricos, tratamientos de altas presión, entre otros (13). El embalaje activo de alimentos es definido como la tecnología en la cual el sistema de empaque juega un papel activo en la preservación del alimento y su calidad, durante el proceso de comercialización (8, 17).

El propósito de esta revisión es brindarle al lector información sobre el uso y la aplicación de agentes microbianos en empaques activos para alimentos.

Empaques activos

Los empaques activos se ocupan principalmente de mantener o aumentar la calidad y la seguridad de los alimentos envasados (12, 16). Además, pueden ejecutar varias funciones adicionales, tales como la absorción de compuestos que inducen el deterioro; la liberación de compuestos que extienden la vida útil del producto, monitoreo de la vida útil y la fecha correcta para su consumo, mejor antes de (18), al poseer indicadores especiales que incluyen el uso de secuestrantes de oxígeno, emisores y secuestrantes de etileno y de dióxido de carbono, removedores de humedad o absorbentes (19), liberadores de etanol, secuestrantes de aminas o aldehídos, agentes antioxidantes y antimicrobianos (17).

Hoy en día los desarrollos de envases activos se centran en la incorporación de los agentes en las matrices poliméricas que constituyen las paredes del envase; los materiales resultantes actúan liberando sustancias que tienen un efecto positivo sobre los alimentos o mediante la retención de sustancias no deseadas del alimento o la atmósfera interna del envase (17, 19).

Dentro de los empaques activos, los empaques con propiedades antimicrobianas han presentado un fuerte desarrollo en la última década, al permitir el control del crecimiento microbiológico y de microorganismos específicos, especialmente patógenos (8, 11, 21, 22).

Empaques antimicrobianos

Los alimentos son sensibles al crecimiento y desarrollo de un amplio espectro de microorganismos, derivado de su composición y las condiciones de proceso, que alteran la calidad e inocuidad y por tanto, su tiempo de vida útil y su grado de aceptación (22), lo que genera grandísimas pérdidas para la industria alimentaria, sumado a los riesgos en salud pública. El uso de envases activos con agentes antimicrobianos es una metodología reciente, que además de una barrera inerte al ambiente externo, ofrece otras propiedades destinadas a mejorar la conservación de los alimentos bajo la reducción e inhibición del crecimiento de microorganismos (20).

Varias condiciones deben considerarse al diseñar un sistema de envasado antimicrobiano. En primer lugar, la situación reglamentaria del agente antimicrobiano que debe ser reconocido como GRASS (generalmente reconocido como seguro, de sus siglas en inglés). Por otro lado el mecanismo de acción, los cuales se basan principalmente en la difusión o la liberación de los agentes antimicrobianos y el contacto directo. Otra cuestión es la relación costo-beneficio, ya que algunos sistemas de antimicrobianos pueden ser eficaces, pero no se producen a gran escala y sus costos pueden ser muy altos (12, 23). Por último, hay numerosos desafíos técnicos relacionados con los métodos de incorporación en el empaque, como el recubrimiento, la tasa de curación, la facilidad de sellado térmico, los efectos sobre las propiedades físicas y mecánicas de la película, los efectos sobre el color, la textura o el sabor del alimento, y la capacidad del agente antimicrobiano para proporcionar una eficacia en todo el ciclo de vida del envase/producto (24).

La viabilidad de la tecnología ha sido demostrada mediante la incorporación o la inmovilización de los agentes antimicrobianos en o sobre los materiales de embalaje (24, 26-28).

Agentes antimicrobianos (AM)

Los AM empleados en el envasado de alimentos, son incorporados con la finalidad de mejorar la calidad y la seguridad mediante la reducción de la contaminación superficial de los alimentos elaborados, pero no son un sustituto de las buenas prácticas de higiene y manufactura (24), ni ningún otro sistema de calidad. Los AM ayudan a reducir la tasa de crecimiento de la población de microorganismos (deterioro y patógenos) mediante la ampliación de la fase de adaptación o la desactivación de estos (21).

