



PROYECTO INORCAP

**“Síntesis de microcápsulas multifuncionales de elevada resistencia mecánica y
térmica para diferentes aplicaciones”**

IMDECA/2016/66

Entregable E1

**SELECCIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS ANTIMICROBIANOS, REPELENTES DE
INSECTOS Y MATERIALES PARA LA OBTENCIÓN DE MICROCÁPSULAS DE ELEVADA
RESISTENCIA**

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Contenidos

1. OBJETIVOS	3
2. SELECCIÓN DE AROMAS ANTIMICROBIANOS Y AGENTES REPELENTES DE INSECTOS.....	3
3. SELECCIÓN DE MATERIALES DE RECUBRIMIENTO	21
4. CONCLUSIONES	31
5. REFERENCIAS	33

1. OBJETIVOS

- ✓ Selección de agentes antimicrobianos y repelentes de insectos.
- ✓ Selección de materiales de recubrimiento y técnicas de microencapsulación.

2. SELECCIÓN DE AROMAS ANTIMICROBIANOS Y AGENTES REPELENTES DE INSECTOS

En la industria del calzado, el control de la flora microbiana del pie permite un control y llegado el caso eliminación del característico y desagradable “olor de pies”. Debido a las características de uso del calzado, permanece en contacto con el pie gran parte del día, lo convierte en un soporte ideal para la aplicación de sustancias que permitan la lucha contra los microorganismos causantes de olor indeseable. Para resolver este problema, que no solo es una cuestión de confort sino llegado el caso puede convertirse en un problema de higiene y salud, son muchas los productos sintéticos que se han empleado, pero dados los indeseables efectos secundarios que pueden provocar, es necesaria la búsqueda de alternativas más saludables y a la vez medioambientalmente seguras, que permitan dotar al calzado de estas propiedades de forma segura y efectiva.

En ese sentido, los aceites esenciales poseen una larga historia basada en su utilización como agentes antimicrobianos. En las últimas décadas, los aceites esenciales y sus componentes principales han resurgido como agentes potenciales para controlar la proliferación de microorganismos debido a sus propiedades tanto antimicrobianas como repelentes (Barnard and Xue, 2004; Papachristos et al., 2004) y su baja toxicidad en mamíferos ha potenciado su utilización. Los aceites esenciales son conocidos por mostrar actividad antimicrobiana frente a un amplio rango de bacterias y hongos. Son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles producidos como metabolitos secundarios de las plantas. Generalmente, están formados por hidrocarburos (terpenos y sesquiterpenos) y compuestos oxigenados (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, lactonas, fenoles, y ésteres fenólicos) (Guenther, 1972). Son los responsables del aroma característico de las plantas. Se conocen más de 3000 aceites esenciales, y más del 10% de ellos poseen importancia comercial en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética. Su composición varía considerablemente según la planta aromática y variedad, y también en función de su procedencia de las diferentes áreas geográficas (Zygodlo and Juliani, 2003).

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe a su solubilidad en la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular (Knoblock et al., 1989). También se conoce que la actividad antibacteriana de los alcoholes monoterpénicos (linalol, nerol, citronelol y geraniol) es mayor que su capacidad antifúngica (Suppakul et al., 2003). Friedman et al. (2002) evaluaron los niveles de actividad bactericida de 96 aceites esenciales y 23 compuestos de los aceites frente a varios microorganismos *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella entérica* obtenida de alimentos y fuentes clínicas para su utilización en ensayos *in vitro*. Entre los aceites/compuestos analizados el geraniol fue el más efectivo frente a *E. coli*, *L. monocytogenes* y *S. entérica*.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

El aceite esencial de romero está formado por 22 compuestos siendo el 1,8-cineol y el alfa-pineno los mayoritarios (26.54% y 20.14%, respectivamente). Antes de que se inventase la refrigeración, el aceite de romero se empleaba en la conservación de alimentos, como antiséptico y astringente (Bousbia et al., 2009). Debido a su composición, el aceite esencial de romero presenta grandes efectos terapéuticos (Başer & Buchbauer, 2010; Katerinopoulos, Pagona, Afratis, Stratigakis, & Roditakis, 2005). Entre estos efectos, uno de los más reconocidos es su efecto antioxidante (Estévez, Ramírez, Ventanas, & Cava, 2007; Valgimigli, 2012), sus propiedades antimicrobianas (Issabeagloo, Kermanzadeh, Taghizadieh, & Forughi, 2012), así como su actividad aromaterapéutica y anticarcinogénica (Başer & Buchbauer, 2010).

Entre otros agentes naturales identificados, el timol (2-isopropil-5-metilfenol), un monoterpeno presente en ciertas familias de la especie *Lamiaceae* (tomillo), ha presentado buenos resultados en muchos estudios. El timol como los aceites esenciales ricos en timol han demostrado tener actividad en aplicaciones de medicina (Mendes et al., 2011), alimentación (Sacchetti et al., 2005), agricultura (Lazar-Baker, Hetherington, Ku, & Newman, 2010), veterinaria y control de plagas (Glenn et al., 2010). Este componente inhibe el crecimiento tanto de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, incluyendo las cepas potencialmente patogénicas de *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Además del timol, otros componentes presentes en los aceites esenciales han demostrado su capacidad antimicrobiana como son el carvacrol y sus isómeros, el citroneal, eugenol (Dorman & Deans, 2000). Además, la combinación de los compuestos antimicrobianos timol y carvacrol presentes en el aceite de tomillo han demostrado tener efectos sinérgicos, de forma que resultan más efectivos que el uso de estos compuestos puros de forma independiente (Burt, Vlieland, Haagsman, & Veldhuizen, 2005).

El eucalipto pertenece a la familia Myrtaceae que incluye alrededor de 900 especies y subespecies (Brooker & Kleinig, 2004). Las especies de eucalipto son plantas aromáticas medicinales que pertenecen a la familia Myrtle. Las propiedades antimicrobianas y antioxidantes de las especies de los aceites esenciales de eucalipto son ampliamente empleadas en productos farmacéuticos y cosméticos, así como saborizantes y conservantes en alimentación. Gran número de estudios han demostrado las propiedades antimicrobianas del aceite esencial de eucalipto frente a un amplio rango de microorganismos (Ait-Ouazzou et al., 2011; Santos et al., 2011). Estos estudios, están enfocados en ciertas especies de eucalipto, principalmente *Eucalyptus globulus*, que ha demostrado tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana (Pereira, Dias, Vasconcelos, Rosaa & Saavedra, 2014; Vázquez et al., 2008). Los aceites esenciales obtenidos de *E. globulus* contienen más de 20 compuestos activos, el que tiene una mayor presencia es el 1,8-Cineol (Batish et al., 2008; Boukhatem et al., 2014; Goldbeck et al., 2014; Maciel et al., 2010). Los aceites esenciales de eucalipto y sus componentes principales poseen toxicidad frente a un amplio rango de microbios incluyendo bacterias y hongos. Entre sus propiedades se ha observado que reducen el crecimiento micelar (Fiori et al., 2000), e inhiben la producción de esporas y la germinación (Fiori et al., 2000; Oluma and Garba, 2004). Ramezani et al. (2002a, b) demostraron que los componentes volátiles de eucalipto con aroma a limón, cuyo principal componente es el monoterpeno citronelal, posee un amplio espectro de actividad antifúngica e inhibe el crecimiento radial y el peso seco de seis hongos fitopatogénicos. Recientemente, Lee et al. (2007) demostraron que el aceite de eucalipto con aroma a limón (a 10 µl/l aire) reduce la aparición del moho de la manzana en hasta en un 70%. Cermelli et al. (2008). También evaluaron la actividad del aceite de *E. globulus* frente a 120 especies de *Streptococcus pyogenes*, 20 de *S. pneumoniae*, 40 de *Sagalactiae*, 20 de *Staphylococcus aureus*, 40 de *Haemophilus influenzae*, 30 de *H. parainfluenzae*, 10 de *Klebsiella*

Proyecto INORCAP

Entregable E1

pneumoniae, 10 de Stenotrophomonas maltophilia y una cepa de adenovirus, concluyendo que H. influenzae, H. parainfluenzae, Stenotrophomonas maltophilia y Streptococcus pneumoniae son muy susceptibles.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Tanto el clavo (*Syringa oblata*) como la canela (*Cinnamomum cassia*) son ricos en aceites esenciales con propiedades antimicrobianas frente a un amplio rango de microorganismos (Li, Ji, Zhou, & Li, 2006). En los botones florales del clavo pueden encontrarse hasta el 18% de los aceites esenciales. Aproximadamente, el 89% del aceite de clavo está formado por eugenol y entre el 5 y el 15% acetato de eugenol y β -cariofileno (Jirovetz L et al., 2006). Otro compuesto importante en el aceite esencial de clavo en concentraciones de hasta el 2.1% es el α -humuleno. Otros compuestos volátiles presentes en menores concentraciones son el β -pineno, limoneno, farnesol, benzaldehído, 2-heptanona y etil hexanoato.

Las propiedades antimicrobianas del clavo han sido probadas frente a múltiples cepas de bacterias y hongos. Sofía et al. estudiaron la actividad antimicrobiana de diferentes plantas de especias como la menta, canela, mostaza ajo y clavo (Sofía et al., 2007). Entre las plantas de este estudio, la única que mostró un efecto bactericida completo frente a todos los patógenos evaluados *E coli*, *S aureus* y *B cereus* fue el extracto acuoso de clavo al 3%. Cuando se emplean concentraciones menores, del 1% del extracto de clavo también se obtienen buenos resultados inhibitorios.

Por su parte la canela pertenece a la familia *Lauraceae* al género *Cinnamomum* que comprende alrededor de 250 especies. La canela es una hierba medicinal ampliamente distribuida en China, India y Australia (Jayaprakasha, Rao, & Sakariah, 2003). Tradicionalmente, se ha utilizado en alimentación, condimentos, cosmética e industrias médicas debido a sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes y anticarcinogénicas (Li, Kong, & Hong, 2013; Thomas & Kuruvilla, 2012; Todd, Friedman, Patel, Jaroni, & Ravishankar, 2013; Wang, Wang, & Yang, 2009; Yu, Lee, & Jang, 2007). La actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela se debe a su alto contenido en cinamaldehído seguido por eugenol y carvacrol (Tabak et al., 1999). El cinamaldehído y el eugenol son conocidos por su actividad antimicrobiana frente a un gran número de bacterias (Chang et al., 2001), sus propiedades antioxidantes (Gurdip et al., 2007) y sus propiedades inhibitorias frente a *Aspergillus flavus* (Montes-Belmont y Carvajal, 1998).

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias (CMC), de algunos de los aceites esenciales frente a microorganismos comunes presentes en el organismo humano, responsables de infecciones (Teles-Andrade et al., 2014).

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria (CMC) de 50% (MIC 50%) and 90% (MIC 90%) (mg/mL) de muestras de aceites esenciales frente a cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de especies clínicas humanas.

Essential oil	<i>S. aureus</i> (n=11)*, CIM _{50%} -CIM _{90%}	<i>E. coli</i> (n=11)*, CIM _{50%} -CIM _{90%}	<i>P. aeruginosa</i> (n=10)**, CIM _{50%} -CIM _{90%}
Bergamot (<i>Citrus aurantium bergamia</i>)	10.50-19.81 ^w	>26.13->26.13	>26.13->26.13
Black pepper (<i>Piper nigrum</i>)	0.21-0.21 ^a	>25.38->25.38	>25.38->25.38
Brazil's spearmint (<i>Mentha arvensis</i>)	1.90-2.26 ^l	5.52-5.52	>25.47->25.47
Cardamom (<i>Elettaria cardamomum</i>)	7.58-7.58 ^s	>26.07->26.07	>26.07->26.07
Cedar (<i>Cedrus atlantica</i>)	1.78-2.76 ^{nl}	22.27-26.73 ^k	>26.73->26.73
Cinnamon (<i>Cinnamomum cassia</i>)	1.00-1.14 ^{ok}	2.00-2.00 ^b	25.00-30.0 ^{ba}
Clary sage (<i>Salvia sclarea</i>)	0.29-0.29 ^{hf}	>25.71->25.71	>25.71->25.71
Clove (<i>Syzygium aromaticum</i>)	0.67-1.21 ^k	1.11-2.00 ^a	4.60-8.29 ^a
Copaiba (<i>Copaifera officinalis</i>)	24.07-26.52 ^z	>26.52->26.52	>26.52->26.52
Cypress (<i>Cupressus sempervirens</i>)	>25.2->25.2	>25.20->25.20	>25.20->25.20
Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>)	0.22-0.22 ^c	11.00-14.35 ^b	>26.49->26.49
Fennel (<i>Foeniculum vulgare</i>)	7.81-7.81 ^{us}	13.08-20.22 ^l	>27.57->27.57
Geranium (<i>Pelargonium graveolens</i>)	0.20-0.31 ^{bc}	3.90-4.24 ^{cc}	>25.40->25.40
Ginger (<i>Zingiber officinalis</i>)	3.23-4.93 ^{ap}	>25.5->25.5	>25.50->25.50
Lavender (<i>Lavandula officinalis officinalis</i>)	2.37-4.27 ^f	21.3-25.59 ^{ml}	>25.59->25.59
Lemongrass (<i>Cymbopogon schoenanthus</i>)	0.15-0.22 ^l	1.98-2.10 ^{bc}	>25.74->25.74
Marjoram (<i>Origanum majorana</i>)	4.21-4.21 ^p	4.21-4.21 ^{dc}	>25.23->25.23
Nutmeg (<i>Myristica fragrans</i>)	13.96-13.96 ^x	18.52-18.52 ^l	>26.67->26.67
Orange (<i>Citrus aurantium dulcis</i>)	12.50-16.5 ^x	>24.63->24.63	>24.63->24.63
Palmarosa (<i>Cymbopogon martinii</i>)	0.48-0.59 ^{ab}	1.90-2.09 ^{bc}	>26.22->26.22
Patchouli (<i>Pogostemon patchouli</i>)	0.25-0.25 ^f	>30.27->30.27	>30.27->30.27
Pine (<i>Pinus sylvestris</i>)	2.58-2.58 ^{pl}	>26.22->26.22	>26.22->26.22
Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	6.40-7.26 ^l	17.70-22.12 ^l	>26.55->26.55
Tahiti lime (<i>Citrus limonum</i>)	10.0-14.91 ^v	>25.2->25.2	>25.2->25.2
Tea tree (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	0.21-0.21 ^b	4.29-4.29 ^c	>25.74->25.74
Vetiver (<i>Vetiveria zizanioides</i>)	0.24-0.24 ^e	>29.31->29.31	>29.31->29.31
Ylang ylang (<i>Cananga odorata</i>)	0.23-0.23 ^d	>27.12->27.12	>27.12->27.12

Note:*ATCC and plus ten clinical isolated; **ATCC and plus nine clinical isolated. Values preceded by '>' were not considered in the statistical analysis because they did not show inhibitory capacity up to the maximum concentration tested in the trials. Different letters in columns represent statistical differences for antibacterial activities of essential oils (mg/mL) when $p \leq 0.001$.

