



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

USO DE ACEITES ESENCIALES, PROVENIENTES DE ESPECIES
VEGETALES, COMO PRESERVANTES NATURALES EN ALIMENTOS.

AUTOR

Stefany Gissella Espinoza Espinoza

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

USO DE ACEITES ESENCIALES, PROVENIENTES DE ESPECIES VEGETALES,
COMO PRESERVANTES NATURALES EN ALIMENTOS.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía

M. Sc. Jimena Alegría Salvador Rodríguez

Autor

Stefany Gissella Espinoza Espinoza

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, "Uso de aceites esenciales, provenientes de especies vegetales, como preservantes naturales en alimentos", a través de reuniones periódicas con la estudiante Stefany Gissella Espinoza Espinoza, en el semestre 202020, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación"



Jimena Alejandra Salvador Rodríguez

Máster en Ciencia de los Alimentos

CI: 171189149-7

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Uso de aceites esenciales, provenientes de especies vegetales, como preservantes naturales en alimentos, de la estudiante Stefany Gissella Espinoza Espinoza, en el semestre 202020, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



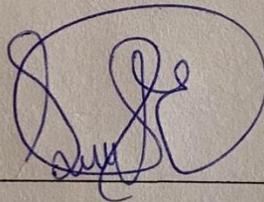
Janeth Fabiola Proaño Bastidas

Doctora en Ingeniería Industrial

CI: 1706515564

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LA ESTUDIANTE

"Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes".

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized, cursive letters, positioned above a horizontal line.

Stefany Gissella Espinoza Espinoza

CI: 1727127191

AGRADECIMIENTOS

Al universo y al motor inmóvil de todas las cosas, por crear la posibilidad de lograr este propósito.

A mis padres, a quienes debo todo lo bueno en mí, por su amor, por ser mi soporte y con su esfuerzo apoyarme en mi carrera.

A mi hermana y cuñado, por estar siempre presentes cuando lo he necesitado y por darme a mis sobrinos y a Jack, quienes me llenan de alegría y motivación.

A mis profesores a lo largo de estos años, en especial a Jimena y Janeth.

DEDICATORIA

A mi hermano, David.

RESUMEN

La industria de los alimentos busca constantemente conservantes más naturales para sus productos. Una opción prometedora para reemplazar a los conservantes sintéticos son los aceites esenciales.

El objetivo de este trabajo fue realizar una investigación bibliográfica y metodológica enfocada en el uso de aceites esenciales como preservantes en alimentos, específicamente en: queso, pollo, pescado y pan. Se realizó una revisión general de investigaciones, revisiones sistemáticas y metanálisis en alimentos.

De los 55 estudios incluidos, la extracción asistida por microondas fue mejor en cuanto a la mayor obtención de compuestos volátiles durante la extracción de aceites esenciales, también obtuvo un buen rendimiento de los mismos y seguridad en la aplicación de los alimentos al no contener residuos de solventes. Con respecto a las ventajas y desventajas del uso de aceites esenciales, se encontró que los aceites esenciales son seguros para el consumo humano a diferencia de los conservantes sintéticos, que son tóxicos para la salud y el medioambiente. Sin embargo, presentan una limitación importante: la composición del aceite esencial puede variar por distintos factores (periodo de cosecha, edáficos, climáticos, geográficos, genéticos, etc.). La mayoría de los artículos coincidieron que los aceites esenciales añadidos en nanoportadores a los alimentos era la mejor opción para la conservación, por su efectividad al no interactuar con los compuestos de los alimentos y presentar mayor aceptabilidad organoléptica de los productos. Finalmente, en cuanto a la eficiencia de los aceites esenciales como conservantes, los aceites esenciales de romero y orégano son eficientes para la conservación de queso. En el caso del pollo, el más eficaz fue el de albahaca; en el pescado, los de clavo de olor y tomillo y en el pan los de canela, tomillo y clavo de olor.

ABSTRACT

The food industry is constantly looking for more natural preservatives for its products. A promising option to replace synthetic preservatives are essential oils.

The objective of this work was to carry out a bibliographic and methodological research focused on the use of essential oils as preservatives in foods, specifically in: cheese, chicken, fish and bread. A general review of research, systematic reviews and meta-analyses on food was carried out.

Of the 55 included studies, the microwave-assisted extraction was better in terms of the greater obtention of volatile compounds during the extraction of essential oils, it also obtained a good yield and is safe in the application of food, since it did not contain solvent residues. Regarding the advantages and disadvantages of using essential oils, these are found to be safe for human consumption, unlike synthetic preservatives, which are toxic to health and the environment. However, it has an important limitation: the composition of the essential oil can vary due to different factors (edaphic, climatic, genetic, geographic, harvest, treatment, etc.). Most of the articles agreed that essential oils added in nanocarriers to foods were the best option for preservation, for their effectiveness by not interacting with food compounds and presenting greater organoleptic acceptability of the products. Finally, regarding the efficiency of essential oils as preservatives, rosemary and oregano essential oils are efficient for the preservation of cheese. In the case of chicken, the most effective was basil essential oil; in fish, the clove and thyme essential oils and in bread, the essential oils of cinnamon, thyme and clove.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Sorbato de potasio (E202)	5
1.2. Propionato de calcio (E282).....	6
1.3. Ácido sórbico (E200)	6
1.4. Uso de aceites esenciales como conservantes	7
2. METODOLOGÍA	12
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1. Métodos de extracción de aceites esenciales.....	15
3.1.1. Destilación por arrastre de vapor e hidrodestilación.	15
3.1.2. Extracción con solvente orgánico	19
3.1.3. Extracción asistida por ultrasonido	19
3.1.4. Extracción por microondas sin solvente.....	21
3.1.5. Extracción asistida por microondas	22
3.1.6. Extracción supercrítica.....	24
3.1.7. Hidrodifusión y gravedad por microondas.....	27
3.2. Caracterización de los aceites esenciales	28
3.3. Ventajas en el uso de aceites esenciales como conservante en los alimentos.....	29
3.4. Desventajas en el uso de aceites esenciales como conservante en los alimentos.....	30
3.4.1. Factores que intervienen en la composición de los aceites esenciales	31
3.5. Uso y efectividad de los aceites esenciales como conservantes	40
3.5.1. Mecanismo de acción antibacteriana.....	40
3.5.2. Mecanismo antioxidante	41
3.5.3. Métodos de aplicación de aceites esenciales en la conservación de alimentos	42
3.5.4. Conservación de alimentos de corta vida útil.....	47

4. CONCLUSIONES.....	73
5. RECOMENDACIONES.....	74
REFERENCIAS	75

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la producción y consumo de carne de pollo y de aves en general ha ido en aumento a causa de un menor costo en la producción comparado con otros productos cárnicos (Majdinasab et al., 2020). En el 2017 según lo estimado por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico, en países que tienen un PIB per cápita de \$ 30,000 o más, fue de 30,2 kg y más alto que el de otros tipos de carne, como 23,6 kg en carne de cerdo y 14,5 kg en carne de res (Kim et al., 2020). Por otro lado, el consumo humano de pescado y productos relacionados al pescado en todo el mundo es de 128 millones de toneladas al año (Prabhakar et al., 2020). Con respecto al queso, el comercio del queso en el mundo creció un 2,5% en el año 2017, y en el año 2019 se esperó que llegue hasta los 100,000 millones de dólares, por lo cual es una industria con gran beneficio económico (Alves et al., 2019). Mientras tanto, en el caso del pan, este se consume en todo el mundo alrededor de 70 kg por año per cápita en todas sus formas. En Europa, el promedio es de 59 kg por año (Carocho et al., 2020). En Ecuador funcionan 5670 empresas y negocios dedicados a la producción de pan. Estos negocios tienen 306 millones de dólares de ventas al año y otorgan empleo directo a 13407 personas (INEC,2017).

Los productos lácteos pueden contaminarse con facilidad, disminuyendo las cualidades organolépticas del mismo, su valor comercial y comprometiendo la seguridad de los productos. Muchos problemas de calidad del queso se deben al crecimiento de mohos en la superficie, los que causan sabores indeseables. El género de moho aislado con más frecuencia es *Penicillium spp.*, el cual puede producir micotoxinas como citrinina y ocratoxina A (Bukvicki et al., 2018). Existen varios tipos de queso, dentro de los cuales, uno de los más importantes, es el queso

fresco. El queso fresco es un tipo de queso sin madurar, suave, con una textura desmenuzada y levemente salado. Es común encontrarlo en los hogares hispanos. Las características por las que es susceptible al deterioro y crecimiento de microorganismos patógenos, son su alto contenido de humedad (mayor al 50%), baja acidez (pH mayor a 5,8) y mínimos niveles de cloruro de sodio. La vida útil del queso fresco es menor a un mes y puede llegar a tan solo 7 días. El crecimiento del patógeno *Listeria monocytogenes* puede alcanzar altos niveles incluso cuando el queso se encuentra en refrigeración (Brown et al., 2018). La importancia nutricional del queso fresco se fundamentó en estudios recientes que concluyeron que mientras se elabora el queso, en la fermentación de la leche, la concentración de fosfolípidos aumenta en gran medida, mejorando el valor nutricional del producto; igualmente algunas investigaciones sugieren que varias bacterias del ácido láctico podrían liberar compuestos bioactivos como péptidos antimicrobianos, lípidos funcionales, vitaminas y exopolisacáridos con gran posibilidad de prevenir algunas enfermedades (García-Gómez et al., 2019).