Algunos de los sistemas antimicrobianos incluyen la adición de bolsas que contienen agentes antimicrobianos volátiles en los paquetes, aplicación de recubrimientos comestibles con el componente antimicrobiano, y la incorporación de agentes antimicrobianos directamente en el material de empaque (29, 30).

Un gran número de sustancias se pueden incluir en el empaque para impartir propiedades antimicrobianas (22), tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido

láurico (31); ácido láctico (32); quitosana (30, 31); EDTA (33, 34); eugenol, geraniol, linalol, timol y terpineol (35-38); nisina (39, 40), iones de plata (41, 42), entre muchos otros. Los ácidos orgánicos tales como el benzoico, acético, láctico, tartárico y propiónico se usan como agentes conservantes (43), que pueden ser incluidos en la formulación de la película de empaque (12). Su acción consiste en la disminución del pH y su ataque en estado disociado.

Los AM que son incorporados al empaque, migran a los alimentos a través de difusión y partición (44). Además de la liberación equilibrada, la difusión y la partición, algunos envases antimicrobianos utilizan antibióticos o fungicidas covalentemente inmovilizados, o moléculas activas, tales como grupos amino (21).

Las películas antimicrobianas se pueden clasificar de acuerdo a la tasa de migración y de acuerdo a la volatilidad del AM. De acuerdo a la tasa de migración se dividen en (1) las películas que contienen un AM que migra a la superficie de los alimentos y esto requeriría una estructura molecular lo suficientemente grande como para mantener la actividad en la pared celular microbiana, aún ligada al plástico. Estos agentes suelen ser limitados a las enzimas u otras proteínas antimicrobianas, y (2) aquellos que son eficaces contra el crecimiento de la superficie de los microorganismos sin migración. Las películas de embalaje no comestibles pueden contener cualquier tipo de aditivos alimentarios (20). De acuerdo a su volatilidad pueden distinguirse en dos tipos: (1) compuestos volátiles, es decir, evitan el crecimiento antimicrobiano por contacto directo o indirecto entre el envase y el alimento, y (2) compuestos no volátiles que requieren del contacto directo entre el alimento y el envase para ejercer su efectividad (45).

El mecanismo de acción de los AM no está completamente establecido para cada uno en particular, pero se considera que en términos generales se realiza por modificaciones en la pared o membrana celular (34), tornándose más permeable, lo cual desencadena la pérdida de material celular y la muerte celular. Actúan también en actividades principales de la célula como el metabolismo de enzimas y en la síntesis de compuestos y son capaces de coagular el citoplasma, inhibiendo el crecimiento microbiano (22, 36).

Durante las últimas décadas varios AM han sido ampliamente investigados (8, 46, 47). A continuación se describen los de mayor atención actual.

Lisozima: es una de las enzimas antimicrobianas más utilizadas incorporadas en los materiales de empaque (21, 44). Esta enzima muestra actividad antimicrobiana principalmente contra bacterias gram-positivas mediante el fraccionamiento de los enlaces entre el ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina del peptidoglicano de la pared celular. Debido a la protección de la membrana externa que rodea la capa de peptidoglicano, la lisozima no muestra actividad antibacteriana contra bacterias gram-negativas (34). Otros autores (48), desarrollaron un sistema de envasado activo con lisozima parcialmente purificada producida por precipitación con etanol incorporada en una película de maíz, sobre las propiedades del film y la actividad antimicrobiana sobre *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 53868) y *Lactobacillus plantarum* (DSM1954). La enzima parcialmente purificada incorporada en la película de maíz presentó actividad antimicrobiana principalmente en las bacterias *B. subtilis* y *L. plantarum*. Los autores afirman que según las muestras evaluadas, el sistema de envasado puede ser suministrado en condiciones comerciales para aplicaciones de embalaje. Por otra parte se evaluó la incorporación combinada de lisozima con EDTA disódico, extracto de albúmina de garbanzos y albúmina de suero bovino sobre la capacidad antioxidante y la efectividad antimicrobiana de película de maíz contra *E. coli* y *B. subtilis* (34).