Muchos de los aceites esenciales descritos anteriormente también presentan actividad como repelentes de insectos. Los repelentes de insectos tienen un papel importante en el control de vectores y en la prevención de transmisión de enfermedades infecciosas. Antes de la llegada de los compuestos químicos sintéticos, ya se utilizaban derivados de plantas para repeler o combatir el ataque de ciertos artrópodos, tales como los mosquitos (Curtis et al., 1990). El conocimiento local y las prácticas de la población indígena han demostrado la gran cantidad de información disponible asociada con las plantas nativas y sus usos potenciales. Incluso hoy en día, las especies de plantas repelentes se utilizan en aplicaciones tradicionales por ciertas comunidades locales del trópico debido a su seguridad. Por ello, la popularidad de los productos naturales de diversas plantas aumentó de los usos interior y exterior doméstico al consumidor local (Tisgratog R. et al., 2016).

Más de 2300 especies de plantas han sido identificadas como poseedoras de propiedades repelentes de insectos en todo el sudeste de Asia (de Boer et al., 2010; Maia and Moore, 2011; Vongsombath, 2011; Obico and Ragragio, 2014). Recientemente, más de 90 especies de plantas han sido evaluadas como repelentes potenciales o tóxicas frente a los invertebrados que se alimentan de sangre y moscas transmisoras de enfermedades (de Boer et al., 2010). En Filipinas, se ha evaluado una lista de 54 plantas que reúnen a 49 géneros y 26 familias de repelentes. De este grupo, la familia Fabaceae contiene gran número de especies con actividad repelente de insectos (Obico and Ragragio, 2014). En Malasia, 6 plantas que incluyen el clavo y la canela han sido probadas frente a las cucarachas (Ahmad et al., 1995). En Indonesia, numerosas plantas se utilizan en forma de aceite esencial. Alrededor de 40 clases de aceites esenciales se emplean en terapias medicinales. En la medicina tradicional, la citronela se emplea como repelente de insectos habitualmente (TRECIDA, 2011). En otros países del entorno asiático

Proyecto INORCAP

Entregable E1

también hay referencias del uso de plantas y sus extractos como repelentes (Yamamoto et al., 2011; Aliet al., 2010; Ko et al., 2009).

Los aceites esenciales y extractos basados en citronela se utilizan comúnmente como ingredientes de los repelentes de mosquitos basados en extractos de plantas. Los componentes que aportan la actividad repelente al aceite de citronela son citronelel, citronelol y geraniol (Duke, 2000). Hoy en día, la citronela es uno de los repelentes más empleados del mercado. Además de su uso como repelente de mosquitos (Cox, 2005), el aceite de citronela también funciona bien en el control de pulgas en perros y gatos y presenta propiedades antimicrobianas por lo que se emplea en el tratamiento de algunas infecciones.

Por su parte, el aceite de clavo ha demostrado ser tan efectivo como la citronela frente a los mosquitos (Trongtokit et al., 2005b). Los principales componentes del aceite de clavo con propiedades repelentes son eugenol, eugenol acetato, y beta-cariofileno caryophyllene (Leung and Foster, 1996; Kerdchoechuen et al., 2010).

El aceite de eucalipto puede actuar directamente como repelente de insectos natural y proporcionar protección frente a mosquitos y otros artrópodos indeseables. Este aceite ha sido empleado como repelente de mosquitos (Trigg, 1996a,b; Trigg and Hill, 1996; Chou et al., 1997; Thorsell et al., 1998). Trigg (1996 a, b) demostraron que los productos basados en eucalipto utilizados en humanos como repelentes de insectos pueden proteger de la picadura de insectos durante 8 h, en función de la concentración del aceite esencial. Además, la actividad repelente de insectos puede extenderse hasta 8 días si el aceite de eucalipto se aplica a la ropa (Mumcuoglu et al., 1996). Por último, Fradin y Day (2002), demostraron que un 30% de aceite de eucalipto puede prevenir de la picadura de los mosquitos durante 2h si la concentración de cineol en el aceite es del como mínimo del 70%. Lucia et al. (2007), demostró que el aceite esencial de *E. globulus* es tóxico para las larvas del mosquito *Aedes aegypti*, mostrando un LC50 de 32.4 ppm.

Algunos monoterpenos tales como alfa-pineno, cineol, eugenol, limoneno, terpinoleno, citroneol, citroneal, camfor y timol son constituyentes comunes de un gran número de aceites esenciales descritos en la literatura y que presentan actividad repelente de mosquitos (Ibrahim y Zaki, 1998, Jaenson et al. 2006, Park et al 2005, Yang et al. 2004). Otros autores (Tunón et al. 2006) han referenciado fuerte actividad repelente en compuestos oxigenados tales como β -citronelol, geraniol, y α -pineno.

Tras la búsqueda bibliográfica descrita anteriormente, por parte de INESCOP se seleccionaron los siguientes aceites esenciales y principios activos antimicrobianos y repelentes de insectos para ser encapsulados y empleados en la industria del calzado.

Principio activo
Eucalipto
Limoneno
Clavo
Canela
Citronela
Romero
Tomillo

Proyecto INORCAP

Entregable E1

En el caso de la industria agroalimentaria, que presenta unas necesidades específicas diferentes, en la presente tarea también se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica, con el fin de conocer el estado en el que se encuentran las investigaciones realizadas hasta el momento acerca de las alternativas de conservación, basadas en la aplicación de agentes naturales con capacidad antimicrobiana de aplicación en la industria alimentaria. Para ello desde **AINIA**, se han empleado bases de datos como SCIENCE DIRECT y el buscador SCOPUS especializados en publicaciones y revistas de referencia, científicas y técnicas a nivel mundial.

Han sido numerosas las referencias bibliográficas relacionadas con la efectividad antimicrobiana que poseen los compuestos naturales de origen vegetal, tanto su estudio a nivel in vitro como en su aplicación directa en matrices alimentarias.

Recientemente, la población mundial ha orientado su interés hacia ingredientes naturales como alternativas a los productos químicos artificiales para satisfacer sus necesidades en una amplia gama de aplicaciones tales como conservación de alimentos, nutraceuticos y medicina alternativa. De hecho, los aceites esenciales son compuestos bioactivos derivados de plantas que son bien conocidos por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Muchos aceites esenciales se han clasificado como generalmente reconocidos como seguros (GRAS) aditivos alimentarios para aplicaciones antibacterianas, y por lo tanto ha ido creciendo su popularidad en las últimas décadas

Un ejemplo es el ajo (*Allium sativum*), especie de la familia de las aliáceas, originaria de Asia central. Los bulbos de ajo contienen un sulfóxido conocido como aliína, que es el precursor del aroma característico y sabor de ajo cuando los bulbos son triturados. El ajo fresco y su aceite esencial (AEA) se aplican en la industria alimentaria, particularmente en la carne procesada y productos avícolas, como antimicrobianos naturales, aromatizantes y agentes antioxidantes (García-Díez et al., 2016, Leong et al, 2010). Las combinaciones del AEA con otros antimicrobianos naturales como la nicina mostraron una actividad antimicrobiana significativa contra el crecimiento de algunos patógenos transmitidos por los alimentos como *Listeria monocytogenes* (Rohani et al., 2011). Además, se han fabricado películas comestibles que contienen AEA y se ha evaluado su actividad antimicrobiana (Teixeira et al., 2014). Extensas investigaciones revelaron las actividades antibacterianas y antifúngicas de AEA contra una variedad de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (Whitemore et Naidu, 2000). La actividad antimicrobiana del ajo triturado fresco se origina a partir de su contenido en tiosulfonato de dialilo que es comúnmente conocido como alicina (Borlinghaus et al., 2014). Este compuesto es biosintetizado por la acción de la enzima aliinasa sobre el aminoácido no proteínico aliína cuando los dientes de ajo son triturados. Por otra parte, la actividad antimicrobiana de AEA se origina a partir de los diferentes derivados de sulfuro de dialilo que caracterizan la composición del AEA que se obtiene por destilación de vapor o agua (Casella et al., 2013). Estos derivados se forman como productos de transformación de alicina bajo el efecto del calor de destilación. El grado de actividad antimicrobiana de AEA frente a diferentes patógenos alimentarios depende de su composición química, especialmente los derivados de sulfuro de dialilo. Este factor importante está influenciado por el cultivar de ajo y el origen geográfico.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

En definitiva, el ajo es un ingrediente alimentario ampliamente utilizado en alimentación. Los extractos de ajo han resultado ser efectivos contra las enfermedades cardiovasculares, debido a sus efectos hipocolesterolémicos, antihipertensivos, antidiabéticos, antitrombóticos y antihiperhomocisteinémicos, además de otros efectos beneficiosos como su actividad antioxidante, anticarcinógena, antimutagénica, antiasmática, inmunomoduladora y prebiótica. No obstante, una de las dificultades más relevantes a la hora de su incorporación en formulaciones alimentarias es su fuerte aroma, que modifica o limita su posibilidad de incorporación en alimentos, modificando las propiedades organolépticas del producto final. En este caso concreto la funcionalidad que se pretende mantener es concretamente la de su efecto conservante, puesto que el objetivo de la adición de estos extractos es, fundamentalmente, ampliar la vida útil de los alimentos a los que se incorpora.

Además, extractos de orégano, tomillo, romero, clavo, salvia y menta son algunos de los aceites esenciales que se han utilizado para mejorar características sensoriales y prolongar la vida útil de los alimentos. Se han reportado una serie de aceites esenciales y algunos de sus componentes por su actividad antimicrobiana frente a una amplia gama de microorganismos alterantes y/o patógenos. Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales se atribuyen principalmente a sus compuestos fenólicos, como el carvacrol y el timol y los terpenos (Burt, 2004). Existen diferentes referencias bibliográficas de los efectos de los Aceites Esenciales o sus componentes (carvacrol, timol, eugenol, etc) en la vida útil de diferentes productos alimentarios como carne y derivados cárnicos (Skandamis y Nychas, 2001), vegetales (Skandamis y Nychas, 2000), pescado fresco y cefalópodos (Gitrakou et al., 2008; Kykkidou et al., 2009).

De hecho, el orégano es una planta aromática ampliamente extendida en países mediterráneos, que se utiliza como ingrediente alimentario debido a su sabor agradable. Además, las propiedades antioxidantes y antimicrobianas del aceite esencial de orégano hacen que ésta sea una alternativa natural como conservante en alimentos y una sustancia beneficiosa para la salud. Esas propiedades se relacionan principalmente con la presencia de compuestos tales como el carvacrol y el timol (Beirao da Costa et al, 2012).

También el timol y el carvacrol son los mayores constituyentes activos de los aceites esenciales de tomillo con un amplio espectro de propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Burt, 2004). De los aceites esenciales de plantas aromáticas, el aceite de tomillo ha ganado cada vez más interés en los grupos de investigación como potencial antimicrobiano natural y agente antioxidante. Estas propiedades se han estudiado "in vitro", utilizando diferentes modelos de alimentos (Burt, 2004), así como alimentos comerciales como marisco (Goulas y Kontominas, 2007), carne de vacuno (Skandamis et al., 2002), carne de cerdo, (Ismail y Pierson, 1990), etc.

Por otra parte, el limoneno es el mayor compuesto aromático en los aceites esenciales obtenidos de cítricos como las naranjas, pomelos y limones. Tiene una gran aplicabilidad como aditivo en distintos sectores como alimentación (productos de pastelería y bebidas de frutas) y dermocosmética (perfumes, cremas, jabones, etc). En este sentido, el uso del limoneno como sustancia aromatizante en alimentos está autorizado y regulado por el Reglamento Europeo Nº 872/2012, sin límites para su uso y concentración. La Food and Drug Administration de EE.UU. considera al limoneno como una sustancia generalmente reconocida como segura (GRAS, en sus siglas en inglés: Generally Recognized As Safe) cuando se utiliza como aditivo alimentario, aromatizante o como aditivo en fragancias. La capacidad del

Proyecto INORCAP

Entregable E1

limoneno como sustancia antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, nematocida, antiinflamatoria y anticarcinogénica (Giarratana et al., 2016).

El principal inconveniente que presenta el uso de estos compuestos es su fuerte percepción aromática. De ahí que se presente como alternativa para disminuir la percepción del aroma y del sabor de estos extractos la aplicación de procesos de microencapsulación. La encapsulación y microencapsulación de sustancias han cobrado interés en los últimos años en diferentes sectores por los beneficios que comporta para la sustancia a encapsular, denominada generalmente núcleo: disminución de la volatilidad, protección frente a altas temperaturas, frente a la oxidación o pHs agresivos; control de la liberación en el momento deseado, posibilidad de mezclar sustancias químicamente incompatibles, etc. Estas ventajas están siendo aprovechadas por parte de empresas de diversos sectores para la generación de nuevos productos más sofisticados y con mejores prestaciones de uso.

En la siguiente tabla se presentan ejemplos concretos de la aplicación de los diferentes aceites esenciales comentados en el sector agroalimentario.

Tabla 2. Agentes antimicrobianos de aplicación en alimentos.