La carne de pollo representa una sustancial fuente de proteínas y bajo contenido de grasa. La vida útil estimada de un ave fresca es de cuatro a cinco días, dado que son susceptibles al deterioro por microorganismos, además de presentar un pH alto al igual que un contenido de humedad y proteínas elevados, lo que ocasiona oxidación de lípidos. Bacterias patógenas también pueden contaminar las aves frescas, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli*. Cuando la carne de pollo se almacena a bajas temperaturas la causa de deterioro son bacterias psicotrópicas como *Pseudomonas ssp*, que a causa de su actividad proteolítica produce limo (Majdinasab et al., 2020).

El pescado puede contribuir con múltiples beneficios en la salud humana. Nutricionalmente cuenta con una gran variedad de nutrientes esenciales como

ácidos grasos poliinsaturados, omega-3, proteínas, yodo, selenio, taurina y vitamina D (Li et al., 2020). El pescado es uno de los alimentos más perecederos. Su rápido deterioro se debe fundamentalmente a la actividad microbiana que ocasiona que su consumo sea inaceptable, ya que a menudo se asocia con enfermedades humanas debido a la presencia de patógenos. En consecuencia, la vida útil del pescado fresco está determinada por la calidad del mismo, la cual depende del control microbiológico de las bacterias de descomposición y esto representa un reto para la industria de procesamiento de pescado (Yazgan et al., 2019). El control microbiológico del pescado se dificulta por la contaminación cruzada de varias fuentes, además los peces contienen gran diversidad de taxones bacterianos, los cuales casi siempre son el reflejo de la composición de la microflora del agua presente. El crecimiento de microorganismos ocasiona la producción de aminas biogénicas, ácidos orgánicos, sulfuros y alcoholes que normalmente originan un sabor desagradable (Aponte et al., 2018). Dentro de la microflora de los peces se encuentran *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Serratia*, *Alcaligenes* y *Micrococcus*. Para los peces no conservados los responsables del deterioro son las bacterias gramnegativas y fermentativas. Por el contrario, en pescado congelado y refrigerado, son las bacterias gramnegativas psicrófilas como *Pseudomonas spp.* y *Shewanella spp.* (Prabhakar et al., 2020).

El pan es un alimento que ha cumplido un rol muy importante en el desarrollo de la humanidad, siendo parte de la dieta a través de miles de años, la popularidad del pan se debe a su fácil preparación, la cual consta de muy pocos ingredientes y puede elaborarse con múltiples cereales. Sus componentes básicos son harina, agua, levadura y sal que, cuando se amasan, fermentan y hornean, dan como resultado el pan. Existe gran variedad de recetas para elaborar pan: casi tantas como los tipos de pan. “El pan es un alimento universal funcional cuyo efecto benéfico en la salud humana se vincula con sus ingredientes y procedimiento de elaboración, producen cambios intestinales de microbiota con consecuencias

benéficas a largo plazo en nuestra salud” (Arias et al., 2017). *Aspergillus niger* ha sido reportado como el principal microorganismo que causa el deterioro de los alimentos horneados. Las condiciones que favorecen el crecimiento de microorganismos son la temperatura de almacenamiento, actividad de agua, acidez, disponibilidad de nutrientes y malas prácticas de manufactura. Aunque el pan una vez horneado no presenta microorganismos ni esporas, es posible que durante su enfriamiento, manipulación y almacenamiento presente contaminación con aerobios o Coliformes (González et al., 2019).

En la industria alimentaria se dan grandes progresos, teniendo en cuenta en sus procesos la higiene y el control del procesamiento de la carne. Sin embargo, *Salmonella spp* continúa siendo uno de los patógenos más comunes produciendo salmonelosis, la cual se asocia de manera común con el consumo de huevos y carne de aves de corral contaminados, por esta razón es necesario nuevos agentes para el control de seguridad de la carne (Stojanović-Radić et al., 2018). Mientras tanto, mantener las características organolépticas y microbiológicas adecuadas durante el mayor tiempo posible en el pan, es uno de los retos dentro de la industria de panificación, debido a que este es uno de los productos de mayor consumo. Los pescados y mariscos pueden ser una fuente de transmisión de microorganismos patógenos clásicos y emergentes para el ser humano y al ser un alimento en varios casos mínimamente procesado necesita métodos rigurosos de conservación (Sánchez & Delgado, 2016). Por otro lado, la conservación, prevención y control de patógenos en los productos lácteos juega un papel fundamental en las industrias debido a múltiples contaminantes como *Listeria monocytogenes* la cual ocasiona listeriosis, una infección bacteriana, con una tasa de mortalidad de 20 a 30%. Los principales vehículos de transmisión del patógeno son los productos lácteos listos para el consumo ya que estos pueden ingerirse sin haber existido cocción (Castañeda-ruelas et al., 2014). Por lo tanto, es importante conocer otras técnicas de preservación que sean naturales y efectivas para estos alimentos, debido a que

en las industrias alimenticias representa un gran desafío aumentar la vida útil de los productos. Los aditivos conservantes sintéticos usados normalmente como el sorbato de potasio, propionato de calcio y ácido ascórbico en el caso de el pan y queso (Olea et al., 2012) o nitrato de sodio y ácido benzoico (carne) tienen efectos adversos en la salud (Majdinasab et al., 2020).

1.1. Sorbato de potasio (E202)

Anualmente, el sorbato de potasio en el mundo tiene una producción de 38000 toneladas (Kielhorn et al., 2008). Inhibe el crecimiento de levaduras, mohos y bacterias en los productos alimenticios. Asimismo, inhibe micotoxinas producidas por algunas cepas de moho. Muestra mayor efectividad contra mohos que contra bacterias; de igual manera se utiliza como sustituto de parabenos. En productos alcalinos no se recomienda la utilización de este aditivo. Se puede utilizar en lácteos, jugos de fruta, productos marinos, margarina, aderezos para ensaladas, vino, pasteles, refrescos y panadería. El límite recomendado para sorbato de potasio por la FAO/OMS es de 0,25 mg/kg. En Europa, el valor recomendado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria es de 3 mg/kg y en Estados Unidos, esta cantidad es de 0,01% y 0,03% (Dehghan et al., 2018).

El sorbato de potasio puede unirse de manera covalente con los residuos de albúmina sérica humana y puede provocar estrés oxidativo, cambios conformacionales de la proteína, interferencias con enfermedades como obesidad y diabetes. Se ha demostrado también que este aditivo induce efectos mutagénicos en los linfocitos de sangre periférica humana *in vitro*. El DL50 para humanos es de 500 mg/kg. En ratas el sorbato afecta la peroxidación lipídica dañando la célula de hepatocito y la membrana (Dehghan et al., 2018).

1.2. Propionato de calcio (E282)

Es eficaz al contrarrestar el crecimiento de hongos y bacilos productores de filamentación. Se puede usar en pH relativamente alto como 5 o 6. Su acción se basa en inhibir el crecimiento de los microorganismos a partir de la competencia con los aminoácidos esenciales. La dosis máxima permitida de propionato de calcio es 3 g/kg de harina. En un estudio publicado en el 2019 se informó que, al colocar la dosis permitida de propionato de calcio, fue suficiente para reproducir la respuesta hormonal al propionato agudo, exposición observada en ratones. Así también, cuando los ratones se exponían de manera permanente a una dosis diaria equivalente de propionato, resultó en un aumento de concentraciones plasmáticas de las hormonas contrarreguladoras de insulina, glucagón y FABP4, y el desarrollo de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y aumento gradual de peso. También se sugirió la relevancia del propionato para la resistencia a la insulina y la obesidad en humanos. En los ratones en estado postprandial, este aditivo conducía a una rápida activación del sistema nervioso simpático y a un aumento de las hormonas en ayunas. Este aumento resultó en una producción de glucosa endógena mejorada, probablemente debido a la glucogenólisis hepática, que conduce a hiperglucemia compensatoria (Tirosh et al., 2019).

1.3. Ácido sórbico (E200)

El ácido sórbico presenta un alto espectro inhibitorio contra hongos y moderadamente activo contra levaduras. Tiene una actividad débil contra bacterias debido a que no es eficaz en el rango apto de pH para la actividad antibacteriana, así su estabilidad en los productos alimenticios está influenciada por una variedad de factores como temperatura y pH, actividad de agua, composición de los alimentos, iones metálicos, presencia de otros aditivos y envases (Anurova et al.,

2019). El pH más efectivo microbiológicamente es de 5. La principal desventaja de este aditivo es que los tiempos prolongados de calentamiento y altas temperaturas aceleran su descomposición. Presenta una dosis máxima de 25 mg/kg (Campos, 1995).