Fueron estudiados los efectos antimicrobianos de la incorporación de lactoferrina, lisozima y lactoperoxidasa en películas comestibles de proteína de suero contra *Salmonella entérica* y *E. coli* O157:H7 (49). Los resultados reportados por estos autores difieren de los antes descritos, ya que ni la lisozima ni la lactoferrina presentaron eficacia como AM para el control de *S. enterica* y *E. coli* O157:H7 en la película comestible, mientras que el sistema lactoperoxidasa mostró fuertes efectos bactericidas frente a estos patógenos.

Otros autores (25) evaluaron la actividad antibacteriana de películas comestibles a base de proteína de soya adicionadas con aceites esenciales de orégano y tomillo en concentraciones de 1 a 5 % contra *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *L.*

plantarum en empanadas de carne molida de res. Los tratamientos evaluados presentaron inhibición completa para *E. coli*, *E. coli* O157:H7 y *S. aureus*, en tanto que *L. plantarum* y *P. aeruginosa* parecen ser bacterias más resistentes a la aplicación de la película comestible. La evaluación *in vitro* resultó en mejores inhibiciones comparado con los resultados *in vivo* durante el almacenamiento de 12 días a 4 °C; sin embargo, la aplicación de la película comestible sobre el producto cárnico dio lugar a reducciones en los recuentos de *Pseudomonas* spp. y coliformes durante el tiempo de almacenamiento. Los autores sugieren que este tipo de empaque comestible presentaría mejores resultados en embutidos fermentados que poseen un pH ácido y un alto contenido proteico, mejorando su potencial de acción.

Bacteriocinas: son sustancias peptídicas con actividad antimicrobiana, producidas por diferentes cepas bacterianas y cada una tiene espectros de inhibición particulares. Con el fin de que las bacteriocinas pueden ser utilizadas eficazmente en envases activos, tienen que ser aplicadas a la superficie de los materiales de embalaje de una manera que les permita ser eficaces contra el crecimiento de la población bacteriana y con una tecnología adecuada para el desarrollo industrial (50). Se considera que una metodología sencilla es encapsular las bacteriocinas en un revestimiento aplicado a la película del empaque.

Deben cumplirse tres requisitos para que la capa con recubrimiento de bacteriocinas pueda ser empleada en empaques activos: 1- el revestimiento debe tener una buena adherencia al sustrato de la película de plástico para evitar que se pierda, en todo o parte, durante la manipulación y el almacenamiento, 2- la arquitectura molecular de la capa de pintura ha de permitir la liberación de compuestos antibacterianos a una velocidad adecuada, 3- la actividad antibacteriana de las bacteriocinas debe ser preservada después de los tratamientos necesarios para la preparación y aplicación del revestimiento (26).

La nisina es por tanto la bacteriocina que tiene un historial más largo de uso seguro en alimentación y la que ha sido más estudiada. La nisina se considera un antimicrobiano más eficaz que el ácido láctico contra las bacterias Gram-positivas. Su mecanismo de acción consiste en la incorporación de sí mismo en la mem-

brana citoplasmática de las células diana, con acción potencializada en condiciones ácidas (24, 39). Estudios realizados por otros investigadores (40) demostraron que el revestimiento a base de polímeros es uno de los métodos más convenientes en términos de estabilidad y adherencia para bacteriocinas. Películas poliméricas tales como PVC, polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) y el nailon en combinación con recubrimientos de nisina, han sido reportados como eficaces en la inhibición de la *Salmonella typhimurium* para el empaque de pollo fresco (51). Películas de polietileno de baja densidad con recubrimiento de nisina demostraron eficacia para inhibir el crecimiento de la microbiota de leche cruda y sobre *Micrococcus luteus* ATCC 10240 durante el almacenamiento (50). Películas de polietileno (LDPE) y cloruro de polivinilo (PVC) recubiertas con laca antimicrobiana (preparación de nisina y natamicina) fueron evaluados presentando excelentes resultados en la disminución de los ciclos logarítmicos de bacterias diana, levaduras y mohos en la superficie de queso fresco (39).

Quitosano o quitosana: es un polímero natural que ha sido ampliamente utilizado como material de soporte y AM (52) capaz de inhibir el crecimiento microbiano al alterar las propiedades de barrera de la membrana externa de bacterias Gram-negativas (53).