Cita	Agente	Microorganismos	Aplicación
<i>Ko et al., 2012</i>	Extracto de Ajo	<i>Leuconostoc</i> y <i>Lactobacillus species</i>	Encapsulación de extracto de ajo, para disminuir el olor y sabor, y mantener la eficacia antimicrobiana, y aplicarlo en un alimento con pH ácido, con buenos resultados. Recubrimiento empleado: <i>Goma arábica</i> y <i>chitosan</i>
<i>Wang et al., 2011</i>	Aceite de ajo		Estudio de la liberación de aceite de ajo tras su inclusión mediante coprecipitación en ciclodextrinas
<i>Sabed et al., 2016</i>	Aceite de ajo	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Salmonella typhimurum</i> .	Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales procedentes de dos cultivos diferentes de ajo sobre diferentes especies de microorganismo patógenos y hongos.
<i>Horita et al., 2016.</i>	Extracto de ajo	Aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas, coliformes totales y termo tolerantes, bacterias psicotróficas. <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Clostridium</i> Sulfito Reductores.	Evaluación de la actividad antimicrobiana, y antioxidante de extracto de ajo y otros formatos de ajo comerciales incorporados en productos cárnicos y evaluación de las propiedades sensoriales del producto que lo incorpora así como su vida útil.
<i>Burt, S. (2004)</i>	Aceites esenciales	<i>L.monocytogenes</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E. Coli</i> 0157:H7, <i>Shigella</i>	Uso de aceites esenciales ricos en carvacrol, timol, eugenol, entre otros,

Proyecto INORCAP

Entregable E1

	ricos en carvacrol, timol, eugenol	<i>dysenteria, Bacillus cereus y Staphylococcus aureus</i>	como agentes antibacterianos para la reducción de la actividad antibacteriana en distintos alimentos como productos cárnicos, leche, frutas, vegetales.
<i>Tao et al, 2014</i>	Timol y aceite esencial de tomillo	<i>E. coli</i>	Preparación de complejos de inclusión con timol y aceite esencial de tomillo empleando diferentes métodos, caracterización de sus propiedades físico-químicas y determinación de la actividad antimicrobiana resultante sobre bacterias propias de alimentos en medio líquido y en productos alimentarios.
<i>Kykkidou et al. (2009):</i>	Aceite esencial de tomillo	<i>Pseudomonas</i> , Bacterias ácido lácticas, Entero bacterias, Bacterias sulfito reductoras	Evaluar los cambios en las propiedades físico químicas, microbiológicas y sensoriales en filetes de pez espada refrigerado al que bien se le ha añadido aceite esencial del tomillo, se le ha aplicado una atmósfera modificada o la combinación de ambos y su efecto sobre la vida útil del mismo.
<i>Frangos et al. (2010).</i>	Aceite esencial de orégano	Recuentos totales, Bacterias ácido lácticas, Entero bacterias, Bacterias sulfito reductoras	Evaluación del efecto de la sal, el aceite esencial de orégano y el envasado sobre la vida útil de filetes de trucha durante su almacenamiento a 4°C.
<i>Qiaobin Hu et al, 2016.</i>	Eugenol	Tres cepas de <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19115, Scott A y Presque-598) y tres cepas de <i>Salmonella Enteritidis</i> (SE-21, SE-28 y SE-90).	Desarrollo de nanoemulsiones de eugenol empleando lecitina y goma arábica como emulgentes de uso alimentario y evaluación de su actividad antimicrobiana. Evaluación de diferentes técnicas de secado, atomización y liofilización sobre la morfología y redispersibilidad del polvo obtenido a partir de las nano emulsiones
<i>Jiang et al. (2011)</i>	Aceite esencial de romero	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 49132, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>E. Coli</i> ATCC 8739, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404.	Análisis de la composición química y de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de romero para su uso posterior en aplicaciones alimentarias.
<i>Guarda et al. (2011)</i>	Timol y carvacrol	<i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>L. innocua</i> ATCC 33090, <i>E. Coli</i> O157:H7, <i>S. cerevisiae</i> CECT T73 y <i>Aspergillus Níger var. niger</i> Ep001.	Estudio de la capacidad antimicrobiana de microcápsulas de timol y carvacrol introducidas en un material polimérico para su uso en aplicaciones de envases alimentarios.
<i>Zahi et al. (2015)</i>	Limoneno	<i>E. Coli</i> gram-negativo ATCC 8739, <i>B. subtilis</i> gram-positivo ATCC 6633, <i>S.</i>	Desarrollo de un sistema de liberación con capacidad antimicrobiana basado

Proyecto INORCAP

Entregable E1

		<i>cereus</i> ATCC 6538 y <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763.	en el uso de limoneno para su aplicación posterior en aplicaciones alimentarias.
<i>Giarratana et al. (2016)</i>	Limoneno	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Pseudomonas frágil</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i> y <i>Shewanella baltica</i> .	Evaluación de la actividad antimicrobiana de limoneno para aumentar la vida útil de pescado (dorada) envasada al vacío.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

De esta revisión, AINIA ha seleccionado **los siguientes principios activos/extractos para su aplicación en alimentos** como compuestos con actividad antimicrobiana:

Principio activo
Ajo
Limoneno
Timol
Romero
Eugenol
Carvacrol

Por su parte **AIMPLAS**, con el objetivo de identificar para su posterior selección tanto los agentes antimicrobianos y repelentes como los materiales de recubrimiento para la microencapsulación, realizó en una primera instancia la búsqueda bibliográfica correspondiente, focalizada principalmente en estudios de carácter científico-técnico. Para ello se utilizó la base de datos Web of Knowledge de Thomson y las búsquedas ejecutadas en el sistema se resumen a continuación:

- 1) Información relacionada con propiedades antimicrobianas y/o repelentes de aceites naturales en general
(antimicrob* OR antifung* OR antibacterial* OR biocid*) AND "essential oil*"
"insect* repellent*" AND "essential oil*"
insecticide* AND "essential oil*"
(carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural AND (antimicrob* OR antifung* OR antibacterial* OR biocid*)
"insect* repellent*" AND (carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural
insecticide* AND (carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural
- 2) Información relacionada con propiedades antimicrobianas y/o repelentes de aceites naturales aplicados al sector de envase.
(antimicrob* OR antifung* OR antibacterial* OR biocid*) AND "essential oil*" AND pack*
"insect* repellent*" AND "essential oil*" AND pack*
insecticide* AND "essential oil*" AND pack*
(carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural AND (antimicrob* OR antifung* OR antibacterial* OR biocid*) AND pack*
"insect* repellent*" AND (carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural AND pack*
insecticide* AND (carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol) AND natural AND pack*
- 3) Información relacionada con la microencapsulación de aceites esenciales y repelentes de insectos
(microencap* OR microcap*) AND "essential oil*"
(microencap* OR microcap*) AND (carvacrol OR eugenol OR terpinenol OR timol)
(microencap* OR microcap*) AND "insect repellent*"

Esta búsqueda bibliográfica fue complementada con la información contenida en el Observatorio del Plástico, sistema de vigilancia tecnológica para la industria del plástico, desarrollado por AIMPLAS que contiene información de carácter técnico y comercial publicada en fuentes de noticias, portales sectoriales, legislación, normativa y propiedad industrial entre otras.

A través de estas búsquedas se han encontrado numerosas referencias relacionadas con el empleo de agentes antimicrobianos así como repelentes en el sector del plástico.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Dentro de las muchas aplicaciones del envase activo (Floros *et al.*, 1997) el empleo de agentes antimicrobianos es una de ellas. En términos generales, se considera un envase activo aquel que posee características que van más allá de las propiedades barreras básicas. En concreto, estas características se consiguen mediante la adición de ingredientes activos en los envases y/o empleando polímeros activamente funcionales (Han y Rooney, 2002). Si nos centramos en los envases con propiedades antimicrobianas, se trata de envases capaces de limitar o prevenir el crecimiento microbiano debido al aumento del periodo de latencia y reduciendo la tasa de crecimiento o disminuyendo el número de microorganismos (Han, 2000).

Algunos de los agentes antimicrobianos químicos más comúnmente empelados en la industria se resumen en la tabla 1, 2 y 3. La tabla 3 muestra una selección de diferentes agentes antimicrobianos de origen natural, mientras que en la tabla 4 se trata de antimicrobianos de origen no natural. Por otra parte, en tabla 5 se resumen algunos ejemplos de tipo polimérico.

Tabla 3. Algunos ejemplos de agentes antimicrobianos de origen natural de aplicación en envases alimentarios.

Antimicrobianos	Material del envase	Tipo de alimento	Microorganismo	Referencia
Extracto de semilla de pomelo	LDPE, nylon	Carne molida	<i>Aerobes, coli-forms</i>	Ha <i>et al.</i> , 2001
	LDPE	Lechua, soja	<i>E. coli, S. aureus</i>	Lee <i>et al.</i> , 1998
Extracto de clavo	LDPE	Medio de cultivo	<i>L. plantarum, E coli, F. oxysporum, S.cerevisiae</i>	Hong <i>et al.</i> , 2000
Extracto de hierba, Plata-Zirconio	LDPE	Lechuga,, pepino	<i>E. coli, S. aureus, L mesenteroides, S. cerevisiae, Asp. spp, Pen. spp.</i>	An <i>et al.</i> , 1998
	LDPE	Fresa	<i>Firmness</i>	Chung <i>et al.</i> , 1998
Eugenol, canela, aldehido	Chitosan	Jamón de Bolonia	<i>Enterobac., lactic acid bacteria, Lb. sakei Serratia spp.</i>	Outtara <i>et al.</i> , 2000b
Extracto de rábano picante	Papel	Carne molida	<i>E. coli 0157: H7</i>	Nadarajah <i>et al.</i> , 2002
Isotiocianato de alilo	PE film/pad	Pollo, carne,	<i>E. coli, S. enteritidis, L.</i>	Takeuchi and Yuan, 2002
		salmón ahumado	<i>monocytogenes</i>	

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Tabla 4. Algunos ejemplos de agentes antimicrobianos de origen no natural de aplicación en envases alimentarios.

Antimicrobianos	Material del envase	Tipo de alimento	Microorganismo	Referencia
Ácido benzoico	PE	Filetes de tilapia	<i>Bacterias totales</i>	Huang <i>et al.</i> , 1997
	Ionomer	Medio de cultivo	<i>Pen. spp.</i> , <i>Asp. nige</i>	Weng <i>et al.</i> , 1997
Parabenos	LDPE	Simulantes	<i>Test de migración</i>	Dobias <i>et al.</i> , 2000
	Recubrimiento de PE	Simulantes	<i>Test de migración</i>	Chung <i>et al.</i> , 2001a
	Estireno-acrilato	Medio de cultivo	<i>S. cerevisiae</i>	Chung <i>et al.</i> , 2001b
Ácido benzoico y ácido sórbico	PE-co-met-carilatos	Medio de cultivo	<i>Asp. niger</i> , <i>Pen. spp.</i>	Weng <i>et al.</i> , 1999
Sorbitos	LDPE	Medio de cultivo	<i>S. cerevisiae</i>	Han and Floros, 1997
	PE, BOPP, PET	Agua, queso	<i>Test de migración</i>	Han and Flores, 1998a; b
	LDPE	Queso	<i>Levadura, moho</i>	Devileghere <i>et al.</i> , 2000a
	MC/ácido palmítico	Agua	<i>Test de migración</i>	Rico-Pena and Torres, 1991
	MC/HPMC/ácidos grasos	Agua	<i>Test de migración</i>	Vojdana and Torres, 1990
	MC/quitosano	Medio de cultivo		Chen <i>et al.</i> , 1996
	Almidón/Glicerol WPI	Pechuga de pollo	Medio de cultivo	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Asp niger</i> , <i>Pen. roqueforti</i>
	CMC/papel	Queso		Ghosh <i>et al.</i> , 1973, 1977
Anhídrido sórbico	PE	Medio de cultivo	<i>S. cerevisiae</i> , <i>moulds</i>	Weng and Chen 1997; Weng and Hotchkiss, 1993
Sorbitos y propionatos	PE/alumino	Manzana	<i>Prueba de dureza</i>	Yakovlleva <i>et al.</i> , 1999
, ácido propionico	Quitosano	Agua	<i>Test de migración</i>	Ouattara <i>et al.</i> 2000a

Tabla 5. Algunos ejemplos de agentes antimicrobianos de tipo polimérico de aplicación en envases alimentarios.

Antimicrobianos	Material del envase	Tipo de alimento	Microorganismo	Referencia
Quitosano	Quitosano/papel	Fresa	<i>E. coli</i>	Yi <i>et al.</i> , 1998
Quitosano, extracto de hierba	LDPE	Medio de cultivo	<i>Lb. plantarum</i> , <i>E. coli</i> , <i>cerevisiae</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	Hong <i>et al.</i> , 2000
UV/láser de excímeros Nylon irradiado	Nylon	Medio de cultivo	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudo fluorescens</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Paik <i>et al.</i> , 1998; Paik and Kelly, 1995

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Proyecto INORCAP

Entregable E1

El uso de extractos naturales de plantas es una buena solución para el desarrollo de nuevos productos alimentarios, así como nuevos tipos de envases activos. Algunos extractos de plantas tales como semillas de pomelo, canela, rábano y clavo entre otros, se han incorporado a diferentes tipos de envases para demostrar su actividad antimicrobiana. Además, el empleo de los mismos en cuanto a temas regulatorios es mucho más sencillo, así como la preferencia por parte de los consumidores, comparados con agentes antimicrobianos químicos.

Los ácidos orgánicos tales como los ácidos benzoicos, los parabenos, los sorbatos, el ácido sórbico, el ácido propiónico, y mezcla de ellos son conocidos por su gran actividad antimicrobiana, e incluso han sido empleados como conservantes de alimentos.

Algunos polímeros sintéticos o naturales también poseen actividad antimicrobiana. A modo de ejemplo, la irradiación con láser de excímeros puede excitar la estructura del nylon y crear actividad antimicrobiana. Entre los polímeros naturales, existe el quitosano (derivado de quitina) el cual presenta actividad antimicrobiana. Estudios han mostrado que el tamaño del quitosano influye en sus propiedades antimicrobianas, de este modo, quitosanos de tamaño corto o mediano poseen una buena actividad antimicrobiana, mientras que los de tamaño grande no son efectivos. Recientemente, el quitosano ha sido aprobado como un ingrediente alimentario de la FDA.

A parte de estos existen otros muchos tipos tales como los benomilos (dentro del grupo de los carbamatos) o imidazil (Halek and Garg, 1989, Miller *et al.*, 1984, Weng and Hotchkiss, 1992) los cuales son conocidos por su capacidad antifúngica. Por otra parte, el empleo de disolventes comunes tales como el etanol (Shapero *et al.*, 1978, Smith *et al.*, 1987), han sido descritos por su gran actividad antibacteriana y antifúngica, aunque también se ha visto que no son adecuados para la prevención del crecimiento de la levadura. El mayor inconveniente de este tipo de sistema es que dan sabor y provocan un olor indeseable en los alimentos que están en contacto con los envases, siendo una solución no deseada.

Dado que la mayoría de los agentes antimicrobianos tienen diferentes mecanismos antimicrobianos, la mezcla de agentes antimicrobianos puede aumentar su actividad a través de mecanismos sinérgicos, siempre y cuando no presenten ningún mecanismo de interferencia. Por lo tanto, el estudio de optimización de la combinación de varios antimicrobianos ampliará la actividad antimicrobiana de la mezcla y maximizará la eficacia y la seguridad del sistema de envasado antimicrobiano, tal y como se muestra en varios ejemplos descritos en las tablas 1, 2 y 3.

En base a la búsqueda previamente realizada, AIMPLAS decidió realizar una preselección centrada principalmente en el uso de agentes antimicrobianos de origen natural tales como los resumidos en la tabla 6:

Tabla 6. Principios activos con propiedades antimicrobianas seleccionados por AIMPLAS.