Existe información limitada sobre la ocurrencia de reacciones toxicológicas del ácido sórbico durante el almacenamiento de los alimentos, principalmente cuando se usa en combinación de ácido ascórbico en presencia de sale de hierro o nitritos. En un estudio de Aasaki y Col (2002), en ratas en donde se administró ácido sórbico por vía oral en dosis máxima, se reportó migración de ADN en algunos órganos, aunque leves y estadísticamente no significativos (EFSA, 2015).

1.4. Uso de aceites esenciales como conservantes

Existe un mayor interés en la sociedad por el uso de nuevos métodos para hacer que los alimentos sean seguros y que tengan una imagen natural. Una de esas opciones es el uso de aceites esenciales (EO) como conservantes de alimentos para prolongar su vida útil, respaldando su calidad y seguridad. Los aceites esenciales pueden definirse como mezclas complejas naturales de metabolitos secundarios lipófilos volátiles que otorgan a las especias y plantas su color y esencia característicos. Prolongar la vida útil de los alimentos es una preocupación central en la industria alimentaria y las agencias gubernamentales. La vida útil se ha precisado como el lapso de tiempo durante el cual los productos alimenticios permanecerán seguros teniendo la precaución de mantener las cualidades organolépticas, cualidades microbiológicas, químicas, físicas y funcionales; además de que el alimento al almacenarse en las condiciones adecuadas pueda cumplir con su declaración nutricional. En consecuencia, se puede decir que cualquier aditivo que sea capaz de mantener o extender la vida útil de un producto alimenticio, puede

ser descrito como un preservante y los aceites esenciales son tal aditivo (Preedy, 2016).

Los aceites esenciales que se tratarán en esta revisión están clasificados como GRAS (generalmente reconocidas como seguras, por sus siglas en inglés) por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) (Llana-Ruiz-Cabello et al., 2015). Además en los 4 alimentos a tratar, los aceites que ejercen actividad contra sus patógenos y los antimicrobianos naturales más estudiados (García & Palou, 2008) son los citados a continuación:

El tomillo, *Thymus vulgaris* es una hierba mediterránea, cuyo aceite esencial es usado en industrias como farmacéutica, cosmética, agroalimentaria, ganadera, veterinaria y avícola. Las propiedades de este aceite se atribuyen fundamentalmente a sus componentes como timol y carvacrol. El timol principalmente es conocido como un eficaz agente antimicrobiano (López A., 2015).

El eneldo: *Anethum graveolens* es una hierba medicinal que se ha utilizado durante más de 2000 años. Las semillas de esta planta son tranquilizantes, carminativas y digestivas. Tradicionalmente las semillas se han usado para tratar enfermedades estomacales, hemorroides y mal aliento. En cuanto a la composición química y las propiedades del eneldo, su aceite esencial puede ser un agente natural adecuado para ser considerado como conservante alimentario y aditivo alimentario para reemplazar los conservantes sintéticos en la industria alimentaria (Preedy, 2016). Sus principales componentes químicos son d-carvona, dihidrocarvón, α -felandreno, limoneno, carveol, dihidrocarveol, timol y carvacrol (Rostaei et al., 2018).

Con respecto al aceite esencial de canela, *Cinnamomum verum*, es un eficaz bactericida al contar con un 70-95% de eugenol (Montero-Recalde et al., 2017). Los componentes activos presentes en el aceite contra hongos son metoxicinamaldehído y aldehído cinámico (Arturo et al., 2006) este aceite y sus componentes han sido reconocidos como seguros y aprobados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y por la OMS (Organización mundial de la salud) por lo cual resulta un aditivo promisorio para reemplazar aditivos sintéticos (Sun et al., 2020).

El aceite esencial de limón, *Citrus limon*, tiene una producción de 7,3 millones de toneladas anuales en el mundo siendo la tercera especie de cítricos más importante. Las semillas y el pericarpio del limón se utilizan para extraer aceite. Las semillas de limón sin aceite se descartan como desecho (Zhang et al., 2020). Además el aceite esencial de limón contiene propiedades antibacterianas, fungicidas y antioxidantes. La FDA lo considera seguro para utilizar como aromatizante y conservante. Sus compuestos principales son el citral, limoneno, mirceno, gama terpineno y octanal (Yazgan et al., 2019).

El romero, *Rosmarinus officinalis*, es una planta xerófita, perteneciente al género *Rosmarinus* de la familia Labiatae. Su aceite esencial tiene un valor muy importante y comercial en cuanto a medicina, salud y actividades biológicas como analgésico, antioxidante, antibacteriano y analgésico, por lo cual ha sido ampliamente utilizado en industrias farmacéuticas y de alimentos como sabor, fragancia, conservante y pesticida. Varios estudios anteriores han demostrado que los principales compuestos del aceite esencial de romero son el eucaliptol, pineno y alcanfor (Nie et al., 2020).

Con respecto al clavo de olor, el árbol de clavo, *Eugenia caryophyllata*, es miembro de la familia *Myrtaceae*. Los capullos secos del árbol reciben el nombre de clavo y está compuesto de elementos bioactivos de los cuales varios son antimicrobianos y antioxidantes sumamente efectivos. El aceite esencial de clavo está conformado fundamentalmente por eugenol y derivados, que son fenilpropanoides y por compuestos orgánicos minoritarios, como β -cariofileno y α -humuleno. El aceite esencial de clavo de olor se usa normalmente como conservante, especia o colorante en alimentos. (Hadidi et al., 2020).

El orégano, *Origanum vulgare*, es una hierba común, la cual se distribuye de gran manera en el Mediterráneo y Asia. El aceite esencial de orégano se puede extraer de la totalidad de su hierba y tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana, puesto que contiene varios compuestos fenólicos (dos Santos Paglione et al., 2019), que presentan actividad biológica, antibacteriana, antiviral, antifúngica, repelente de insectos y plaguicida. Está compuesto principalmente por carvacrol y timol (Cui et al., 2019).

La albahaca dulce, *Ocimum basilicum* L., pertenece a la familia *Lamiaceae*. Su aceite esencial se utiliza frecuentemente como aromatizante en las industrias alimentarias y en perfumería. Diferentes partes de esta planta se utilizan en la medicina popular para contrarrestar la diabetes, diarrea, estreñimiento, dolores de cabeza, tos y enfermedades cardiovasculares. Los componentes principales de este aceite son los monoterpenos y fenilpropanoides, por lo que tiene usos como agente antioxidante y antimicrobiano (Hanif et al., 2017).

Los preservantes naturales, como los aceites esenciales, son cada vez más importantes para las industrias y la sociedad, debido el creciente interés del consumidor por productos mínimamente procesados. Es de suma importancia

conocer los efectos antimicrobianos y antioxidantes que ejercen este tipo de preservantes para incluirlos en la industria en las concentraciones adecuadas, sabiendo el método de extracción y la especie vegetal más conveniente. La vida útil de los productos de los que se profundizará está relacionada con la salud del cliente y pérdidas económicas en las empresas, por lo cual se ha creído relevante llevar a cabo esta investigación bibliográfica para determinar la eficiencia, rendimiento, ventajas y desventajas de algunos aceites esenciales según la información revisada.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

Realizar una investigación bibliográfica y metodológica enfocada en el uso de aceites esenciales como preservantes en alimentos.

Objetivos específicos:

- Comparar métodos para la extracción de aceites esenciales y para la determinación de la eficiencia de los mismos.
- Analizar las ventajas y desventajas del uso de aceites esenciales como conservantes naturales.
- Estudiar la eficiencia de varios aceites esenciales contra la degradación de alimentos.

2. METODOLOGÍA

En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica y comparación metodológica de la información obtenida, la misma que se extrajo de la base de datos Scopus, durante el periodo de tiempo de marzo del 2020, hasta julio del 2020. Se seleccionaron solo los artículos y documentos de investigación más relevantes vinculados con el tema de estudio, que fueran recientes (desde el 2015 hasta la actualidad). El trabajo se basó fundamentalmente en artículos referidos a aceites esenciales en alimentos y se realizó la búsqueda solo en el idioma inglés, a razón de encontrar una mayor variedad de artículos científicos. Las palabras clave utilizadas para la búsqueda fueron: *essential, oil, rosemary, oregano, thyme, clove, lemon, dill, cinnamon, basil, extraction, chicken meat, fish meat, bread, cheese, limitation.*

Para encontrar los artículos requeridos se utilizaron las palabras clave combinadas junto con el operador lógico “AND” para poder otorgar una mayor especificidad y sensibilidad en la búsqueda.