El quitosano se obtiene por desacetilación de la quitina, que es el componente principal del exoesqueleto de los crustáceos. El quitosano se ha demostrado como no tóxico, biodegradable y biocompatible. Es insoluble en agua, pero soluble en varios disolventes ácidos como clorhídrico, fórmico y acético (54).

Se evaluó la actividad antibacteriana (55) contra *E. coli* de quitosano con diferentes pesos moleculares, obtenidos por despolimerización de ã-irradiación y otra serie obtenidos por desacetilado como quitosano N, O-carboximetilado y O-carboximetilado. Los resultados del estudio demuestran que la actividad antibacteriana del quitosano se ve influenciada por su peso molecular, el grado de desacetilación, la concentración en la solución y el pH del medio. La actividad antibacteriana aumentó en el orden de quitosano N, O-carboximetilado, quitosano y quitosano O-carboximetilado. Las pruebas de caracterización realizadas por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier permitió observar los oligómeros de quitosano en el interior de la célula

de *E. coli*, mediante un microscopio láser de barrido, por lo que se considera que la actividad antibacteriana de los oligómeros de quitosano parece ser causada principalmente por la inhibición de la reproducción del ADN.

Se ha establecido que los iones de Ag y los compuestos basados en Ag, tienen un potente efecto antimicrobiano (56, 57). La plata ha sido empleada para sustituir zeolitas y son incorporadas en polímeros como el polietileno, polipropileno y poliamidas en inclusión de 1 a 3 % en peso (42).

Por sus propiedades antimicrobianas eficaces y de baja toxicidad hacia las células de mamíferos, los nanoplata o nanopartículas de plata, se han convertido en uno de los nanomateriales más utilizados en los productos de consumo (104 de 502 nanoprodutos encuestados) (58).

Los iones libres de plata (Ag⁺) son altamente tóxicos para una amplia variedad de organismos, incluyendo bacterias. El efecto inhibitorio de Ag⁺ se cree que es debido a su absorción por la pared celular de las bacterias con carga negativa, la desactivación de enzimas celulares, la interrupción de la permeabilidad de la membrana y en última instancia conduce a la lisis celular y la muerte (59).

Los nanoplata son partículas del elemento Ag, es una nueva clase de material con características físico-químicas muy diferentes como el aumento de las propiedades ópticas, electromagnéticas y catalíticas (60, 61). Las nanopartículas con al menos una dimensión de 100 nm o menos, tienen propiedades físico-químicas, como una alta capacidad catalítica y la capacidad de generar reactiva especies de oxígeno (ROS) (62, 63). Nanopartículas de plata en forma de podría ser por lo tanto, más reactivo con sus propiedades catalíticas y de mayor toxicidad. Por otra parte, la toxicidad se presume que es dependiente de la forma y el tamaño de las nanopartículas (64), por ejemplo tamaños ≤ 10 nm (65, 66) puede pasar a través de las membranas celulares y la acumulación intracelular de nanopartículas puede provocar un mal funcionamiento celular.

Derivado de la transferencia en la tecnología desde las aplicaciones biomédicas a la ciencia del empaque, son pocos los trabajos con aplicación directa que se reportan en empaques de alimentos. También se evaluó (67) la copolimerización de nitrato de amonio cérico por in-

jerto de acrilamida en una base de celulosa de papel de filtro seguido por la encapsulación de nanopartículas de plata. Las nanopartículas de plata fueron encapsuladas mediante una solución de nitrato de plata en equilibrio seguida por la reducción del citrato. Las nanopartículas de plata cargadas en la matriz fueron investigadas por sus propiedades antimicrobianas contra *E. coli* con excelentes resultados. Los autores indican que este nuevo material muestra fuertes propiedades antibacterianas y por lo tanto ofrece su candidatura para su posible uso como antibacteriano en material de embalaje para alimentos.