Principio activo
Pomelo
Tomillo
Clavo
Canela
Romero
Rábano

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Por otra parte, si nos centramos en la aplicación de repelencia a los insectos, hay que destacar que muchos de los principios activos anteriormente mencionados cumplen ambas funciones: antimicrobiana y repelencia.

El aumento de transporte de mercancías y viajes ha hecho que sea cada vez más difícil el control de los riesgos de bioseguridad. En el caso de los alimentos o envases de alimentos el problema de los insectos hace que se deteriore o incluso desaparezcan los productos envasados. Este problema se ve acentuado en el caso de envasado de productos frescos, porque no es el transporte o medio ambiente, sino el propio producto el que puede llevar el insecto en su interior. Para evitar este tipo de problemas generalmente se ha recurrido a la fumigación mediante el empleo de bromuro de metilo. Sin embargo, actualmente existe un gran interés de eliminar este producto químico como fumigante debido a que es uno de los causantes del deterioro de la capa de ozono (Williams *et al*, 2000). Otra desventaja de usar fumigantes e insecticidas es que generalmente provocan la muerte del insecto, el cual permanece dentro del envase, reduciendo así su atractivo general. Por lo tanto, existe un gran interés en el empleo de repelentes en los envases alimentarios con el objetivo de reducir la presencia de insectos y cumplir con los requisitos de los fumigantes químicos. Existen muchos estudios sobre la liberación controlada de repelente de insectos (Calton *et al*, 2001, Domb, 1993, Tucci *et al*, 2000) así como la incorporación de insecticidas en los materiales de envase (Highland *et al*, 1973, 1984, 1986, Lambridge, 1970). Dentro de los estudios realizados con repelentes de insectos, AIMPLAS se ha centrado en aquellos que emplean extractos de origen natural (Licciardello *et al.*, 2013, Wong *et al*, 2005, Lakkis, 2007). En la tabla 7 se resumen los seleccionados por AIMPLAS dentro del sector de plásticos en contacto con alimentos.

Tabla 7. Principios activos con propiedades como repelentes a los insectos seleccionados por AIMPLAS.

Principio activo
Citronela
Aceite de nim
Aceite de cúrcuma
Extracto de piretro
Extracto de ajo
Aceite de pino
Aceite de tomillo
Aceite de romero

Hay que tener en cuenta que dentro del sector del plástico en contacto con alimentos un factor indispensable se centra en el la garantía de seguridad, por ello debe de cumplir los requisitos enmarcados dentro del Reglamento 10/2011 en el caso de Europa o FDA para Estados Unidos, Además del Reglamento (UE) 528/2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas. El propósito de este reglamento sobre biocidas es la mejora del funcionamiento del mercado único garantizando al mismo tiempo un alto nivel de protección de la salud humana, la sanidad animal y el medio ambiente. A modo resumen este reglamento establece normas para:

- La aprobación de sustancias activas en los biocidas
- Por la que se autoriza la venta y el uso de biocidas
- Venta de artículos tratados con biocidas.

http://ec.europa.eu/health/biocides/regulation/index_en.htm

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Por tanto, en base a este reglamento hay que tener en cuenta que:

- 1.- Sólo se pueden introducir en el mercado sustancias activas aprobadas y que hayan sido autorizadas.
- 2.- Es necesario etiquetar el producto detallando que contiene agentes antimicrobianos y que estas sustancias han sido aprobadas y son seguras para la salud humana, animal y medioambiente. Para ello la etiqueta deberá disponer de la siguiente información:
 - a. Detallar que contiene biocidas.
 - b. Propiedad biocida que se le atribuye.
 - c. Nombre de las sustancias activas presentes.
 - d. Nombre de los nanomateriales presentes (incluir “nano” entre comillas).
 - e. Instrucciones de uso relevantes.

La Comisión Europea incluye las sustancias activas aprobadas en la lista de la Unión de sustancias activas autorizadas (anteriormente Anexo I de la Directiva 98/8/CE). Por tanto, las empresas que desean obtener la autorización de un producto biocida pueden acceder a esta lista para consultar e identificar las sustancias activas que pueden utilizar en los productos biocidas y los artículos tratados.

<https://echa.europa.eu/regulations/biocidal-products-regulation/approval-of-active-substances/list-of-approved-active-substances>

Hay que tener en cuenta que recientemente se ha realizado una DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2016/1950 DE LA COMISIÓN relativa a la no aprobación de determinadas sustancias activas biocidas de conformidad con el Reglamento (UE) 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo, en el que se detallan específicamente las sustancias no incluidas y el tipo de producto para el que no está contemplado su uso. En el caso de AIMPLAS, que abarca el trabajo de plásticos en contacto con alimentos, hay que tener en cuenta el grupo de sustancias de tipo 9, cuya definición viene dada en el Anexo V del REGLAMENTO (UE) No 528/2012:

Tipo de producto 9: Protectores de fibras, cuero, caucho y materiales polimerizados

Productos empleados para la conservación de materiales fibrosos o polimerizados, como cuero, caucho o papel, o productos textiles mediante el control del deterioro microbiano. Este tipo de producto incluye los biocidas que impiden el depósito de microorganismos en la superficie de los materiales y, por consiguiente, inhiben o impiden la aparición de malos olores o presentan ventajas de otro tipo.

Por tanto, debido a la aplicación final el empleo de agentes antimicrobianos vendrá condicionado por el cumplimiento con la legislación vigente. A modo de ejemplo, la permetrina en este campo no puede ser de aplicación, ya que está incluida dentro de este listado de sustancias no permitidas (tabla 8).

Tabla 8. Ejemplo de sustancia recogida en la DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2016/1950 DE LA COMISIÓN relativa a la no aprobación de determinadas sustancias activas biocidas de conformidad con el Reglamento (UE) 528/2012.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Código	Nombre de principio activo (véase la entrada 948)	Clase	Código de registro	Código de producto	Artículos
615	(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de 3-fenoxibencilo (permetrina)	IE	258-067-9	52645-53-1	10, 11 y 12

Dentro de la selección realizada previamente por AIMPLAS, hay que comentar que ninguna de las sustancias previamente seleccionadas dispone de no autorización por parte de Europa.

A modo de resumen se muestran los agentes antimicrobianos y repelentes pre-seleccionados, como se muestra en la tabla 9 algunos de ellos muestran propiedades válidas para ambas aplicaciones.

Tabla 9. Principios activos seleccionados por AIMPLAS.

Principio activo	Propiedad antimicrobianos	Propiedad repelentes	AIMPLAS
Citronela	✓	✓	✓
Tomillo	✓		✓
Clavo	✓	✓	✓
Canela	✓	✓	✓
Aceite de nim		✓	✓
Romero	✓		✓
Cúrcuma	✓		✓
Extracto de piretro	✓		✓
Extracto de ajo	✓		✓
Aceite de pino	✓		✓
Rábano		✓	✓
Pomelo		✓	✓

3. SELECCIÓN DE MATERIALES DE RECUBRIMIENTO

Actualmente son muchas las técnicas de microencapsulación disponibles y la elección de la técnica más adecuada para cada aplicación debe conjugar diferentes parámetros, desde la aplicación final y el método de liberación de la sustancia activa el tamaño, etc...

Entre los materiales de cubierta más habituales para realizar la microencapsulación de sustancias activas existe gran diversidad que incluye desde materiales de origen natural, tales como polisacáridos y lípidos, polímeros sintéticos de diferente naturaleza así como sustancias inorgánicas. Uno de los inconvenientes que surgen al emplear materiales de tipo polimérico es su baja resistencia tanto mecánica como térmica, lo que supone un inconveniente cuando se pretende incorporar las microcápsulas obtenidas en procesos industriales para la fabricación de materiales o productos funcionalizados. En muchos de estos casos las microcápsulas obtenidas no son capaces de resistir las condiciones a las que se ven sometidos durante los procesos de fabricación, lo que conlleva a su ruptura y por tanto a una liberación prematura del principio activo (Sánchez-Navarro et al, 2015).

Proyecto INORCAP

Entregable E1

En ese sentido la utilización de materiales de naturaleza inorgánica resulta de gran interés dada su elevada resistencia tanto térmica como mecánica por las propiedades intrínsecas de estos materiales.

Entre los materiales inorgánicos con mejores propiedades térmicas y mecánicas se encuentran las sílices, silicatos y los carbonatos. Estos materiales además de sus buenas propiedades resultan biocompatibles y no tóxicos lo que resulta especialmente interesante para su uso en cosmética y alimentación, entre otros sectores.

Las partículas de sílice son las más representativas de las sustancias inorgánicas. Su baja o nula reactividad química, su robustez mecánica y térmica, biocompatibilidad y la facilidad con la que pueden funcionalizarse convierte a las microcápsulas basadas en sílice muy atractivas para un amplio rango de aplicaciones (Bean et al., 2012). El método más utilizado para la síntesis de las microcápsulas con cubierta de sílice es el método sol-gel.

Desde un punto de vista puramente físico, los métodos sol-gel son particularmente útiles ya que permiten la fabricación directa de materiales multicomponentes con diferentes configuraciones o morfologías (monolitos, recubrimientos, espumas y fibras) sin pasar por intermedios en polvo (Rosenholm et al., 2010; Yang et al., 2012; Hughes et al., 1988) y sin el empleo de tecnologías de elevado coste como ciertos métodos de vacío. Desde la aparición del método sol-gel han utilizado típicamente el tetraetilortosilicato (TEOS) como principal agente para la formación de la estructura. La razón principal para que se utilice ampliamente TEOS es que permite la formación de una estructura robusta de reactividad moderada con elevado grado de control mediante simples variaciones durante la síntesis de parámetros como pH, temperatura o mediante ciertos aditivos (Yanget al., 2012; Brinker et al., 1990).

Por su parte la tecnología de microencapsulación mediante la tecnología sol-gel y sus potencialmente amplias aplicaciones, son bien conocidas (Ciriminna et al., 2011). Lo más importante en este caso, es la posibilidad de emplear sílice para la encapsulación y liberación controlada tanto de sustancias hidrofílicas como hidrofóbicas, lo que asegura una importante protección tanto química como física de los principios activos encapsulados. Por ello, los materiales bioactivos obtenidos mediante la tecnología sol-gel tienen un gran valor.

Aunque tal y como se ha visto el compuesto más empleado en la técnica sol gel es el ortosilicato TEOS, la síntesis de partículas de óxido de zinc también resulta muy interesante debido a las propiedades antimicrobianas que se conocen de esta sustancia. El ZnO es una sustancia que está llamando mucho la atención en los últimos tiempo para el control de contaminaciones bacterianas tanto en disoluciones acuosas (Frankling et al., 2007; Jones et al., 2008) así como en ciertos materiales sólidos de tipo cerámico (Hewitt et al., 2010; Yamamoto et al., 2001) e incluso en el sector de los envases para alimentos (Pérez-Espitia et al., 2012). Las propiedades antimicrobianas del ZnO resultan muy atractivas para su uso como conservante antimicrobiano tanto de formulaciones cosméticas como farmacéuticas (Pasquet et al., 2014a, Pasquet et al., 2015), y al tratarse de un óxido inorgánico la resistencia mecánica y a la temperatura son parte de sus propiedades intrínsecas, por lo que los hace muy interesantes para su empleo en los materiales de la industria del calzado. Dado lo anterior se considera que el empleo de ZnO como material de cubierta de ciertas sustancias antimicrobianas puede dar como resultado un efecto sinérgico que potencie la acción antimicrobiana de ambos componentes. El ZnO ya se ha utilizado en la microencapsulación de otros agentes y para otras aplicaciones como son materiales de cambio de

Proyecto INORCAP

Entregable E1

fase (PCMs) para almacenamiento de energía y regulación térmica (Li et al., 2015) y combinado con SiO₂ para la encapsulación de biomoléculas (Kumar et al., 2013).

Por su parte el carbonato de calcio es un compuesto inorgánico muy importante como biomaterial cuyo comportamiento está determinado por sus propiedades intrínsecas: morfología, estructura, tamaño, área superficial y pureza química. Es considerado un vehículo ideal para la liberación de fármacos debido a su excelente biocompatibilidad (Vergaro et al. 2011) biocompatible y biodegradable. La preparación de carbonato de calcio poroso para aplicaciones biomédicas es un tema reciente para la ciencia de materiales (Petrov et al, 2005; Volodkin et al. 2004; Sukhorukov et al. 2004). Además de sus propiedades como biomaterial, el carbonato cálcico también presenta excelentes propiedades mecánicas y una adecuada conductividad térmica, tiene una naturaleza más compacta que otros materiales inorgánicos, lo que le hace interesante para su utilización como material de cubierta de materiales de cambio de fase (PCMs) para prolongar su durabilidad (Yu et al., 2014).

Otro de los materiales de cubierta más empleados son las resinas fenólicas más concretamente las resinas de melamina-formaldehído. La resina de melamina-formaldehído es uno de los materiales de cubierta preferidos para la fabricación de microcápsulas debido a sus altas prestaciones como elevada dureza y robustez mecánica, excelente resistencia térmica, resistencia al agua, resistencia a la intemperie, etc. (Fei et al., 2015). En estudios previos (Su et al., 2006), emplearon una resina de melamina-formaldehído para obtener microcápsulas con estructura compacta. A través del control de las condiciones de síntesis, se pueden obtener microcápsulas con capacidad suficiente para resistir presiones con alta elasticidad (Su et al., 2005). Sánchez-Navarro et al. utilizaron este material de cubierta para microencapsular aromas para su incorporación a materiales de calzado, demostrando su viabilidad (Sánchez-Navarro et al. , 2005). Existen gran número de referencias en las que se emplea el procedimiento de polimerización *in situ* para la síntesis de microcápsulas (Sun y Zhang, 2001; Dietrich et al., 1989; Dietrich et al., 1990; Luo et al., 2007; Lee et al., 2002). A través de esta técnica de microencapsulación, las partículas de MF se adsorben y curan sobre la superficie de las partículas que forman el núcleo con la ayuda de un surfactante polimérico.

En lo referente al **sector agroalimentario**, la encapsulación de componentes aromáticos implica la protección de los mismos frente al medio externo. El tamaño de la microcápsula formada puede variar desde unos cuantos milímetros a menos de una micra. La cápsula más simple consiste en una molécula huésped rodeada de una cubierta. El material encapsulado puede estar formado por un sólo compuesto o por una mezcla de varios compuestos. Los métodos de encapsulación son limitados, sin embargo existe una extensa variedad de materiales que pueden ser utilizados como agentes encapsulantes. Entre ellos destacan proteínas, carbohidratos, lípidos y gomas entre otros. Todos ellos presentan ventajas e inconvenientes y su elección depende del objetivo del producto, del proceso de encapsulación utilizado y de aspectos legales relacionados con la aprobación del agente encapsulante por la European Food Safety Authority, en la Unión Europea, o la Food and Drug Administration, en EE.UU. (Hernández, 2011).