Los criterios de inclusión fueron:

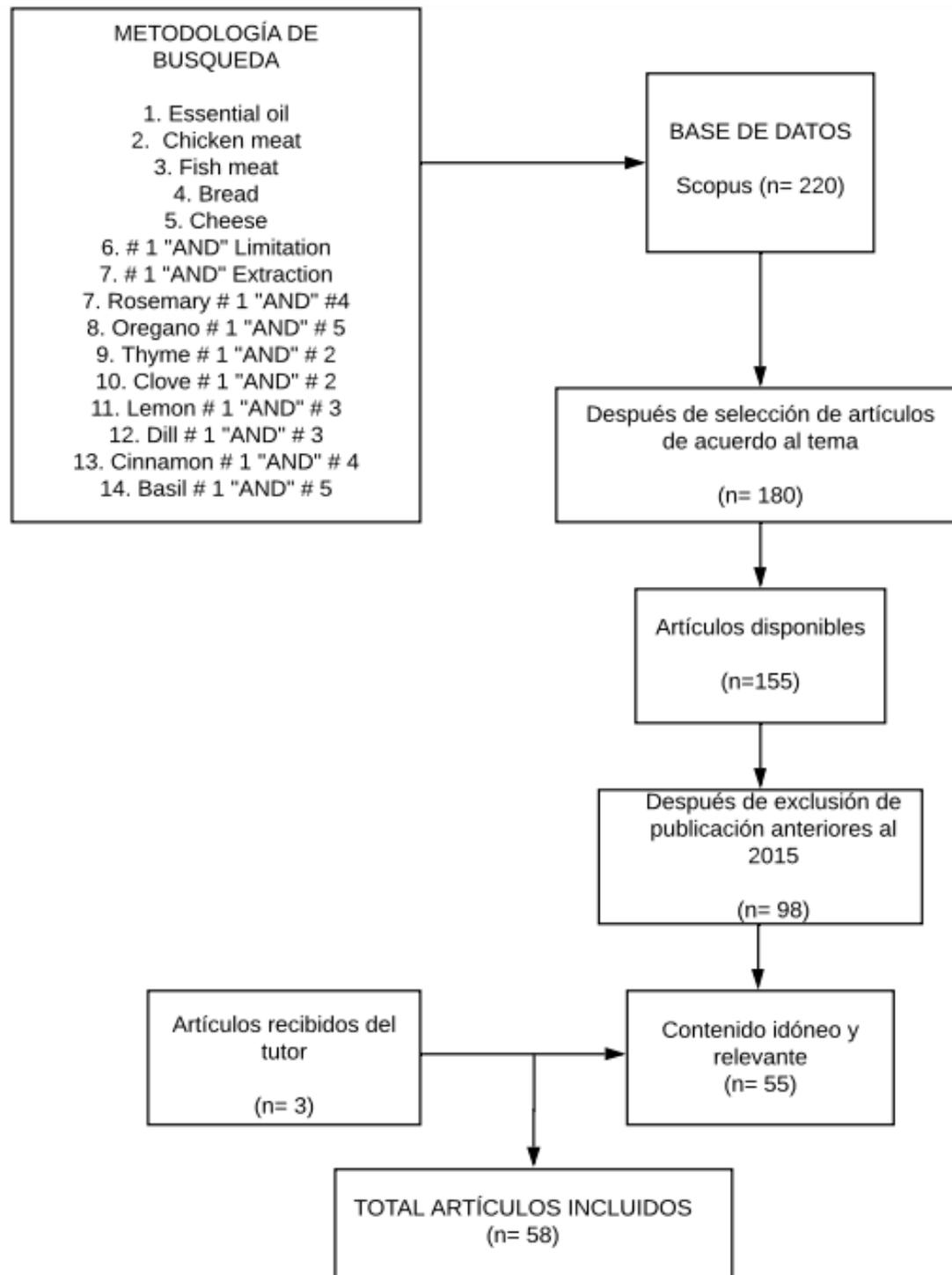
- Artículos de investigaciones científicas y experimentales, revisiones generales y sistemáticas, libres o no de pago.
- Estudios en los que evaluaban la eficiencia de los aceites esenciales en combinación con otros elementos.

- Artículos en los que los métodos extracción de aceites esenciales fueron asistidos por nuevas tecnologías.

Los criterios de exclusión fueron:

- Artículos de aceites esenciales de plantas no tratadas en la revisión.
- Estudios de aceites esenciales no enfocados en el tema de alimentos
- Estudios publicados con anterioridad al 2015.
- Documentos publicados en otro idioma que no sea inglés o español.

En cuanto a la metodología de búsqueda, el proceso de selección de documentos se presenta a continuación, a través de un diagrama de flujo.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Métodos de extracción de aceites esenciales

En la práctica, para la obtención de aceites esenciales, se pueden utilizar varias técnicas como: destilación por arrastre de vapor e hidrodestilación, extracción con solventes orgánicos, extracción asistida por ultrasonido, extracción por microondas sin solvente (SFME, por sus siglas en inglés), hidrodestilación asistida por microondas (MAHD, por sus siglas en inglés), extracción con CO₂ supercrítico e hidrodifusión y gravedad por microondas (Hassanein et al., 2020). La composición de los aceites esenciales puede variar significativamente de acuerdo al método de extracción utilizado. Siddique et al. (2016) concluyeron que la elección del método de destilación interviene de gran manera en la composición volátil. La extracción de aceites esenciales por métodos convencionales como hidrodestilación y destilación por arrastre de vapor tienen algunas desventajas como los largos tiempos de extracción, baja eficiencia de extracción, pérdida de compuestos volátiles importantes, la gran energía que conlleva y residuos de solventes tóxicos (Haqqyana et al., 2020).

3.1.1. Destilación por arrastre de vapor e hidrodestilación.

En la destilación por arrastre de vapor, el material vegetal se coloca en un recipiente y se calienta haciendo pasar vapor al agua forzando a las glándulas sebáceas a abrirse y evaporar los aceites esenciales. De esta manera, el aceite se levanta junto con el vapor y el aceite pasa por un condensador y se recoge en estado líquido mezclado con agua. Posteriormente, se separa por decantación (Figura 1.). En cambio, en la hidrodestilación, usando un aparato diseñado para su fin (aparato tipo Clevenger), el material vegetal se sumerge directamente en agua y se hierve. Gracias a la ebullición, el aceite esencial presente en las partes de la planta se

evapora y luego se recoge nuevamente por condensación y separación (Figura 2.). El número de constituyentes de aceites esenciales obtenido por hidrodestilación es mayor que el obtenido por destilación al vapor (Asbahani et al., 2015).

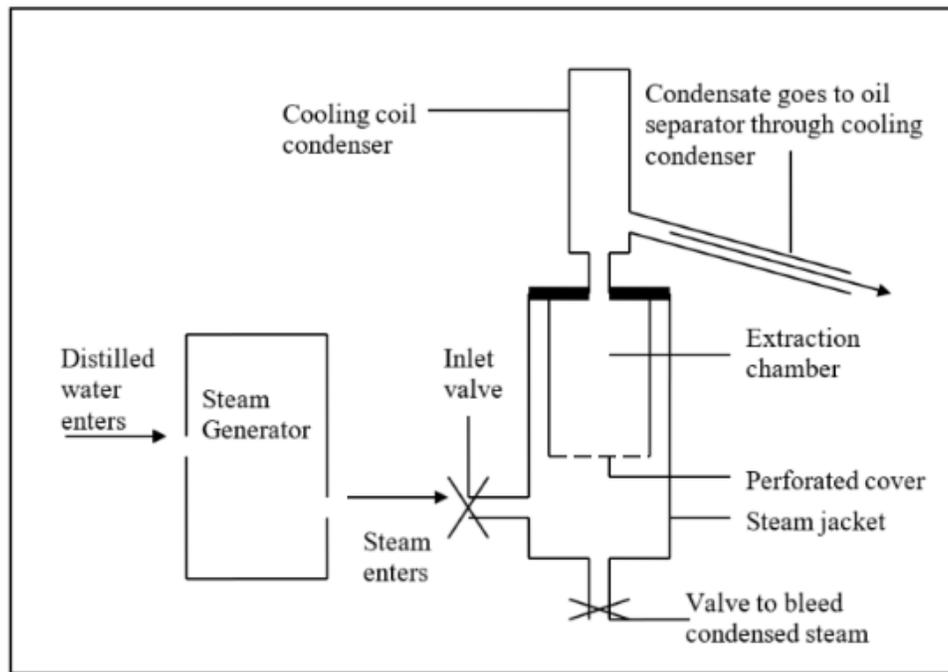


Figura 1. Sistema de extracción por arrastre de vapor.

Tomado de Maharaj & McGaw. (2020).

En el proceso de hidrodestilación, los componentes, de acuerdo con su grado de hidrosolubilidad, tienden a separarse. Sin embargo, en la hidrodestilación, el pH y la temperatura conducen a la degradación térmica, reacciones de reordenamiento e hidrólisis parcial. En cambio, en la extracción con solvente, grupos de compuestos adicionales son diluidos por el solvente, resultando imposible tener productos sin solvente, lo que ocasiona la degradación de los componentes altamente volátiles. Por lo tanto, se concluyó que, para la obtención de algunos compuestos, como α -pineno, en aceites esenciales se debe realizar una extracción con solvente. Pero

para otros compuestos, como el 1,8-cineol, alcanfor, borneol y verbenona, es recomendable la hidrodestilación, debido a que se convierten en componentes principales del hidrosol (Sadeh et al., 2019).