Se evaluó la eficacia antimicrobiana de nano- y microcompositos de plata sobre poliamida 6, contra *E. coli*, en función del contenido de inclusión en el polímero (68). La poliamida 6 adicionada con 0,06 % peso de nanopartículas de plata fue capaz de eliminar completamente las bacterias, en tanto que los microcompositos adicionados a 1,9 % del peso a las 24 h solo fueron capaces de eliminar 80 % de las bacterias. Este resultado era esperado, ya que la fuerza motriz para la difusión de iones de plata desde el polímero a la superficie de la muestra se hace más grande con el aumento del depósito de plata.

REFERENCIAS

1. Vermeiren, L. F. y Devlieghere, M. van Beest; N de Kruijf y Debevere J. Trends Food Sci. Technol. 10 (3): 77-86, 2009.
2. Brody, A. L.; Bugusu, B.; Han, J.H.; Sand, C.K y McHugh, T.H. J. Food Sci. 73(8): 107-116, 2008.
3. Marsh, K. y Bugusu, B. J. Food Sci 72(3): 39-55, 2007.
4. Cooksey, K. Food Addit. Contam. 22(10): 980-987, 2005.
5. Appendini, P. y Hotchkiss, J. H. Innovative Food Science and Emerging Technologies 3(2): 113-126, 2002.
6. Poças, M.; Oliveira, J.C.; Pereira, J.R.; Brandsch, R. y Hogg, T. Food Control 22(2): 303-312, 2011.
7. Zygoura, D.; Paleologos, E.K. y Kontominas, M.G. Radiation Physics and Chemistry. 80(8): 902-910, 2011.
8. Gutiérrez, L.; Batlle, R.; Sánchez, C. y Nerín, C. Foodborne Pathog. Dis. 7(9): 1063-1069, 2010.
9. Dainellia, D.; Gontardb, N.; Spyropoulosc, D.; Zondervan-Van den Beukend, E. y Tobbacke, P. Science & Technology 19(1): 103-112, 2008.
10. Strathmann, S.; Pastorelli, S.; y Simoneau, C. Sensors and Actuators B 106 (1): 83-87, 2005.
11. López-Rubio, A.; Almenar, E.; Hernández-Muñoz, L.; Lagaron, J.M.; Catalá, R. y Gavara, R. Food Rev. Int. 20(4): 357-387, 2004.
12. Brody, A.L.; Bugusu, B.; Han, J.H.; Sand, C.K. y McHugh, T.H. J. Food Sci. 73(8): 107-116, 2008.
13. Vermeiren, L.; Devlieghere, F.; van Beest, M.; de Kruijf, N. y Debevere, J. Trends Food Sci. Technol. 10 (3): 77-86, 2009.
14. Ayala-Zavala, J.F.; del Toro-Sánchez, L.; Alvarez-Parrilla, E.; Soto-Valdez, H.; Martín-Belloso, O.; Ruiz-Cruz, S. y González-Aguilar, G. Postharvest Rev. 4(3): 1-9, 2008.
15. Dainellia, D.; Gontardb, N.; Spyropoulosc, D.; Zondervan-Van den Beukend, E. y Tobbacke, P. Trends Food Sci. Technol. 19(1): 103-112, 2008.
16. Lopez-Rubio, A.; Gavara, R. y Lagaron, J.M. Trends Food Sci. Technol. 17(10): 567-575, 2006.
17. López-de-Dicastillo, C.; Gallur, M.; Catalá, R.; Gavara, R.; Hernández-Muñoz, P. J. Membrane Sci. 353 (1-2): 184-191, 2010.
18. da Cruz, A.G.; Faria, J. y Van Dender, A. Food Res. Inter. 40(9): 951-956, 2007.
19. Strathmann, S.; Pastorelli, S. y Simoneau, C. Sensors and Actuators B. 106 (1): 83-87, 2005.
20. Pérez-Pérez, C.; Regalado-González, C.; Rodríguez-Rodríguez, C.; Barbosa-Rodríguez, J.F. y Villaseñor-Ortega, F. Advances in Agricultural and Food Biotechnology. R.G Guevara-González e I. Torres-Pacheco (Eds.), 2006, pp. 193-216.
21. Quintavalla, S. y Vicini, L.A. Meat Sci. 62(3): 373-380, 2002.
22. Jay, J.M. Microbiología Moderna de los Alimentos. Zaragoza, Editorial Acribia S.A., 4ta edición, Zaragoza, 2002, 451 p.
23. Oussalah, M.; Caillet, S.; Saucier, L. y Lacroix, M. Food Control 18(5): 414-420, 2007.
24. Cooksey, K. Food Addit. Contam. 22(10): 980-987, 2005.
25. Emirođlu, Z.K.; Polat, G.; Cođkun, B y Candođan, K. Meat Science 86(2): 283-288, 2010.
26. Iseppi, R.; Pilati, F.; Marini, M.; Toselli, M.; de Niederhäusern, S.; Guerrieri, E.; Messi, P.; Sabia, C.; Manicardi, G.; Anacarso, I. y Bondi, M. Intern. J. Food Microbiol. 123(3): 281-287, 2008.
27. Ho Lee, C.; Soon-An, D.; Cheol-Lee, S.; Jin Park, H. y Sun Lee, D. J. Food Eng. 62(4): 323-329, 2004.
28. Buonocore, G.; Del Nobile, M.A.; Panizza, A.; Corbo, M.R y Nicolais, L. J. Controlled Release 90(1): 97-107, 2003.
29. Santiago-Silva, P.; Soares, N.; Nóbrega, J.; Júnior, M.; Barbosa, K.; Volp, A.; Zerdas, E. y Würllitzer, N. J. Food Control 20 (1): 85-89, 2009.
30. Ye, M.; Neetoo, H. y Chen, H. Food Microbiol. 25(2): 260-268, 2008.