La selección del recubrimiento para un núcleo concreto debe efectuarse en función de aspectos tales como la compatibilidad entre núcleo y recubrimiento, el mecanismo de liberación, la solubilidad en el medio externo, etc. Cada tipología de recubrimientos puede utilizarse en procesos y/o con núcleos diferentes. Por este motivo, no es posible identificar un proceso universalmente utilizado para todo tipo de núcleos y recubrimientos. Como consecuencia, para cada producto y aplicación concreta es preciso

Proyecto INORCAP

Entregable E1

estudiar las alternativas tecnológicas de proceso y recubrimiento más apropiadas para alcanzar las especificaciones técnicas objetivo en el producto final.

Los hidratos de carbono como agentes encapsulantes son ampliamente usados en la encapsulación mediante secado por atomización. La capacidad de los hidratos de carbono, como almidones, maltodextrinas, ciclodextrinas, siropes de maíz y gomas para encapsular aromas, unido al bajo coste y la variedad de los mismos, hacen de ellos una elección adecuada para su encapsulación. Además, estos materiales presentan baja viscosidad en un medio con alto contenido en sólidos y alta solubilidad como condición muy deseable en un agente encapsulante. (Hernández, 2011).

Las proteínas son macromoléculas con estructuras químicas muy diversas, propiedades anfipáticas y con habilidad para asociarse entre ellas e interactuar con una gran variedad de sustancias. Estas características hacen que tengan excelentes propiedades funcionales como solubilidad, viscosidad, propiedades emulsificantes y propiedades para formar films, lo que da gran aplicabilidad en encapsulación. Durante la formación de una emulsión, las proteínas son rápidamente ordenadas en la interfase aceite-agua. Esta nueva capa formada protege las gotas de aceite de la recoalescencia y a partir de ahí provee de estabilidad física a la emulsión durante el procesado y almacenamiento (Hernández, 2011).

Los lípidos como ceras, parafinas, aceites o grasas. Se utilizan sobre todo para la formación de liposomas. Algunos de los más efectivos son los aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soja, que son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme (Alonso, 2011).

Cuando hablamos de encapsulación con compuestos lipídicos generalmente interviene la tecnología de spray chilling o enfriamiento por atomización que está despertando cada vez más interés. Se ha empleado por ejemplo para encapsular ácido ascórbico con dispersiones en aceite de palma completamente hidrogenado y monoestearato de glicerol vegetal como vehículos (Matos-Jr et al, 2015), dispersiones con mezclas de ácidos láurico y oleico como carriers (Sartori et al, 2015), y dispersiones con mezclas de ácido esteárico y grasa vegetal hidrogenada como carrier (Alvim et al, 2016). En todos estos trabajos se prepararon micropartículas de lípidos sólidas utilizando dispersiones eficaces para proteger el ácido ascórbico. Sin embargo, no existen referencias que describan la eficacia de la preparación de emulsiones con micropartículas sólidas que incorporan ácido ascórbico. En este último caso, se piensa que la preparación de emulsiones debe mantener todo el contenido de ácido ascórbico dentro de la matriz lipídica sólida ya que así el ácido ascórbico queda rodeado por el tensoactivo, a diferencia de cuando se generan dispersiones donde el ácido ascórbico se dispersa por todo el volumen de las partículas, incluyendo su superficie. De hecho, en un trabajo previo del grupo (Salvim et al, 2015), la preparación bien de emulsiones bien de dispersiones tuvo una gran influencia sobre las características de las micropartículas de lípidos sólidos cargados de hidrolizado de proteína de soja.

En el caso de micropartículas inorgánicas, sales de calcio como el fosfato o el carbonato de calcio son materiales bien conocidos que tienen alta biocompatibilidad y biodisponibilidad cada vez más investigadas en el desarrollo de nuevos materiales en medicina y farmacia. Las micropartículas y nanopartículas de estos materiales se utilizan activamente en bioencapsulación, ingeniería de tejidos y en sistemas de administración de fármacos. El silicato de calcio es también un potente material para

Proyecto INORCAP

Entregable E1

aplicaciones biológicas y biomédicas por su alta biocompatibilidad. Recientemente algunas aplicaciones de derivados de silicato de calcio, fosfatos de calcio y carbonato se emplean para la administración de fármacos. *Fujiwara et al. (2012)*.

Por otra parte, las sepiolitas son silicatos aciculares, que son materiales con dos dimensiones en la escala nanométrica. La sepiolita es un silicato magnésico cuyas partículas individuales tienen un diámetro alrededor de 20-30 nm y su longitud media es de 1-2 μm . Las partículas aciculares de sepiolita aparecen en la naturaleza formando grandes agregados o haces de partículas aciculares. Por este motivo, es necesario que la sepiolita sea sometida a una serie de tratamientos para separar o individualizar estas partículas y obtener así un nanomaterial adecuado.

La aplicación de compuestos inorgánicos como material de recubrimiento en el sector agroalimentario es aún un campo por explotar.

En la siguiente tabla (Tabla 10) se presentan ejemplos concretos de la aplicación de diferentes recubrimientos de uso en alimentación que pueden dar solución a la microencapsulación de compuestos aromáticos o aceites vegetales con capacidad antimicrobiana.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Tabla 10. Materiales de recubrimiento de aplicación en alimentos

Cita	Núcleo	Material de recubrimiento	Aplicación
<i>De Barros Fernandes et al. (2014)</i>	Aceite esencial de romero	Maltodextrina y almidón modificado	Evaluación de la influencia de la carga de aceite y las proporciones del material de recubrimiento sobre las propiedades del aceite esencial de romero microencapsulado mediante secado por atomización, utilizando maltodextrina y almidón modificado como carriers.
<i>Navarro et al. (2014)</i>	aceite esencial de naranja	Goma arábica, octenil succinato sódico de almidón de maíz, maltodextrinas, jarabe de glucosa, almidón pregelatinizado de tapioca y gelatina	Estudio de los efectos del uso de diferentes combinaciones de soportes para microencapsular mediante secado por atomización, aceite esencial de naranja por su potencial contribución a la mejora de la estabilidad y retención de bases aromáticas alimentarias.
<i>Alvarenga Botrel et al. (2012)</i>	Aceite esencial de orégano	Maltodextrina, goma Arábica y almidón modificado	Estudio de las condiciones óptimas del proceso de microencapsulación mediante spray-drying del aceite esencial de orégano utilizando una mezcla de materiales de recubrimiento.
<i>Fang et al. (2013)</i>	Limoneno	β -ciclodextrina	Estudio del efecto de la encapsulación del limoneno en las propiedades de adsorción de humedad de la β -ciclodextrina.
<i>Ordoñez et al. (2014)</i>	Limoneno	Almidón de yuca, goma Arábica y proteína de suero láctico	Estudio de distintas mezclas de agente de recubrimientos para la encapsulación de limoneno mediante spray-drying.
<i>Jun-xia et al. (2011)</i>	Aceite de naranja dulce	Proteína de soja, goma Arábica	Encapsulación del aceite de naranja dulce en proteína de soja/goma Arábica mediante el método de coacervación compleja.
<i>Beirao da Costa et al. (2012)</i>	Aceite esencial de orégano	Gelatina/sacarosa, almidón de arroz e inulina	Estudio del efecto de la matriz encapsulante en la retención, protección y liberación del aceite esencial de orégano encapsulado mediante spray-drying y spray-

Proyecto INORCAP

Entregable E1

			chilling (en el caso de la mezcla gelatina/sacarosa).
<i>Tao et al. (2014)</i>	Timol y aceite esencial de timol	β -ciclodextrina	Encapsulación de timol y aceite esencial de timol en β -ciclodextrina mediante inclusión compleja y estudio de la capacidad antimicrobiana del encapsulado.
<i>Sillick y Gregson (2012)</i>	Limoneno, nicotina, salicilato de metilo, aldehído cinámico, Neobee	Eritritol	Empleo de spray chilling como alternativa novedosa de encapsulación de aromas líquidos empleando eritritol como agente encapsulante que solidifica por cristalización encapsulando los activos líquidos.
<i>Díaz Gamboa et al. (2011)</i>	Alfa-tocoferoles	Grasa interesterificada sin isómeros grasos trans preparados con aceite de soja totalmente hidrogenado y aceite de soja	Estudio de la estabilidad de micropartículas obtenidas por spray chilling con una cubierta formada de grasas interesterificadas con aceite de soja hidrogenado y alfa tocoferol como compuesto activo.
<i>De Matos et al (2017)</i>	Ácido ascórbico	Grasa interesterificada obtenida a partir de aceite de palma totalmente hidrogenado y de palmaste.	Evaluación del efecto de la preparación bien de emulsiones, bien de dispersiones en las que se emplea grasa interesterificada como carrier sobre las propiedades de las micropartículas lipídicas sólidas obtenidas con spray chilling y sobre la estabilidad del ácido ascórbico encapsulado.
<i>Fujiwara et al. (2012)</i>	Proteínas	Silicato de sodio	Se estudia la preparación de micropartículas de silicato de calcio para la encapsulación de proteínas y sus aplicaciones por su liberación controlada y administración de fármacos.

De esta revisión, AINIA ha seleccionado los siguientes **materiales de recubrimientos de aplicación en matrices alimentarias**:

- Polisacáridos: ciclo dextrinas y almidones de elevada resistencia térmica.
- Lípidos: ácidos grasos hidrogenados.
- Otros: eritritol.
- Compuestos inorgánicos: silicatos.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Dentro de la temática principal del proyecto se establecían distintos sistemas de encapsulación empleando matrices poliméricas de tipo inorgánico, orgánico y/o mixto. Debido a la actividad de **AIMPLAS** en el campo de materiales poliméricos durante esta primera anualidad se ha trabajado en el desarrollo e implementación de métodos de obtención de cápsulas de tamaño controlado a partir de distintas técnicas. Para esto se han tenido en cuenta las variables más importantes del proceso como:

- Tipo de sustrato de partida.
- Temperatura de reacción.
- Tiempo de reacción.
- Sistema de dispersión.
- Sustancia a encapsular.

Dentro de los objetivos marcados dentro del proyecto era que estas microencapsulaciones fueran capaces de resistir a altas temperaturas, por ello la búsqueda realizada se ha centrado en este requisito así como otros tales como gran disponibilidad comercial y precios asequibles para la industria del plástico.

A pesar de que en la propuesta de proyecto se comentó que la temática del proyecto se centra fundamentalmente en sistemas inorgánicos también se ha trabajado dentro de los materiales poliméricos. En este sentido dentro de las distintas matrices con mayor potencial a nivel industrial podemos destacar:

Polímeros sintéticos biodegradables:

- PLA(ácido poliláctico) y copolímeros
- PGA(ácido poliglicólico) y copolímeros
- Polyanhidridos
- Polialquilcianoacrilatos

Polímeros sintéticos no biodegradables:

- PMMA (polimetilmetacrilato) y copolímeros del mismo
- Derivados de acroleína
- Glicidil metacrilato
- Melamina-formaldehido
- Derivados epoxídicos

Polímeros sintéticos en base silicio:

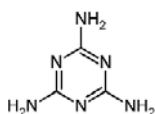
- Polisiloxanos
- Polidimetilsiloxanos

De entre los sustratos de partida seleccionados en el paquete de trabajo 1, a continuación se citan las sustancias seleccionados para la realización de las cápsulas:

- **Melamina**

Proyecto INORCAP

Entregable E1



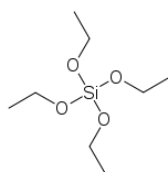
Se caracteriza por ser un trímero capaz de reaccionar con el formaldehído dando lugar así a un material encapsulante termoestable capaz de formar microcápsulas de cubierta rígida (Bône *et al.*, 2011, Wang *et al.*, 2009, Yuan *et al.*, 2015, Zhang *et al.*, 2012 y 2016).

- **Formaldehido**

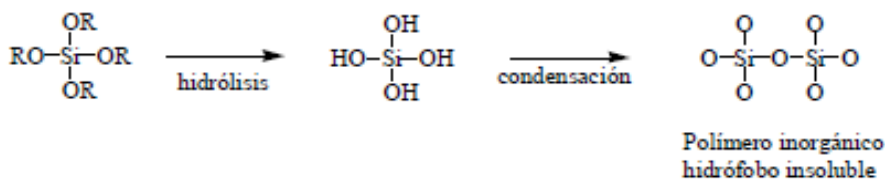


Dicho monómero en presencia de melamina es capaz de reaccionar dando lugar a las resinas de urea-formaldehído que pueden emplearse en la síntesis de microcápsulas duras (Bône *et al.*, 2011, Wang *et al.*, 2009, Yuan *et al.*, 2015, Zhang *et al.*, 2012 y 2016).

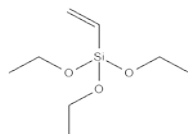
- **TEOS (Tetraetoxisilano)**



El tetraetilortosilicato o el tetraetoxisilano se caracteriza por ser uno de los silanos mayormente empleados de cara a la formación de microcápsulas en base silicio. La formación de dichas cápsulas se realiza empleando el método de Stöber que consiste en la hidrólisis controlada del mismo en presencia de agua en un medio básico (generalmente amoniaco). El modo más frecuente de encapsulación para este tipo de compuestos es a través de una emulsión donde en una fase contiene el silano y el disolvente orgánico y en la fase acuoso el sistema a encapsular (siempre y cuando sea hidrofílico). De forma general a este tipo de procesos se le conoce como sol-gel (Wang *et al.*, 2006, Zhang *et al.*, 2010, Minelli *et al.*, 2010, Cao *et al.*, 2012 y 2013).



- **Viniltrimetoxisilano**

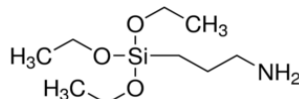


En este caso este silano presenta una reactividad similar al tetraetilortosilicato pero además presenta un grupo vinílico sobre el cual se pueden realizar modificaciones químicas para así mejorar su reactividad

Proyecto INORCAP

Entregable E1

- **Aminopropiltrietoxisilano**



Del mismo modo que en el caso anterior este caso este silano presenta una reactividad similar al tetraetilortosilicato pero además presenta un grupo amino el cual podrá *a priori* mejorar la compatibilidad de las cápsulas sobre ciertas matrices poliméricas como por ejemplo las matrices de poliuretano debido a una interacción a través de puentes de hidrógeno.