En un estudio realizado en el 2015, se evaluó el rendimiento y la composición del aceite esencial de las semillas de eneldo (*Anethum graveolens*) (en las cuales el contenido de aceite es de 1,5% en comparación con sus hojas y hierba, 0,5%) obtenidos por cuatro diferentes técnicas de hidrodestilación tipo Clevenger. La técnica 1 se basó en cohobar el agua condensada, el aceite esencial se registró después de 180 minutos, la técnica 2 no tuvo cohobación, se usó una nueva cantidad de material vegetal para cada destilación sucesiva y se registró el total de aceite después de 120 minutos. La técnica 3 consistió en mantener un hidromódulo (proporción peso/volumen en el ciclo de destilación) constante. Además, el agua residual de una sola hidrodestilación (después de separar los desechos de la planta, mediante filtración al vacío) se combinó con una nueva cantidad de agua (en total 300 ml) y se sometió a cuatro ciclos de destilación sucesivos, registrando el total después de 180 minutos. En la técnica 4 se combinaron el condensado, el agua residual de la destilación previa y agua sin usar hasta alcanzar 300 ml. Se registró el volumen final después de 120 minutos. Sus resultados fueron que, aumentando el hidromódulo en la hidrodestilación, aumenta el rendimiento del aceite esencial. Gracias al aumento del hidromódulo, 1:20 (p/v), se obtuvieron mejores rendimientos del aceite (2,80 ml por 100 g de material vegetal seco), mientras que por un hidromódulo de 1:10 (p/v) se obtuvo un rendimiento de 2,12 ml por 100 g de material vegetal seco. Esto se debe a una resistencia a la transferencia de masa junto con un mejor contacto de las semillas con el agua, provocando que estén disponibles los volátiles para el proceso de hidrodestilación. El máximo rendimiento (3,74 ml/100g de material vegetal seco) se obtuvo por la técnica 3 de hidrodestilación.

Por lo tanto, se corroboró que el rendimiento del aceite, la composición y la cinética dependen de la técnica de hidrodestilación utilizada. En cuanto al contenido de

carvona, que es uno de los compuestos bioactivos más importantes del eneldo, en las cuatro técnicas se mantuvo una composición en la que la carvona era el compuesto mayoritario (Stanojević et al., 2015).

En un estudio realizado por Shiwakoti et al. (2017), se compararon los rendimientos de una extracción de aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*) de 60 minutos por destilación por arrastre de vapor y otra por hidrodestilación y se obtuvo un menor rendimiento en la hidrodestilación (0,08%) comparado con la destilación por arrastre de vapor (0,32%).

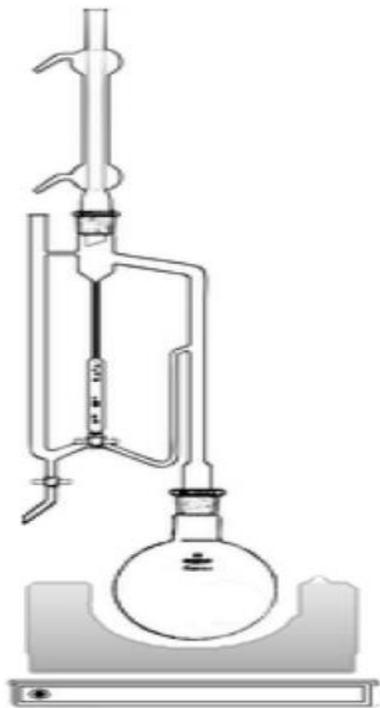


Figura 2. Aparato para hidrodestilación convencional.

Tomado de Radivojac et al. (2020).

3.1.2. Extracción con solvente orgánico

Esta técnica previene las alteraciones químicas provocadas por frío en comparación con la hidrodestilación. Consiste en macerar el material vegetal en un disolvente orgánico. Luego el extracto se concentra, eliminando el disolvente a presión reducida, lo que reduce la temperatura y evita modificaciones químicas a causa del calor y de la reducción de pH. La desventaja de esta técnica es que compromete la seguridad de los aceites obtenidos, ya que los extractos muchas veces contienen residuos de disolvente que contaminan los alimentos a los que se agregan. Sin embargo, se puede evitar combinando tecnologías de bajo punto de ebullición y solvente orgánico o procesos de destilación al vapor (Asbahani et al., 2015).

En un estudio se determinó el efecto del método de extracción en la composición del aceite. Se compararon la destilación al vapor, la hidrodestilación y la extracción con solventes. Como anteriormente se vio, el aceite esencial de romero obtuvo diferencias significativas por método de extracción para α -pineno, alcanfor y 1,8-cineol, ya que se produjo más alcanfor y 1,8-cineol por hidro-destilación que, por extracción con solvente, en cambio se produjo más α -pineno por extracción con solvente que por hidrodestilación. Los resultados coincidieron con otro estudio realizado en el 2008 el cual indicó que los monoterpenoides están sujetos a cambios químicos bajo condiciones de destilación a vapor, por otro lado, el proceso no aerobio de extracción junto con solventes protege los componentes volátiles (Sadeh et al., 2019).

3.1.3. Extracción asistida por ultrasonido

Se coloca la materia prima vegetal en agua o disolvente y al mismo tiempo se somete a la acción de ultrasonido (Figura 3.). Las ondas ultrasónicas tienen una

frecuencia de 20 kHz – 1 MHz, lo que induce vibraciones mecánicas de las paredes y membranas de la planta y una liberación rápida de gotas de aceite esencial. Ocurren dos fenómenos al extraer el aceite: en la difusión por las paredes celulares y el lavado del contenido celular una vez que se rompen las paredes. Las ventajas de este método, comparando con otros métodos revisados anteriormente, es su eficiencia y velocidad de extracción. Los equipos son simples y económicos en comparación con el método por microondas (que se describe más adelante). Además, es beneficioso para las materias vegetales sensibles a la temperatura (Asbahani et al., 2015).

En un estudio del 2019, se realizó una extracción asistida por ultrasonido para aceite esencial de corteza de canela. Las condiciones óptimas fueron 25 g de carga sólida, tamaño de partícula de 1000 μm , 500 W de potencia del manto calefactor, tiempo de extracción de 20 min y 60% de amplitud. El rendimiento del aceite de canela fue 4,64% (p/p). Es un método más ecológico y sostenible, ya que la hidrodestilación requiere 5 veces más energía para la extracción del aceite y tiempos más extensos (120 minutos). Además, en la hidrodestilación se obtiene un rendimiento de aceite esencial de canela de 3,24% (p/p) (Modi et al., 2019).

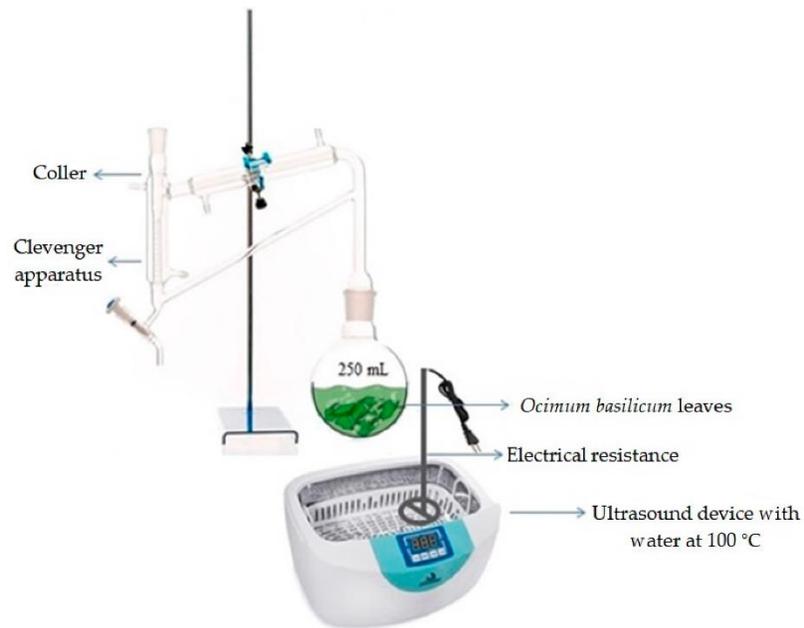


Figura 3. Hidrodestilación más ultrasonido en la extracción de aceite esencial de albahaca.

Tomado de Da Silva Moura et al. (2020).

3.1.4. Extracción por microondas sin solvente

Se basa en la combinación de la energía de calentamiento por microondas y destilación en seco a presión atmosférica sin agregar ningún solvente orgánico ni agua. El calentamiento del agua en el material vegetal hace que los tejidos se hinchen, provocando que los receptáculos oleíferos exploten, por lo que los aceites esenciales se evaporan por destilación azeotrópica con el agua existente en el material vegetal. Este método aísla y concentra los compuestos volátiles en solo 30 minutos en comparación a las 2 horas requeridas en la hidrodestilación convencional (Asbahani et al., 2015).