31. Ouattara, B.; Simard, R.E.; Piette, G.; Begin, A.; y Holley, R.A. *J Food Sci.* 65(5): 768-773, 2000.
32. Hanušová, K.; Dobiáš, J. y Klaudivová, K. *J. Food Sci.* 27: 347-349, 2009.
33. Dutta, P.K.; Dutta, J. y Tripath, V.S. *J. Sci. Ind. Res.* 63(1): 20-31, 2004.
34. Güçbilmez, Ç.M.; Yemencioflu, A. y Arslanoflu, A. *Food Res. Intern.* 40 (1): 80-91, 2007.
35. Rojas-Graü, M.; Avena-Bustillos, J.R.; Olsen, C.; Friedman, M.; Henika, P.R y Martin-Belloso, O. *J. Food Eng.* 81(3): 634-641, 2007.
36. Burt, S. *Intern. J. Food Microbiol.* 94(3): 223-253, 2004.
37. Burt, S.A. y Reinders, R.D. *Letters Applied Microbiol.* 36(3): 162-167, 2003.
38. Suppakul, P.; Miltz, J.; Sonneveld, K. y Bigger, S.W. Preliminary study of antimicrobial films containing the principal constituents of basil. *World Conference on Packaging: Proc. 13th Intl. Assoc. of Packaging Res. Inst., Michigan State Univ., East Lansing, Mich., June 23-28. Fla.: CRC Press LLC, 2002, pp. 834-839.*
39. Hanušová, K.; Dobiáš, J. y Klaudivová, K. *J. Food Sci.* 27: 347-349, 2009.
40. An, D.S.; Kim, Y.M.; Lee, S.B.; Paik, H.D. y Lee, D.S. *Food Sci. Biotechnol.* 9(1): 14-20, 2000.
41. Low, W.L.; Martin, C.; Hill, D.J. y Kenward, M.A. *Intern. J. Antimicrobial Agents* 37(2): 162-165, 2011.
42. Kumar, R. y Munstedt, H. *Biomaterials* 26(14): 2081-2090, 2005.
43. Chiasson, F.; Borsa, J.; Ouattara, B. y Lacroix, M. *J. Food Prot.* 67(6): 1157-1162, 2004.
44. Han, J.H. *Food Technol.* 54(3): 56-65, 2000.
45. Mascheroni, E.; Guillard, V.; Nalin, F.; Mora, L. y Piergiovanni, L. *J. Food Eng.* 98(3): 294-301, 2010.
46. Gutiérrez, L.; Escudero, A.; Batlle, R. y Nerín, C. *J. Agric Food Chem.* 57(18): 8564-8571, 2009
47. Dawson, P.L.; Carl, G.D.; Acton, J.C. y Han, I.Y. *Poult. Sci.* 81(5): 721-726, 2002.
48. Mecitoglu, Ç.; Yemencioflu, A.; Arslanoflu, A.; Elmaca, Z. S.; Korel, F. y Çetin, A. E. *Food Res. Intern.* 39(1): 12-21, 2006.
49. Min, S.; Harris, L. y Krochta, J. M. *J. Food Sci.* 70(7): 332-338, 2005.
50. Mauriello, G.; Ercolini, D.; La Stora, A.; Casaburi, A.; Villani, F. *J. Appl. Microbiol.* 97(2): 314-322, 2004.