- **Dioles**

Para tratar de modificar la naturaleza inorgánica de los silanos se han seleccionados dioles de cadena variable e incluso de naturaleza polimérica para de ese modo poder obtener cápsulas con mejores propiedades. Concretamente la elección de este tipo de compuestos químicos se hace con el fin de mejorar la flexibilidad de las mismas, haciendo de este modo que sean capaces de soportar las condiciones de proceso. De entre los dioles podemos destacar el 1,4 butanodiol, el 1,12-dodecanodiol y dioles oligoméricos.

- **Materiales poliméricos**

En una primera etapa del proyecto se emplearon unos materiales poliméricos de referencia como el ácido poliláctico (**PLA**) y los copolímeros del ácido poliláctico-glicólico (**PLGA**) (Liu *et al.*, 2005 y 2016, Ma *et al.*, 2014). Ambos presentan unas buenas propiedades a nivel de encapsulación y de hecho su uso está recomendado como sistemas de encapsulación por fabricantes como:

- PURAC
- Corbion
- Natureworks.

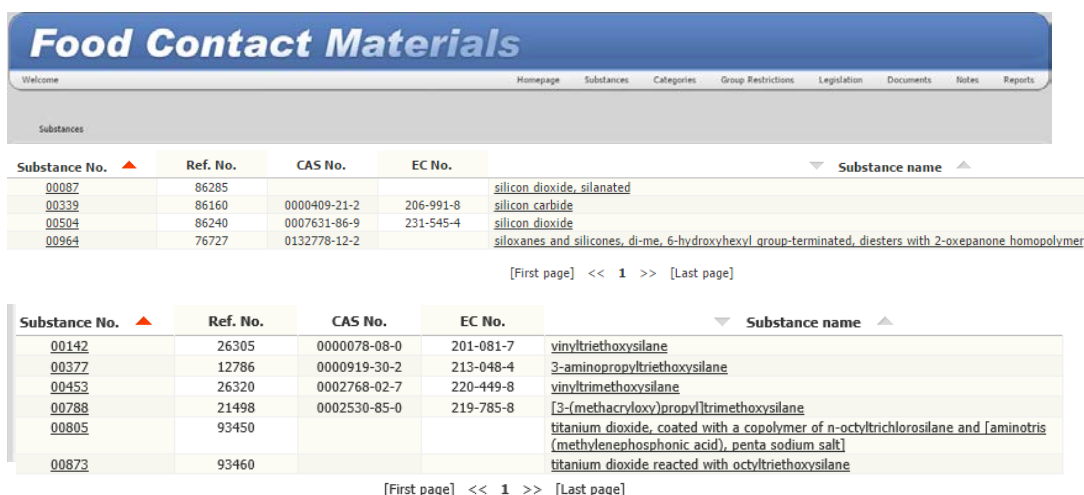
De nuevo en este caso, el procedimiento de encapsulación se fundamenta en la realización de una emulsión de tipo acuoso/graso en la cual en una de las fases se disuelve el sistema a encapsular y en la otra se disuelve el material encapsulante. Para que exista una buena miscibilidad de ambas fases se puede emplear tensioactivos que permiten mejorar y estabilizar la emulsión.

Por otra parte y tal como se comentó en el anterior apartado de selección de agentes antimicrobianos y repelentes, en el caso de plásticos de contacto con alimentos es muy importante el cumplimiento del Reglamento 10/2011 en el caso de Europa o FDA para Estados Unidos.

Por ello, dentro de los monómeros preseleccionados para la realización de las microencapsulaciones se buscó que cumplieran con el reglamento europeo, a modo de ejemplo se muestra en la figura 1 monómeros listados en el mismo:

Proyecto INORCAP

Entregable E1



Food Contact Materials

Welcome | Homepage | Substances | Categories | Group Restrictions | Legislation | Documents | Notes | Reports

Substances

Substance No.	Ref. No.	CAS No.	EC No.	Substance name
00087	86285			silicon dioxide, silanated
00339	86160	0000409-21-2	206-991-8	silicon carbide
00504	86240	0007631-86-9	231-545-4	silicon dioxide
00964	76727	0132778-12-2		siloxanes and silicones, di-me, 6-hydroxyhexyl group-terminated, diesters with 2-oxepanone homopolymer

[First page] << 1 >> [Last page]

Substance No.	Ref. No.	CAS No.	EC No.	Substance name
00142	26305	0000078-08-0	201-081-7	vinyltriethoxysilane
00377	12786	0000919-30-2	213-048-4	3-aminopropyltriethoxysilane
00453	26320	0002768-02-7	220-449-8	vinyltrimethoxysilane
00788	21498	0002530-85-0	219-785-8	[3-(methacryloxy)propyl]trimethoxysilane
00805	93450			titanium dioxide, coated with a copolymer of n-octyltrichlorosilane and [aminotris(methylenephosphonic acid), penta sodium salt]
00873	93460			titanium dioxide reacted with octyltriethoxysilane

[First page] << 1 >> [Last page]

Figura 1. Ejemplo de sustancias listadas en el reglamento 10/2011.

4. CONCLUSIONES

Tras la revisión bibliográfica descrita anteriormente, y junto con la revisión de la legislación europea en cuanto al uso de sustancias biocidas. Según el reglamento 528/2012 del parlamento europeo y del consejo de 22 de mayo de 2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas, se seleccionaron las sustancias antimicrobianas y repelentes de insectos para ser encapsuladas en el desarrollo de este proyecto. Igualmente se seleccionaron los materiales de recubrimiento para llevar a cabo dicha microencapsulación. A continuación en las tablas 11 y 12 se resumen las sustancias antimicrobianas y los materiales de recubrimiento seleccionados para el desarrollo del proyecto.

Tabla 11. Agentes antimicrobianos y repelentes seleccionados por los centros participantes en el proyecto.

Principio activo	antimicrobianos	repelentes	INESCOP	AINIA	AIMPLAS
Eucalipto	✓	✓	✓		
Citronela	✓	✓	✓		✓
Limoneno	✓		✓	✓	
Tomillo	✓				✓
Clavo	✓	✓	✓		✓
Ajo	✓			✓	✓
Timol	✓			✓	
Eugenol	✓			✓	
Carvacrol	✓			✓	
Canela	✓	✓	✓		✓
Neem		✓			✓
Romero	✓			✓	✓
Cúrcuma	✓				✓
Extracto de piretro	✓				✓

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Rábano		✓			✓
Pomelo		✓			✓

Tabla 12. Materiales de recubrimiento seleccionados por los centros participantes en el proyecto.

Material recubrimiento	INESCOP	AINIA	AIMPLAS
Sílice y silicatos	✓	✓	✓
ZnO	✓		
Melamina-formaldehído	✓		✓
CaCO ₃	✓		
eritritol		✓	
ácidos grasos hidrogenados		✓	
ciclodextrinas y almidones		✓	
Materiales poliméricos			✓

Proyecto INORCAP

Entregable E1

5. REFERENCIAS

Referencias bibliográficas consultadas para la selección de **compuestos antimicrobianos**

Ahmad, F.B.H., Mackeen, M.M., Ali, A.M., Mashirun, S.R., Yaacob, M.M. 1995. Repellency of essential oils against the domiciliary cockroach: *Periplaneta americana*. *Insect. Sci. Appl.* 16, 391–393.

Ait-Ouazzou, A., Loran, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., et al. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2643-2651.

Ali, R.M., Samah, Z.A., Mustapha, N.K., Hussein, N., 2010. ASEAN Herbal and Medicinal Plants. The ASEAN Secretariat, Public Outreach and Civil Society Division, Jakarta, Indonesia.

An D. S., Hwang Y. I., Cho S. H., and Lee D.S. 1998, "Packaging of fresh curled lettuce and cucumber by using low density polyethylene films impregnated with antimicrobial agents", *J Korean Soc Food Sci Nutri*, 27(4), 675–81.

Baron J. K., and Sumner S. S. 1993, "Antimicrobial containing edible films as an inhibitory system to control microbial growth on meat products", *Journal of Food Protection*, 56, 916.

Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Kaur, S., 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol. Manag.* 256, 2166–2174.

Barnard, D.R., Xue, R., 2004. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 41, 726–730.

Başer, K. C., & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications*. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Borlinghaus, J.; Albrecht, F.; Gruhlke, MC.; Nwachukwu, ID; Slusarenko, AJ.: "Allicin: chemistry and biological properties" *Molecules* 19, 12591-12618 (2014).

Boulekbache-Makhlouf, L., Meudec, E., Chibane, M., Mazauric, J.P., Cheynier, V., Slimani, S., Henry, M., Madani, K., 2010. Analysis of phenolic compounds in fruit of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria by high-performance liquid chromatography diode array detection mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 58, 12615–12624.

Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation

Brooker, M.I.H., Kleinig, D.A., 2006. *Field Guide to Eucalyptus*. vol.1. South-eastern Australia, Third edition. Bloomings, Melbourne.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

Burt, S. A., Vlieland, R., Haagsman, H. P., & Veldhuizen, E. J. A. (2005). Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7 by addition of food stabilizers. *Journal of Food Protection*, 68(5), 919-926.

Projecto INORCAP

Entregable E1

Casella, S.; Leonardi, M.; Melai, B.; Fratini, F.; Pistelli, L.: "The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L." *Phytotherapy Research* 27, 380-383 (2013).

Calton G. J.; Siemer S. R.; Wood, L. L. 2001, 'Slow release insect repellents'. U.S. Patent 6,180,127, 2001.

Cermelli, C., Fabio, A., Fabio, G., Quaglio, P., 2008. Effect of eucalyptus essential oil on respiratory bacteria and viruses. *Curr. Microbiol.* 56, 89–92.

Chang, S.T., Chen, P.F., Chang, S.C., 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmacol.* 77, 123–127.

Chen M.-C., Yeh H.-C., and Chiang B.-H. 1996, 'Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative', *Journal of Food Processing and Preservation*, 20, 379–90.

Chou, J.T., Rossignol, P.A., Ayres, J.W., 1997. Evaluation of commercial insect repellents on human skin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 34, 624–630.

Chung S. K., Cho S. H., and Lee D. S. 1998, 'Modified atmosphere packaging of fresh strawberries by antimicrobial plastic films', *Korean J Food Sci Technol*, 30(5), 1140–5.

Cox, C., 2005. Plant-based mosquito repellents: making a careful choice. *J. Pestic.Reform* 25 (3), 6–7.

Curtis, C., Lines, J., Lu, B., Renz, A., 1990. Natural and synthetic repellents. *Appropr.Technol. Vector Control*, 75–92.

de Boer, H., Vongsombath, C., Palsson, K., Bjork, L., Jaenson, T.G., 2010. Botanical repellents and pesticides traditionally used against hematophagous invertebrates in Lao People's Democratic Republic: a comparative study of plants used in 66 villages. *J. Med. Entomol.* 47 (3), 400–414.

Devlieghere F., Vermeiren L., Bockstal A., and Debevere J. 2000a, 'Study on antimicrobial activity of a food packaging material containing potassium sorbate', *Acta Alimentaria*, 29(2), 137–46.

Domb, A. J. 1993, 'Sustained release formulations of insect repellent'. U.S. Patent 5,221,535, 1993.

Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.

Duke, J., 2000. USDA Agriculture Research Service Phytochemical and Ethnobotanical Database.

El-Sayed, H.S.; Chizzola, R.; Ramadan, A.A.; Edris, A.E.: "Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic solvent, emulsifying, and self-microemulsifying water based delivery systems". *Food Chemistry* 221, 196-204, (2017).

Estévez, M., Ramírez, R., Ventanas, S., & Cava, R. (2007). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. *LWT e Food Science and Technology*, 40(1), 58-65.

Fiori, A.C.G., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Vida, J.B., Scapim, C.A., Cruz, M.E.S., Pascholati, S.F., 2000. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *J. Phytopathol.* 148, 483–487.

Projecto INORCAP

Entregable E1

Floros J. D., Dock L. L., and Han J. H. 1997, 'Active packaging technologies and applications', *Food Cosmetics and Drug Packaging*, 20(1), 10–17.

Fradin, M.S., Day, J.F., 2002. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New England J. Med.* 347, 13–18.

Frangos, L.; Pyrgotou, N.; Giatrakou, V.; Ntzimani, A.; Savvaidis, I.N.: "Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets". *Food Microbiology* 27, 115–121 (2010).

Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E., 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeriamonocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection* 10, 1545–1560.

García-Díez, J.; Alheiro, J., Pinto, A.; Soares, L.; Falco, V.; Fraqueza, M.; Patarata, L.: "Behaviour of food-borne pathogens on dry cured sausage manufactured with herbs and spices essential oils and their sensorial acceptability" *Food Control* 59, 262-270 (2016).

Ghosh K. G., Srivatsava A. N., Nirmala N., and Sharma T. R. 1973, 'Development and application of fungistatic wrappers in food preservation. Part I. Wrappers obtained by impregnation method', *Journal of Food Science and Technology*, 10(4), 105–10.

Giarratana, F.; Muscolino, D.; Beninati, Ch.; Ziino, G.; Giuffrida, A.; Panebianco, A.: "Activity of R(+) limonene on the maximum growth rate of fish spoilage organisms and related effects on shelf-life prolongation of fresh gilthead sea bream fillets" *International Journal of Food Microbiology* 237, 109-113 (2016).

Giatrakou, V.; Kykkidou, S.; Papavergou, A.; Kontominas, M.G.; Savvaidis, I.N.: "Potential of oregano essential oil to extend the shelf-life of fresh swordfish. A comparative study with ice storage" *Journal of Food Science* 73, 167–173 (2008).

Glenn, G. M., Klamczynski, A. P., Imam, S. H., Chiou, B., Orts, W. J., & Woods, D. F. (2010). Encapsulation of plant oils in porous starch microspheres. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4180-4184.

Goldbeck, J., do Nascimento, J.E., Jacob, R.G., Fiorentinia, Â.M., da Silva, W.P., 2014. Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus* mutants. *Ind. Crops Prod.* 60, 304–309.

Goulas, A.E.; Kontominas, M.G.: "Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes" *Food Chemistry* 100, 287–296 (2007).

Guarda, A.; Rubilar, J.F.; Miltz, J.; Galotto, M.J.: "The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol" *International Journal of Food Microbiology* 146, 144-150 (2011).

Guenther, E., 1972. *The Essential Oils*. Krieger Publishing Company, Florida, USA.

Gurdip, S., Sumitra, M., DeLampasona, M.P., Cesar, A.N.C., 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem. Toxicol.* 45, 1650–1661.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Ha J. U., Kim Y. M., and Lee D. S. 2001, 'Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef', *Packaging Technology and Science*, 14(2), 55–62.

Han J. H. 2000, 'Antimicrobial food packaging', *Food Technol*, 54(3), 56-65.