En una investigación realizada para determinar la eficiencia de las extracciones optimizadas asistidas por microondas, comparándolas con métodos convencionales, en el rendimiento del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) se obtuvo que el proceso de extracción por microondas sin solvente (SFME) fue el mejor en cuanto a los resultados y la calidad del aceite porque requirió menos tiempo en la extracción (35 minutos), además en el aceite esencial se encontraron un total de 25 compuestos. En la hidrodestilación asistida por microondas se encontraron 19 compuestos, en la destilación al vapor 11, y en hidrodestilación 21 compuestos. El aceite esencial extraído por SFME mostró cinco veces más actividad contra *S. aureus*, pues mostró una cantidad mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) de 2 mg/ml. El rendimiento de los métodos estudiados fueron 3,13% por hidrodestilación, 3,15% por destilación al vapor, 3,17% por hidrodestilación asistida por microondas, 3,2% por SFME (Farhat et al., 2017).

3.1.5. Extracción asistida por microondas

El método de hidrodestilación asistida por microondas (MAHD, por sus siglas en inglés) ofrece el potencial para ser usado a escala industrial gracias a sus herramientas económicas y simples. Este método es la conjugación de un sistema de utilización de agua como solvente acompañado de calentamiento por microondas (Figura 4.) (Haqqyana et al., 2020).

En investigaciones, se comprobó que la extracción asistida por microondas ofrece el mayor rendimiento en la extracción de flavonoides. Se utilizaron siete plantas de la familia *Lamiaceae* en las que se encuentra el orégano de Siria y tomillo. Los resultados arrojaron que la MAHD presenta un gran ahorro de tiempo en la extracción en comparación con la hidrodestilación convencional: 60 minutos vs 180 minutos, respectivamente. Se observó también un mejor rendimiento y un aumento

significativo de los compuestos químicos de los aceites, un aumento porcentual (15,4 y 0,4%) en compuestos oxigenados al extraer por MAHD que, por HD, exceptuando la especie *mejorana L* que no presentó un aumento (Hassanein et al., 2020).

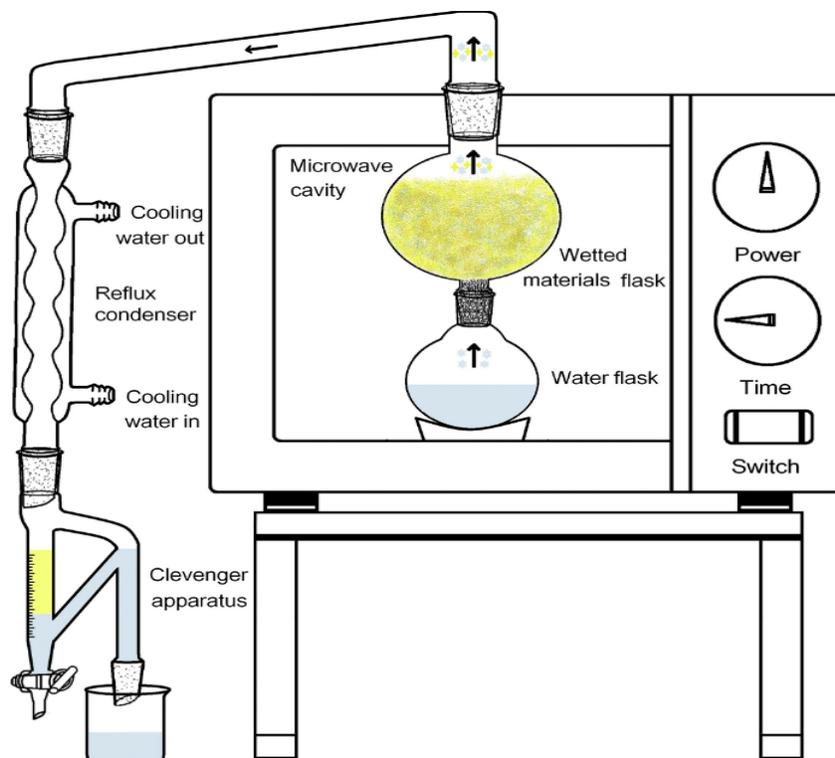


Figura 4. Aparato de extracción asistido por microondas.

Tomado de Zhang et al. (2020).

En este estudio se evaluó el rendimiento de la extracción del aceite de albahaca por medio de la MAHD apoyándose en el método de superficie de respuesta. El método de superficie de respuesta es una combinación de técnicas matemáticas para la optimización de procesos. El rendimiento del aceite esencial fue de 0,6%, con un tiempo de extracción de 97 minutos y 430 W en cuanto a la potencia de las

microondas. Este rendimiento es más alto que otros estudios en los que aplican extracción por hidrodestilación asistida por microondas (Tran et al., 2018). Sin embargo, el método de extracción por microondas sin solvente (SFME) obtuvo un rendimiento óptimo para el aceite de albahaca de 1,73% (con los siguientes parámetros: potencia de microondas 380 W, relación alimentación/ destilador de 0,05 g/ml y tamaño de material de $\pm 1,5$ cm). Tiene ventajas sobre la hidrodestilación de microondas (MHD), a causa de un mayor rendimiento y tiempo de extracción más rápido (80 minutos) (Kusuma et al., 2018).

A través de hidrodestilación asistida por microondas optimizando el proceso con metodología de superficie de respuesta para la extracción de aceite esencial de hojas de limón. Los parámetros óptimos fueron 3,27 ml/g de relación entre agua y material, 523,89 W de potencia de microondas, y 84,47 minutos de tiempo de extracción, el rendimiento obtenido fue 0,762% (Dao et al., 2020), mientras que en otro estudio que evaluó la eficiencia de la hidrodestilación asistida por microondas de aceite esencial de cáscaras de limón comparado con el método hidrodestilación, obtuvieron que el tiempo de extracción requerido para la hidrodestilación asistida por microondas fue de 15 minutos con un rendimiento de 1,12% y para la hidrodestilación convencional se requirieron 120 minutos con un rendimiento de 1,18%. Con respecto a la composición de los aceites obtenidos por los diferentes métodos, no se obtuvieron diferencias significativas (Golmakani & Moayyedi, 2016).

3.1.6. Extracción supercrítica

La extracción con fluido supercrítico es un método muy útil dado que se pueden manipular la temperatura y presión en el sistema para extraer meticulosamente diferentes compuestos con un alto grado de selectividad. El solvente supercrítico más utilizado es el dióxido de carbono supercrítico, que presenta varias ventajas

como su bajo precio, su no toxicidad y baja reactividad. Se puede extraer una gran variedad de compuestos sin riesgo a una degradación térmica, ya que el punto crítico del dióxido de carbono se da a 30,9 °C y 73,8 bar. De esta manera, los compuestos se separan fácilmente como sustancias no polares (Todd & Baroutian, 2017).

La tecnología supercrítica ha evolucionado en los últimos años, siendo una tecnología prometedora al obtener compuestos de valor agregado y bioactivos. Se investigó la extracción de aceite esencial de clavo por medio de extracción de fluido supercrítico con una de las últimas modificaciones, el que sea asistida por prensado en frío (SFEAP, por sus siglas en inglés). Se basa fundamentalmente en cargar la materia prima dentro de un recipiente de extracción y luego se prensar en frío, poniendo a la materia prima en contacto con un pistón bajo presión (Figura 5.). Ofrece un rendimiento 8 veces mayor que la extracción de fluido supercrítico convencional, con 400 bar, 40 Nm de torque y 40°C. En la investigación se encontró que con SFEAP se obtuvo un 4% más concentrado de eugenol , β -cariofileno., α -humuleno y acetato de eugenilo en el aceite volátil en comparación con el método de extracción de fluido supercrítico convencional (Hatami et al., 2019). En la investigación de Wenqiang et al. (año) se encontró que en el aceite volátil el 58,8% de peso corresponde al eugenol y que el rendimiento fue de 19,6g/100g de yemas de clavo, obtenido por extracción de fluido supercrítico convencional a 100 bar y 50°C (Hatami et al., 2019).

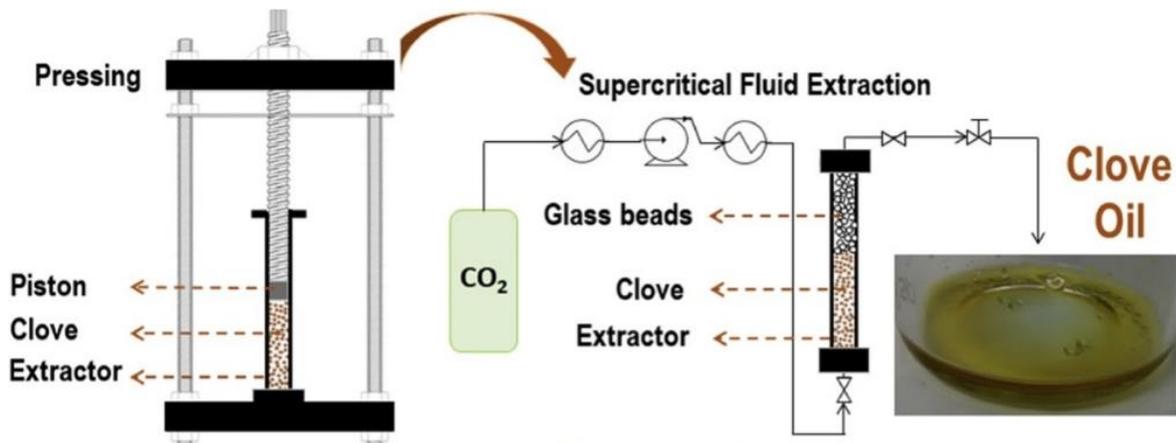


Figura 5. Extracción de aceite esencial de clavo por fluido supercrítico.