51. Natrajan, N. y Sheldon, B.W. *J. Food Prot.* 63(9): 1189-1196, 2000.
52. Dutta, P.K.; Dutta, J. y Tripath, V.S. *J. Sci. Ind. Res.* 63(1): 20-31, 2004.
53. Helander, I.M.; Nurmiaho-Lassila, E.; Ahvenainen, R.; Rhoades, J. y Roller, S. *J. Food Microbiol.* 71(2-3): 235-244, 2001.
54. Majeti, N.V. y Kumar, R. *React. Funct. Pol.* 46(1): 1-27, 2000.
55. Liu, X.F.; Guan, Y.L.; Yang, D.Z.; Li, Z. y Yao, K.D. *J. Appl. Polym. Sci.* 79(7): 1324-1335, 2001.
56. Crabtree, J.H.; Burchette R.J.; Siddiqi, R.A.; Huen, I.T.; Handott, L.L y Fishman, A. *Perit. Dial. Int.* 23(4): 368-374, 2003.
57. Furno, F.; Morley, K.S.; Wong, B.; Sharp, B.L.; Arnold, P.L y Howdle, S.M. *J. Antimicrob. Chemother.* 54(6): 1019-1024, 2004.
58. Maynard, A.D.; Aitken, R.J.; Butz, T.; Colvin, V.; Donaldson, K.; Oberdorster, G.; Philbert, M.A.; Ryan, J.; Seaton, A.; Stone, V.; Tinkle, S.S.; Tran, L.; Walker, N.J. y Warheit, D.B. *Nature* 444 (7117): 267-269, 2006.
59. Sambhy, V.; MacBride, M.M. y Peterson, B.R. *J. Am. Chem. Soc.* 128(30): 9798-9808, 2006.
60. Wenseleers, W.; Stellacci, F.; Meyer-Friedrichsen, T.; Mangel, T.; Bauer, C.A.; Pond, S.J.K.; Marder, S.R. y Perry, J.W. *J. Phys. Chem. B* 106 (27): 6853-6863, 2002.
61. Kelly, K.L.; Coronado, E.; Zhao, L.L. y Schatz, G.C. *J. Phys. Chem. B* 107 (3): 668-677, 2003.
62. Limbach, L.K.; Wick, P.; Manser, P.; Grass, R.N.; Bruinink, A. y Stark, W.J. *Environ. Sci. Technol.* 41(11): 4158-4163, 2007.
63. Nel, A.; Xia, T.; Madler, L. y Li, N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311(5761): 622-627, 2006.
64. Pal, S.; Tak, Y.K. y Song, J.M. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(6): 1712-1720, 2007.
65. Kloepfer, J.A.; Mielke, R.E. y Nadeau, J.L. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(5): 2548-2557, 2005.
66. Morones, J.R.; Elechiguerra, J.L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J.B.; Ramirez, J.T. y Yacaman, M. *J. Nanotechnology* 16(2346): 2346-2353, 2005.
67. Tankhiwale, R. y Bajpai, S.K. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 69(2): 164-168, 2009.
68. Damm, C.; Munstedt, H. y Rosch, A. *Materials Chem. Phys.* 108(1): 61-66, 2008.