Han J. H. 2002, 'Protein-based edible films and coatings carrying antimicrobial agents', in Gennadios A, *Protein-based Films and Coatings*, Boca Raton, FL, CRC Press, 485–99.

Han J. H., and Floros J. D. 1997, 'Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity', *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13, 287–98.

Han J. H., and Floros J. D. 1998a, 'Potassium sorbate diffusivity in American processed and Mozzarella cheeses', *Journal of Food Science*, 63(3), 435–7.

Han J. H., and Floros J. D. 1998b 'Simulating diffusion model and determining diffusivity of potassium sorbate through plastics to develop antimicrobial packaging film', *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(2), 107–22.

Highland, H. A.; Merritt, P. H. 1973, 'Synthetic pyrethroids as package treatments to prevent insect penetration'. *J. Econ. Entomol.*, 66, 540-1.

Highland, H. A.; Simonaitis, R. A.; Boatright, R. 1984, 'Insecticide treated film wrap to protect small packages from infestation'. *J. Econ. Entomol.*, 77, 1269-74.

Highland, H. A.; Cline, L. D. 1986, 'Resistance to insect penetration of food pouches made of untreated polyester or permethrintreated polypropylene film'. *J. Econ. Entomol.* , 79, 527-9.

Hong S. I., Park J. D., and Kim D. M. 2000, 'Antimicrobial and physical properties of food packaging films incorporated with some natural compounds', *Food Sci Biotechnol*, 9(1), 38–42.

Horita, C.N.; Fariás-Campomanes, A.M.; Barbosa, T.S.; Esmerino, E.A.; Gomes da Cruz, A.; Bolini, H.M.A.; Meireles, M.A.A.; Pollonio, M.A.R.: "The antimicrobial, antioxidant and sensory properties of garlic and its derivatives in Brazilian low-sodium frankfurters along shelf-life" *Food Research International* 84, 1–8 (2016).

Hu, Q.; Gerhard, H.; Upadhyaya, I.; Venkitanarayanan, K.; Luo, Y.: "Antimicrobial eugenol nanoemulsion prepared by gum arabic and lecithin and evaluation of drying Technologies" *International Journal of Biological Macromolecules* 87, 130–140 (2016).

Huang L. J., Huang C. H., and Weng Y.-M. 1997, 'Using antimicrobial polyethylene films and minimal microwave heating to control the microbial growth of tilapia fillets during cold storage', *Food Science Taiwan*, 24(2), 263–8.

Ismail, A.A.; Pierson, M.D.: "Effect of sodium nitrite and organum oil on growth and toxin production of *Clostridium botulinum* in TYG broth and ground pork" *Journal of Food Protection* 53, 958–960 (1990).

Issabeagloo, E., Kermanizadeh, P., Taghizadieh, M., & Forughi, R. (2012). Antimicrobial effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against *Staphylococcus* spp. *African Journal of Microbiology Research*, 5039-5042.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., & Sakariah, K. K. (2003). Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4344-4348.

Jiang, Y.; Wu, N.; Fu, Y.-J.; Wang, W.; Luo, M.; Zhao, Ch.-J.; Zu, Y.-G.; Liu, X.-L.: "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary" *Environmental Toxicology and Pharmacology* 32, 63-68 (2011).

Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Stoyanova A, Krastanov A, Schmidt E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J Agric Food Chem* 2006; 54(17): 6303-6307.

Katerinopoulos, H. E., Pagona, G., Afratis, A., Stratigakis, N., & Roditakis, N. (2005). Composition and insect attracting activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 111-122.

Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., Singkornard, S., Matta, F., 2010. Essential oils from six herbal plants for biocontrol of the maize weevil. *HortScience* 45 (4), 592–598.

Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1, 118–119.

Ko, J.A.; Kim, W.Y.; Park, H.J.: "Effects of microencapsulated allyl isothiocyanate (AITC) on the extension of the shelf-life of Kimchi" *International Journal of Food Microbiology* 153, 92–98 (2012).

Ko, K., Juntarajumong, W., Chadrapatya, A., 2009. Repellency, fumigant and contact toxicities of *Melaleuca cajuputi* Powell against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium cataneum* Herbst. *Thai J. Agric. Sci.* 42 (1), 27–33.

Kykkidou, S.; Gitrakou, V.; Papavergou, A.; Kontominas, M.G.; Savvaidis, I.N.: "Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 °C" *Food Chemistry* 115, 169–175 (2009).

Lakkis J.M., 'Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems', Willey-Blackwey, 2007.

Langbridge D. M. 1970, 'Treatment of paper to protect packaged food from insect attack'. *Appita J.*, 24, 45-51.

Lazar-Baker, E. E., Hetherington, S. D., Ku, V. V., & Newman, S. M. (2010). Evaluation of commercial essential oil samples on the growth of postharvest pathogen *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey. *Letters in Applied Microbiology*, 52, 227-232.

Lee, O.G., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.-C., 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol. J.* 23, 97–102.

Lee D. S., Hwang Y. I., and Cho S. H. 1998, 'Developing antimicrobial packaging film for curled lettuce and soybean sprouts', *Food Sci Biotechnol*, 7(2), 117–21.

Leong, J.; Morel, P.; Purchas, R.; Wilkinson, B.: "The production of pork with garlic flavor notes using garlic essential oil" *Meat Science* 84, 699-705 (2010).

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Leung, A.Y., Foster, S., 1996. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY.

Li, J. J., Ji, B. P., Zhou, F., & Li, B. (2006). Study on the extraction, main component and antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oil. *Journal of Food Science*, 27(8), 64-68.

Li, Y.-qun, Kong, De-xin, & Hong, W. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.

Licciardello F., Muratore G., Suma P., Russo A., Nerín C. 2013, 'Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*)', *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 19 (2013) 173–80.

Lucia, A., Audino, P.G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., Masuh, H., 2007. Larvicidal effect of Eucalyptus grandis essential oil and turpentine and their major components on Aedes aegypti larvae. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 23, 299–303.

Maciel, M.V., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Silva, R.A., Barros, R.S., Sousa, R.N., 2010. Chemical composition of Eucalyptus spp. essential oils and their insecticidal effects on Lutzomyia longipalpis. *Vet. Parasitol.* 167, 1–7.

Maia, M.F., Moore, S.J., 2011. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malar. J.* 10 (1), S11.

Mendes, A. S., Daemona, E., Monteiro, C. M. O., Maturano, R., Brito, F. C., & Massoni, T. (2011). Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of Amblyomma cajennense (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 183, 136-139.

Miller W. R., Spalding D. H., Risse L. A., and Chew V. 1984, 'The effects of an imazalil-impregnated film with chlorine and imazalil to control decay of bell peppers', *Proc Fla State Hort Soc*, 97, 108–11.

Montes-Belmont, R., Carvajal, M., 1998. Control of Aspergillus flavus in maize with plant essential oils and their components. *J. Food Prot.* 61, 616–619.

Mumcuoglu, K.Y., Galun, R., Bach, U., Miller, J., Magdassi, S., 1996. Repellency of essential oils and their components to the human body louse, Pediculus humanus humanus. *Entomol. Experiment. Appl.* 78, 309–314.

Nadarajah D., Han J. H., and Holley R. A. 2002, 'Use of allyl isothiocyanate to reduce Escherichia coli O157:H7 in packaged ground beef patties', in *Book of Abstracts (2002 IFT Annual Meeting)*, Chicago, Institute of Food Technologists, 249.

Obico, J., Ragragio, E., 2014. A survey of plants used as repellents against the hematophagous insects by the Ayta people of Porac, Pampanga province, Philippines. *Philipp. Sci. Lett.* 7 (1), 179–186.

Oluma, H.O.A., Garba, I.U., 2004. Screening of Eucalyptus globulus and Ocimum gratissimum against Pythium aphanidermatum. *Nigerian J. Plant Prot.* 21, 109–114.

Quattara B., Simard R. E., Piette G., Begin A., and Holley R. A. 2000a, 'Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films', *J Food Sci*, 65(5), 768–73.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Quattara B., Simard R. E., Piette G., Begin A., and Holley R. A. 2000b, 'Inhibition of surface spoilage bacteria in processes meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan', *Int J Food Microbiol*, 62(1/ 2), 139–48.

Ozdermir M. 1999, *Antimicrobial Releasing Edible Whey Protein Films and Coatings* (Ph.D. dissertation), Purdue University, West Lafayette, IN.

Paik J. S., and Kelley M. J. 1995, 'Photoprocessing method of imparting antimicrobial activity to packaging film', in Book of Abstracts (1995 IFT Annual Meeting, June 3–7, 1996. Anaheim, CA), Institute of Food Technologists, Chicago, IL, 93.

Paik J. S., Dhanassekharan M., and Kelly M. J. 1998, 'Antimicrobial activity of UV-irradiated nylon film for packaging applications', *Packaging Technol Sci*, 11(4), 179–87.

Papachristos, D., Karamaniol, K., Stamopoulos, D., Menkissoglu-Spirudi, U., 2004. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science* 60, 514–520.

Pereiraa, V., Dias, C., Vasconcelos, M. C., Rosaa, E., & Saavedra, M. J. (2014). Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*). *Industrial Crops and Product*, 67, 403-413.

Ramezani, H., Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K., Dargan, J.S., 2002b. Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* and its major constituent citronellal. *New Zealand Plant Prot.* 55, 57–62.

Rico-Pena D. C., and Torres J. A. 1991, 'Sorbic acid and potassium sorbate permeability of an edible methylcellulose-palmitic acid film: water activity and pH effects', *Journal of Food Science*, 56, 497–9.

Rohani, S.; Moradi, M.; Mehdizadeh, T.; Saei-Dehkordi, S.; Griffiths, M.: "The effect of nisin and garlic (*Allium sativum* L.) essential oil separately and in combination on the growth of *Listeria monocytogenes*" *LWT - Food Science and Technology* 44, 2260-2265 (2011).

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., et al. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621-632.

Shapero M., Nelson D., and Labuza T. P. 1978, 'Ethanol inhibition of *Staphylococcus aureus* at limited water activity', *Journal of Food Science*, 43, 1467–69.

Skandamis, P.N.; Nychas, G.-J.E.: "Development and evaluation of a predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs and oregano essential concentrations" *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1646–1653 (2000).

Skandamis, P.N.; Nychas, G.-J.E.: "Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air modified atmospheres" *Journal of Applied Microbiology* 91, 1011–1022 (2001).

Skandamis, P.; Tsigarida, E.; Nychas, G.J.E.: "The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5 °C under aerobic, VP/MAP conditions" *Food Microbiology* 19, 97–103 (2002).

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Smith J. P., Ooraikul B., Koersen W. J., Van De Voort F. R., Jackson E. D., and Lawrence R. A. 1987, 'Shelf life extension of a bakery product using ethanol vapor', *Food Microbiology*, 4, 329–37.

Sofia PK, Prasad R, Vijay VK, Srivastava AK. Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common foodborne pathogens. *Int J Food Sci Technol* 2007; 42(8): 910-915.

Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W., 2003. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 3197–3207.

Tabak, M., Armon, R., Neeman, I., 1999. Cinnamon extracts' inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. *J. Ethnopharmacol.* 67, 269–277.

Takeuchi K., and Yuan J. 2002, 'Packaging tackles food safety: A look at antimicrobials, Industrial case study', presentation during *IFT Annual Meeting* (June 15–19, 2002, Anaheim, CA).

Tao F.; Hill L.E.; Peng Y.; Gomes C.L.: "Synthesis and characterization of b-cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications" *LWT - Food Science and Technology* 59, 247-255 (2014).

Teixeira, B.; Marques, A.; Pires, C.; Ramos, C.; Batista, I.; Saraiva, J.; Nunes, M.: "Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties" *LWT - Food Science and Technology* 59, 533-539 (2014).

Teles –Andrade B.F., Nunes –Barbosa L., da Silva- Probst I., Fernandes-Júnior A. "Antimicrobial activity of essential oils". *Journal of Essential Oil research*, 26,1, 34-40. 2014.

Thomas, J., & Kuruvilla, K. M. (2012). Cinnamon. *Handbook of herbs and spices* (2nd ed.). In Volume in woodhead publishing series in food science, technology and nutrition (2nd ed.), (Vol. 1, pp. 182-196).

Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Komalamisra, N., Apiwathnasorn, C., 2005b. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytother.Res.* 19 (4), 303–309.

Thorsell, W., Mikiver, A., Malander, I., Tunon, H., 1998. Efficacy of plant extracts and oils as mosquito repellents. *Phytomedicine* 5, 311–323.

Todd, J., Friedman, M., Patel, J., Jaroni, D., & Ravishankar, S. (2013). The antimicrobial effects of cinnamon leaf oil against multi-drug resistant *Salmonella* Newport on organic leafy greens. *International Journal of Food Microbiology*, 166(1), 193-199.

Trigg, J.K., 1996a. Evaluation of eucalyptus-based repellent against *Anopheles* spp. In Tanzania. *J. Amer. Mosquito Cont. Assoc.* 12, 243–246.

Trigg, J.K., 1996b. Evaluation of eucalyptus-based repellent against *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae) in Scotland. *J. Amer. Mosquito Cont. Assoc.* 12, 329–330.

Trigg, J.K., Hill, N., 1996. Laboratory evaluation of a eucalyptus-based repellent against four biting arthropods. *Phytother. Res.* 10, 313–316.

Tisgratog R., Sanguanpong U., Grieco J.P., Ngoen-Kluan R., Chareonviriyaphap T. Plants traditionally used as mosquito repellents and the implication for their use in vector control. *Acta Tropica* 157 (2016) 136–144.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Tucci, R. J.; Dry, N. M. 2000, 'Slow-release insect-repellent compositions and uses'. U.S. Patent 6,015,570, 2000.

Valgimigli, L. (2012). Essential oils as natural food additives: Composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties. New York: Nova Science Publishers, Inc.

Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M. S., González- Álvarez, J., & Antorrena, G. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Product*, 28, 279-285.

Vojdana F., and Torres J. A. 1990, 'Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: Effect of fatty acid', *Journal of Food Science*, 55(3), 841-46.

Vongsombath, C., 2011. In: Lao, P.D.R. (Ed.), *Botanical Repellents and Pesticides Traditionally Used Against Haematophagous Invertebrates*. Uppsala University Uppsala, Acta Universitatis Upsaliensis.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., & Perez- Alvarez, J. A. (2010b). Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control*, 21, 436e443

Wang J.; Cao Y.; Sun B.; Wang C.: "Physicochemical and release characterisation of garlic oil-b-cyclodextrin inclusion complexes" *Food Chemistry* 127: 1680-1685 (2011).