Adaptada de Hatami et al. (2019).

En la extracción de fluido supercrítico, la presión juega un papel muy importante porque de ello deriva un mejor rendimiento del aceite esencial. El aumento de la presión de CO_2 aumenta su capacidad de disolución mejorando la solubilidad de los compuestos de alto punto de ebullición y, por consiguiente, resultando en un mayor rendimiento del aceite esencial. Por ejemplo, a 16,7 MPa y 40°C: se obtuvo un rendimiento de 0,15% (p/p) de aceite esencial de tomillo; mientras que el rendimiento por hidrodestilación en el tomillo fue 0,1% (v/w) (Morsy, 2020). El mejor rendimiento en un estudio para el aceite esencial de romero con extracción supercrítica con CO_2 confirmó que, aumentando la presión, mejora el rendimiento de extracción y que la temperatura de 40°C es la ideal para el proceso para recuperar la mayor parte del aceite, mientras que, temperaturas mayores a 40°C no optimizan el proceso en cuanto a rendimiento. Esto se explica por el hecho de que una temperatura más alta reduce la densidad del fluido y solubilidad de los compuestos a extraer. El mejor rendimiento obtenido fue 24,01% combinando los 40°C y 350 bar de presión (García-Pérez et al., 2020).

3.1.7. Hidrodifusión y gravedad por microondas

El método de hidrodifusión y gravedad por microondas es un proceso innovador eficiente, rápido y ecológico. No presenta degradación en la calidad del extracto y se basa fundamentalmente en la combinación de la gravedad de la tierra a presión atmosférica y radiación de microondas sin agregar solvente o agua (Figura 6) (Benmoussa et al., 2018). En este proceso, el material vegetal se calienta inmediatamente por efecto de irradiación de microondas en el agua y del resto de moléculas presentes. La presión y el aumento de la temperatura en las células del material provoca la hidrodifusión del agua y metabolitos desde el interior al exterior de la célula. La extracción es rápida. Por lo tanto, este proceso reduce significativamente el uso de energía (Ferreira et al., 2020).

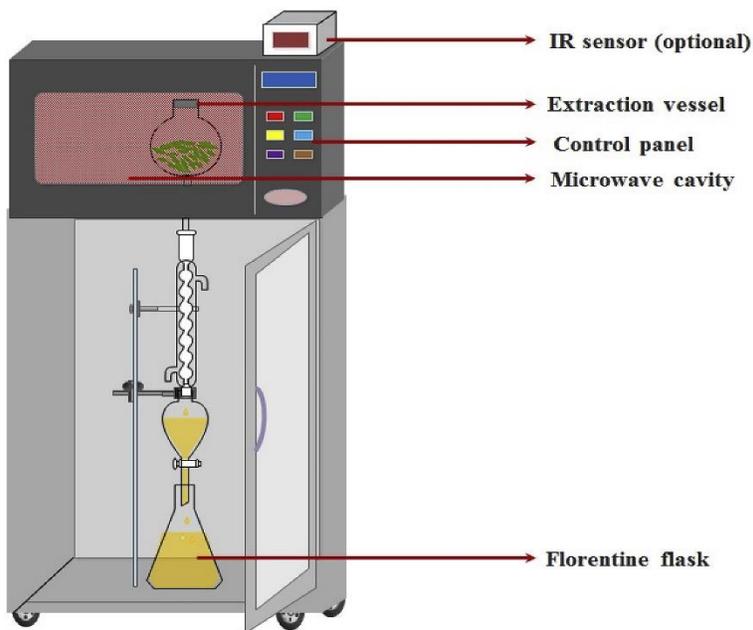


Figura 6. Dispositivo para la extracción por hidrodifusión y gravedad por microondas.

Tomado de Singh Chouhan et al. (2019).

En cuanto a la extracción de aceite esencial de orégano por medio de hidrodifusión y gravedad por microondas (MHG), se obtuvo un mayor porcentaje de linalool (26,66%) mientras que con el método de hidrodestilación por microondas (MGH) y en la hidrodestilación clásica se obtuvo carvacrol como componente principal (35,01% y 26,70%). Por el contrario en la hidrodestilación por microondas se obtuvo una cantidad mayor de 4-terpineol (18,05%) en comparación con hidrodifusión y gravedad por microondas (4,99%). El rendimiento de aceite esencial de orégano obtenido por MHG fue 0,73% y obtenido por MGH su rendimiento fue 0,08% (Singh Chouhan et al., 2019).

Utilizando hidrodifusión asistida por microondas y extracción de aceite por gravedad en una investigación sobre la extracción de aceite esencial de limón sutil, se obtuvo un rendimiento de 0,361% de aceite esencial en un tiempo de 100 minutos (León et al., 2020). Por el contrario, en otro estudio aplicando el mismo método de extracción para aceite esencial de cascara de limón, se obtuvo un rendimiento de 0,024% (Ciriminna et al., 2017).

3.2. Caracterización de los aceites esenciales

Para determinar la composición química de los aceites la técnica más usada entre las existentes (técnicas electroforéticas, cromatografía líquida y cromatografía de fluidos supercríticos) es la cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) acoplada a espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) y detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés). Los aceites esenciales tienen constituyentes con concentraciones en ppt y ppm, por lo que su análisis es complejo al separar completamente sus componentes y al asignar de forma exacta sus estructuras, la cromatografía de gases es aplicada con éxito en los aceites esenciales (Tabla 1) (Prebihalo et al., 2018).

Tabla 1.

Técnicas de caracterización de aceites esenciales usadas.

Espece	Estudio	Técnica de caracterización empleada
<i>Eugenia caryophyllata</i>	(Hatami et al., 2019)	(GC-FID)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	(Farhat et al., 2017)	(GC-FID)
<i>Anethum graveolens</i>	(Stanojević et al., 2015)	(GC-MS)
<i>Ocimum basilicum</i>	(Shiwakoti et al., 2017)	(GC-MS)
<i>Citrus limon</i>	(Golmakani & Moayyedi, 2016)	(GC-MS)
<i>Thymus vulgaris</i>	(Morsy, 2020)	(GC-MS)
<i>Cinnamomum verum</i>	(Modi et al., 2019)	(GC-FID)
<i>Origanum vulgare</i>	(Hassanein et al., 2020)	(GC-MS)

3.3. Ventajas en el uso de aceites esenciales como conservante en los alimentos

La mayoría de los aceites esenciales son reconocidos como seguros por la administración de medicamentos y alimentos (FDA, por sus siglas en inglés), muchos alimentos funcionales hoy en día incluyen aceites esenciales debido a que

los compuestos de los EO presentan una buena asimilación gastrointestinal, presentando además beneficios sobre los compuestos bioactivos de la mucosa gástrica (Dajic Stevanovic et al., 2020). Por otro lado, los conservantes sintéticos presentan efectos secundarios en la salud humana y medio ambiente debido a que estos conservantes tienen una naturaleza no biodegradable. El uso y aplicación constante de los conservantes sintéticos no es alentada por las industrias alimentarias ni por el consumidor. Los EO al ser de origen natural sus compuestos se consideran favorables para el medio ambiente y están libres de requisitos de toxicidad por la Agencia de Protección del Medio Ambiente. La conservación de alimentos a través de aceites esenciales como conservante es viable económicamente, efectiva y rápida, por esto se ha visto la posibilidad de formulación como un conservante bioracional dada su gran actividad biológica contra bacterias patógenas, virus, mohos, insectos y deterioro oxidativo (Prakash et al., 2015).

3.4. Desventajas en el uso de aceites esenciales como conservante en los alimentos

La mayoría de los aceites esenciales afectan las cualidades organolépticas de los alimentos incluso a concentraciones bajas. Su efectividad depende del pH, temperatura y grado de contaminación de los productos. Además, a causa de su naturaleza volátil, existen muchas probabilidades de pérdida de sus componentes en las aplicaciones de los aceites o incluso en el transporte en envases cerrados. Estas desventajas se pueden evitar con las nuevas técnicas de aplicación como la nano-encapsulación, temas que se revisaron con anterioridad, las cuales reducen las pérdidas de los principios activos y tiene la posibilidad de controlar la liberación de vapores del aceite en los productos tratados. Muchas veces en el sistema alimentario existe una interacción de los componentes de la matriz con los compuestos de los aceites esenciales, por lo cual no ejerce la actividad antimicrobiana prevista y se debe investigar sus componentes antes de la aplicación *in vivo*. La aplicación de aceites esenciales en sinergia permite la adición en bajas

concentraciones de los aceites esenciales. Para usar las diferentes técnicas de aplicación es necesaria una estandarización de las dosis, en función del perfil químico para prevenir la alteración en los resultados debido a las diferencias quimiotípicas ya que influye en su actividad biológica potencial. A continuación, se presentan algunos factores predominantes (Prakash et al.,2015).