Wang, R., Wang, R., & Yang, B. 2009. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 289-292.

Weng Y.-M., and Chen M.-J. 1997, 'Sorbic anhydride as antimycotic additive in polyethylene food packaging films', *Lebensm Wiss u Technol*, 30, 485-87.

Weng Y.-M., and Hotchkiss J. H. 1993, 'Anhydrides as antimycotic agents added to polyethylene films for food packaging', *Packaging Technology and Science*, 6, 123-8.

Weng Y. M., Chen M. J., and Chen W. 1997, 'Benzoyl chloride modified ionomer films as antimicrobial food packaging materials', *Int J Food Sci Technol*, 32(3), 229-34.

Whitemore, B.; Naidu, S.: *Natural food antimicrobial systems* (pp. 265-380). Thiosulfates. A.S. Naidu (Ed.), Boca Raton, FL. CRC Press (2000).

Williams, P., Hepworth, G., Goubran, F., Muhunthan, M., Dunn, K, 'Phosphine as a replacement for methyl bromide for postharvest disinfestation of citrus.' *PostharVest Biol. Technol.* 2000, 19, 193-9.

Yamamoto, S., Matsumoto, T., Nawata, E., 2011. Capsicum use in Cambodia the Continental Region of Southeast Asia is not related to the dispersal route of *C.frutescens* in the Ryukyu Islands. *Econ. Bot.* 65 (1), 27-43.

Yakovleva L. A., Kolesnikov B. F., Kondrashov G. A., and Markelov A. V. 1999, 'New generation of bactericidal polymer packaging material', *Khranenie I Pererabotka Ssel'khozsyrya*, 6, 44-5.

Yi J. H., Kim I. H., Choe C. H., Seo Y. B., and Song K. B. 1998, 'Chitosan-coated packaging papers for storage of agricultural products', *Hanguk Nongwhahak Hoechi*, 41(6), 442-6.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Yu, H.-S., Lee, S.-Y., & Jang, C.-G. (2007). Involvement of 5-HT_{1A} and GABA_A receptors in the anxiolytic-like effects of Cinnamomum cassia in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(1), 164-170.

Zahi, M.R.; Liang, H.; Yuan, Q.: "Improving the antimicrobial activity of D-limonene using a novel organogel-based nanoemulsion" *Food Control* 50, 554-559 (2015).

Zygadlo, J.A., Juliani, H.R., 2003. Recent progress in medicinal plants. In: Majundar, D.K., Govil, J.N., Singh, V.K., Shailaja, M.S., Gangal, S.V. (Eds.), *Phytochemistry and Pharmacology II, VIII*. Studium Press LLC, Texas, pp. 273–281.

Referencias bibliográficas consultadas para la selección de recubrimientos:

Alvarenga Botrel, D.; Vilela Borges, S.; de Barros Fernandes, R.V.; Dantas Viana, A.; Gomes da Costa, J.M.; Reginaldo Marques, G.: "Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil". *International Journal of Food Science and Technology* 47, 2289-2296 (2012).

Alvim, I. D., Stein, M. A., Koury, I. P., Dantas, F. B. H., & Cruz C. L. de C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 689-694. (2016).

Alonso Alonso, M.: "Microencapsulación de Biocidas" Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco, 2011.

Beirão da Costa, S.; Duarte, C.; Bourbon, A.I.; Pinheiro, A.C.; Serra, A.T.; Moldao Martins, M.; Nunes Januário, M.I.; Vicente, A.A.; Delgadillo, I.; Duarte, C.; Beirão da Costa, M.L.: "Effect of matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil" *Journal of Food Engineering* 110, 190-199 (2012).

Bône S., Vautrin C., Barbesant V., Truchon S., Harrison I., Geffroy C. 2011, 'Microencapsulated fragrances in melamine formaldehyde resins', *Chimia (Aarau)*, 65,177-81.

Brinker C.J. Better ceramics through chemistry – an overview of sol–gel technology. *Abstr Pap Am Chem Soc* 1990; 200-217.

Cao Z., Dong L., Li L., Shang Y., Qi D., Lv Q., Shan G., Ziener U., 2012 'Preparation of mesoporous submicrometer silica capsules via an interfacial sol-gel process in inverse miniemulsion', *Langmuir*, 28, 7023-32.

Cao Z., Yang L., Yan Y., Shang Y., Ye Q., Qi D., Ziener U., Shan G., Landfester K., 2013, 'Fabrication of nanogel core-silica shell and hollow silica nanoparticles via an interfacial sol-gel process triggered by transition-metal salt in inverse systems', *J Colloid Interface Sci.*, 406,139-47.

Ciriminna R., Sciortino M., Alonzo G., Schrijver A., Pagliaro M. From molecules to systems: sol–gel microencapsulation in silica-based materials. *Chem Rev* 2011;111:765–89.

de Barros Fernandes, R.V.; Marques, G.R.; Borges, S. V.; Botrel, D.A.: "Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil" *Industrial Crops and Products* 58, 173–181 (2014).

de Matos-Jr F.E., Comunian T.A., Thomazini M., Favaro-Trindade C.S. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. *LWT - Food Science and Technology*. 75: 251-260 (2017).

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Diaz Gamboa, O.; Guaraldo Gonçalves, L.; Ferreira Grosso, C.: "Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method" *Procedia Food Science* 1, 1732-1739 (2011).

Dietrich K., Herma H., Nastke R., Bonatz E., Teige W. Amino resin microcapsules.II. Preparation and morphology. *Acta Polymerica*, (1989); 40:243-251.

Dietrich K., Bonatz E., Herma H., Nastke R., Teige W. Amino resin microcapsules.IV. Surface tension of the resins and mechanisms of capsule formation. *Acta Polymerica*, (1990); 41(2):91-95.

Fang, Zh.; Comino, P.R.; Bhandari, B.: "Effect of encapsulation of D-limonene on the moisture adsorption property of β -cyclodextrin" *LWT – Food Science and Technology* 51, 164-169 (2013).

Fei X., Zhao H., Zhang B., Cao L., Yu M., Zhou J., Yu L. Microencapsulation mechanism and size control of fragrance microcapsules with melamine resin shell. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 469 (2015) 300–306.

Franklin, N.M., Rogers, N., Apte, S., Batley, G.E., Gadd, G.E., Casey, P.S., 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, Bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8484–8490.

Fujiwara M., Shiokawa K., Kubota T. 2Direct encapsulation of proteins into calcium silicate microparticles by water/oil/water interfacial reaction method and their responsive release behaviors". *Materials Science and Engineering C*. 32: 2484–2490 (2012).

Hernández Sánchez, P.: "Encapsulación de Aceite Esencial de Clavo para su Aplicación en la Industria Alimentaria". Tesis Doctoral. Universidad Católica San Antonio de Murcia, 2011

Hewitt, C.J., Bellara, S.R., Andreani, A., Nebevon-Caron, G., McFarlane, C.M., 2001. An evaluation of the anti-bacterial action of ceramic powder slurries using multiparameter flow cytometry. *Biotechnol. Lett.* 23, 667–675.

Hirota, K., Sugimoto, M., Kato, M., Tsukagoshi, K., Tanigawa, T., Sugimoto, H., 2010. Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. *Ceram. Int.* 36, 497–506.

Hughes O.R. In: MacKenzie John D, Ulrich Donald R, editors. *Ultrastructure processing of advanced ceramics*. New York: Wiley-Interscience; 1988. 1013 pp.

Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T., Manna, A.C., 2008. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 279, 71–76.

Jun-xia, X.; Hai-yan, Y.; Jian, Y.: "Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean proteína isolate/gum Arabic" *Food Chemistry* 125, 1267-1272 (2011).

Keith B., Black C. F., Govan N., Reynolds P., Sambrook M. R. Preparation of aqueous core/silica shell microcapsules. *Journal of Colloid and Interface Science* 366 (2012) 16–22

Kumar V. B., Annamanedi M., Prashad M.D., Arunasree K. M., Mastai Y., Gedanken A., Paik P. Synthesis of mesoporous SiO₂-ZnO nanocapsules:encapsulation of small biomolecules for drugsand "SiOZO-plex" for gene delivery *J Nanopart Res* (2013) 15:1904.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Lee H.Y., Lee S.J., Cheong W., Kim J.H., Microencapsulation of fragrant oil via in situ polymerization: Effects of pH and melamine-formaldehyde molar ratio. *Journal of Microencapsulation*. (2002); 16(5): 559-569.

Liu, R., Ma G., Wan Y., Su Z, 2005, 'Influence of process parameters on the size distribution of PLA microcapsules prepared by combining membrane emulsification technique and double emulsion-solvent evaporation method', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 45, 144-53.

Liu B., Wang Y., Yang F., Wang X., Shen H., Cui H., Wu D, 2016, 'Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 144, 38-45.

Luo W., Yang W., Jiang S., Feng J., Yang M. Microencapsulation of decabromo ether by in situ polymerization: Preparation and characterization. *Polymer degradation and stability*. (2007); 92(7):1359-1364.

Ma G, 2014, 'Microencapsulation of protein drugs for drug delivery: strategy, preparation, and applications', *J Control Release*, 10, 324-40.

Matos-Jr., F. E., Di Sabatino, M., Passerini, N., Favaro-Trindade, C. S., & Albertini, B.. Development and characterization of solid lipid microparticles loaded with ascorbic acid and produced by spray congealing. *Food Research International*, 67, 52-59 (2015).

Matos-Jr F.E., Comunian T.A., Thomazini M., Favaro-Trindade C.S. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. *LWT - Food Science and Technology*. 75: 251-260 (2017).

Minelli M., Grazia De Angelis, M., Doghieri F., Rocchetti M., Montenero A., 2010, 'Barrier properties of organic-inorganic hybrid coatings based on polyvinyl alcohol with improved water resistance', *Polymer engineering and science*, 144-53.

Navarro I.; Valero C.; Gras M.L.: "Estabilidad de bases aromáticas alimentarias microencapsuladas: Comparación de diferentes combinaciones de soportes basados en hidratos de carbono, proteínas y gomas". Máster Universitario en Gestión de ETSIAMN "La Seguridad y Calidad Alimentaria" 2014.

Ordoñez, M.; Herrera A.: "Morphologic and stability cassava starch matrices for encapsulating limonene by spray drying". *Powder Technology* 253, 89-97 (2014).

Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., Noizet, G., Morlière, C., Bolzinger, M.-A., 2014a. Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the challenge tests related to their physicochemical properties. *Int. J. Pharm.* 460, 92-100.

Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, Bolzinger, M.-A. 2015. Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: Interactions with common formulation ingredients. *International Journal of Pharmaceutics* 479 (2015) 88-95.

Perez Espitia, P.J., de Fátima Ferreira Soares, N., Sélia dos Reis Coimbra, J., de Andrade, N.J., Souza Cruz, R., Alves Medeiros, E.A., 2012. Zinc oxide nanoparticles: synthesis: antimicrobial activity and food packaging applications. *Food Bioprocess Technol.* 5, 1447-1464.

Petrov A.I., Volodkin D.V., Sukhorukov G.B. Protein-calcium carbonate coprecipitation: a tool for protein encapsulation, *Biotechnol. Prog.* 21 (2005) 918-925.

Projecto INORCAP

Entregable E1

Rosenholm J.M., Sahlgren C., Linden M. Towards multifunctional, targeted drug delivery systems using mesoporous silica nanoparticles – opportunities & challenges. *Nanoscale* 2010;2:1870–83.

Su J.F., Wang L.X., Ren L. Fabrication and thermal properties of microPCMs: used melamine formaldehyde resin as shell material, *J Appl. Polym. Sci.* 101(2006) 1522–1528.

Su J.F., Ren L., Wang L.X. Preparation and mechanical properties of thermal energy storage microcapsules, *Colloid Polym. Sci.* 284 (2005) 224–228.

Sukhorukov G.B., Volodkin D.V., Gunther A.M., Petrov A.I., Shenoy D.B., Mohwald H. Porous calcium carbonate microparticles as templates for encapsulation of bioactive compounds, *J. Mater. Chem.* 14 (2004), 2073–2081.

Sun G., Zhang Z. Mechanical strength of microcapsules made of different wall materials, *Int. J. Pharm.* 242 (2002) 307–311.

Sun G., Zhang Z. Mechanical properties of melamine-formaldehyde microcapsules. *Journal of Microencapsulation*, (2001); 18:593-602.

Tao, F.; Hill, L.E.; Peng, Y.; Gomes, C.L.: “Synthesis and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications” *LWT – Food Science and Technology* 56, 247-255 (2014).

Yamamoto, O., 2001. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int. J. Inorg. Mater.* 3, 643–646.

Yang P., Gai S., Lin J. Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery. *Chem Soc Rev* 2012;41:3679–98.

Yu S.Y., Wang X.D., Wu D.Z. Microencapsulation of n-octadecane phase change material with calcium carbonate shell for enhancement of thermal conductivity and serving durability: synthesis, microstructure, and performance evaluation. *Appl Energy* 2014;114:632–43.

Vergaro V., Scarlino F., Bellomo C., Rinaldi R., Vergara D., Maffia M., Baldassarre F., Giannelli G., Zhang X., Lvov Y.M., Leporatti S. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 63 (2011) 847–864.

Volodkin D.V., Larionova N.I., Sukhorukov G.B. Protein encapsulation via porous CaCO₃ microparticles templating, *Biomacromolecules* 5 (2004), 1962–1972.

Wang L., Tsai P., Yang Y., 2006, ‘Preparation of silica microspheres encapsulating phase-change material by sol-gel method in O/W emulsion’, *J Microencapsul.*, 23, 3-14.

Wang, H., Yuan, Y., Rong, M., Zhang, M., 2009, ‘Microencapsulation of styrene with melamine-formaldehyde resin’, *Colloid Polym Sci.* 287:1089–97.

Yuan H., Li G., Yang L., Yan X., Yang D., 2015; ‘Development of melamine-formaldehyde resin microcapsules with low formaldehyde emission suited for seed treatment’, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 128, 149-54.

Proyecto INORCAP

Entregable E1

Zhang D., Li B., Zhang P., Zhang Z., Wang W., Liu F., 2016, 'Phoxim Microcapsules Prepared with Polyurea and Urea-Formaldehyde Resins Differ in Photostability and Insecticidal Activity', *J Agric Food Chem.*, **64**, 2841-6.

Zhang Y, Rochefort D, 2012, 'Characterisation and applications of microcapsules obtained by interfacial polycondensation', *J. Microencapsul.*, **29**, 636-49.

Zhang H., Wang X., Wu D., 2010, 'Silica encapsulation of n-octadecane via sol-gel process: a novel microencapsulated phase-change material with enhanced thermal conductivity and performance', *J Colloid Interface Sci.*, **343**, 246-55.