3.4.1. Factores que intervienen en la composición de los aceites esenciales

El aceite esencial de plantas de romero que han crecido en Japón, Irán y China han tenido compuestos similares (eucaliptol, pineno y alcanfor) pero el contenido de estos compuestos tenía mucha variación. Esto se atribuye al diferente tiempo de cosecha, lluvia, duración de la exposición al sol, etc. (Nie et al., 2020), por lo cual se ha concluido que la composición química de los aceites esenciales varía en gran medida por factores ambientales, como: factores edáficos y climáticos, métodos ergonómicos y procesamiento después de la cosecha o factores genéticos, que pueden ser: origen de la planta, el cultivar, el quimiotipo, la estación y etapa fenológica. Los efectos de interacción de estos dos factores juegan también un rol importante (Farsaraei et al., 2020). Algunos factores responsables de la variabilidad de la composición de los aceites esenciales se presentarán en esta sección.

3.4.1.1. Periodo de cosecha de la planta

Said-Al Ahl & Omer (2016) descubrieron que el rendimiento del aceite esencial de eneldo dependía de la altura de la planta. Sucedió que las plantas de la segunda cosecha eran más altas en comparación con la primera, por lo cual en la primera cosecha (60 días después de la siembra) se obtuvo un contenido de 0,007 a 0,008%. Por el contrario, en la segunda cosecha (90 días después de la siembra), se obtuvo 0,042-0,045% de aceite esencial. En general en la segunda cosecha, el

peso de hierbas frescas, valores de crecimiento y contenido de α -felandreno, limoneno, pimetano y éter de eneldo, tuvieron un mejor valor.

Con respecto a las plantas de tomillo, en una investigación en la que se examinó el tiempo de cosecha (140,160,180 días después de la siembra), informaron que tenía una influencia significativa en la calidad y rendimiento del aceite esencial. El mayor crecimiento de la hierba se obtuvo a los 180 días después de la siembra, pero su contenido de aceite esencial y del compuesto timol era bajo. El tiempo ideal de cosecha se observó a los 160 días después de la siembra, con una calidad razonable de la hierba, pero con un rendimiento bastante bueno del aceite (Król & Kiełtyka-Dadasiewicz, 2015).

En otro estudio, en el que se evaluó la extracción de aceite esencial de canela, se encontraron en el aceite óxidos de cariofileno y trans-cariofileno. Esto puede deberse a la edad de la planta, ya que en una planta madura el eugenol puede oxidar el cariofileno. De la misma forma, la edad de la corteza vegetal de *C. verum* también puede afectar el contenido de cinamaldehído (aldehído cinámico) que se oxida y forma compuestos resinosos (Malsawmtluangi et al., 2016). El rendimiento y la composición de los aceites esenciales puede estar influenciada por la edad de la planta. Se ha visto que las plantas más jóvenes muestran una mayor actividad durante el crecimiento, con un aumento en su metabolismo. La relación entre la edad y el rendimiento de aceite esencial puede ser directa o inversa dependiendo de la especie (Farias et al., 2020).

3.4.1.2. Factores edáficos y climáticos

La salinidad del suelo tiene efectos adversos en las plantas, dado que disminuye la disponibilidad de agua y altera el crecimiento de la planta. En la albahaca bajo el estrés salino, la absorción de agua disminuyó y se notó la deshidratación de las hojas ocasionadas por la acumulación extrema de soluto. En el aceite esencial de la misma, los compuestos cambiaron bajo el estrés, puesto que la formación de monoterpenos es catalizada por la síntesis de terpenos, cuya actividad es catalizada por programas vinculados con el desarrollo y el estrés (Farsaraei et al., 2020).

Se evaluó el efecto del cultivo, en diferentes condiciones ambientales, de plantas aromáticas y medicinales: artemisa (*Artemisia abrotanum* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), pelargonium (*Pelargonium roseum* L.), lavanda (*Lavandula angustifolia* L.), laurel (*Laurus nobilis* L.), hierbabuena (*Mentha spicata* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.), verbena de limón (*Aloysia triphylla* L.) y menta verde (*Mentha spicata* L.). En el estudio se seleccionaron dos áreas con diferente altitud y microclima. La primera zona fue el área montañosa (800 msnm) con un clima seco y bajas temperaturas con precipitación de nieve en el invierno. La textura del suelo es arena-seda y un área llana a 141msnm, con un invierno templado y un verano seco caluroso. Los resultados mostraron que el aceite esencial de romero presentaba alrededor de 67,48% y 64,33% de monoterpenos oxigenados, 30,97% y 32,96% de hidrocarburos monoterpenos para las plantas de montaña y área llana, respectivamente. La variación se dio en el contenido de α -terpineol y alcanfor, que en las plantas de montaña era significativamente menor comparándolas con las plantas de llanura. En general, la altitud aumentó la capacidad antioxidante y la cantidad de compuestos fenólicos de algunas plantas como en el caso de la artemisa. En el romero, aumentaron solo flavonoides y en la menta verde, solo fenoles totales. La mayor capacidad antioxidante se encontró en plantas cultivadas en llanura que en las plantas en lugares montañosos. Este estudio concluyó que las condiciones de crecimiento delimitadas por las diferentes variaciones de altitud y de ambiente podrían afectar significativamente el rendimiento de los aceites esenciales

y el contenido de compuestos antioxidantes. Las respuestas fueron variadas dependiendo de la especie (Chrysargyris et al., 2020).

3.4.1.3. Variación geográfica

El quimiotipo del aceite esencial de albahaca varía según la región del mundo. En Polonia, por ejemplo, los compuestos principales del EO de la hoja de albahaca son linalool, geraniol y 1,8-cineol. En la hoja de albahaca italiana, los componentes principales son linalool, metilchavicol y eugenol. El aceite esencial de albahaca de Austria tiene como componentes relevantes a linalool, metilchavicol, metilcinamato y cadinol. En República Checa, los principales compuestos de la albahaca nativa son linalool y eugenol. . Por otro lado, con respecto a la albahaca de Argelia, fueron linalol, acetato de linalilo, elemol y acetato de geranilo. En Pakistán, los componentes fueron linalool, epicardinol, bergamoteno y cadineno. En Turquía, sus principales constituyentes son metilchavicol, limoneno y p-cimeno. En Tailandia e Irán, el aceite es rico en metilchavicol. Así, los componentes y sus variaciones entre países probablemente están ocasionadas por diferentes quimiotipos y condiciones ambientales, factores genéticos, los elementos nutricionales usados en las plantas, así como otros factores que pueden influir en la composición del aceite (Ahmed et al., 2019).

3.4.1.4. Variación genética

Se compararon los componentes volátiles de las flores de varios genotipos de cítricos, entre los cuales se incluyó *Citrus limon*, que fueron cultivados bajo las mismas condiciones climáticas y hortícolas para obtener resultados más exactos. Los resultados arrojaron incoherencias en cuanto a sus componentes volátiles de cuatro tipos básicos. En la papeda (*Citrus ichangensis*) se vio un mayor contenido

en β -ocimeno, acetato de linalilo y mirceno. En cambio, en sinocitrus (*Citrus reticulata*) se observaban como componentes principales, linalol y carvacrol. Por otro lado, en cefalocitrus (*Citrus grandis*) se mostró mayor contenido en β -pineno y limoneno en comparación con la papeda y el sinocitrus. En cuanto a citrophorum (*Citrus medica*), solo este genotipo contenía 3,7-dimetil-2,6-octadienal, además del nivel más alto de limoneno. Las variedades híbridas de cítricos que también fueron evaluadas contenían patrones de composición en gran medida comparables a los de sus presuntos padres. La composición en las especies primarias de cítricos señaló una acentuada influencia genética en los componentes volátiles (Jugreet et al., 2020).

3.4.1.5. Tiempo de secado o proceso

La extracción de aceite esencial de clavo se llevó a cabo con el mismo método de destilación (hidrodestilación) y de la misma planta de clavo con diferente preparación de muestras. La extracción con la flor fresca de clavo obtuvo una composición de eugenol menor (47,6%) en comparación con la flor seca que contiene 55,60% del mismo (Amelia et al., 2017). Anh et al. (2019) informaron que el tiempo de almacenamiento y la temperatura de secado de hojas de romero son inversamente proporcionales al rendimiento del aceite esencial obtenido. Además, la extracción con hojas frescas obtuvo un aceite esencial con mayor actividad antioxidante. El secado puede activar las enzimas hidrolasas, lo que probablemente conduce a cambios específicos en la proporción de compuestos volátiles (Jugreet et al., 2020).

Tabla 2.

Variación porcentual en los componentes del aceite esencial de las especies evaluadas en diferentes estudios.

Especie vegetal	Condiciones del material	Constituyentes químicos	(%)	Referencia
<i>Citrus limon</i>	Destilación por arrastre de vapor Cáscara de limón Tabriz, Irán	d- limoneno	46,93	(Moosavy et al., 2017)
		γ-terpineno	16,89	
		tri-cyclen	6,67	
		1-beta-pineno	4,69	
		2-beta-pineno	3,86	
		beta-bisaboleno	3,15	
	Destilación por arrastre de vapor vapor Cáscara de limón Blida, Argelia	d- limoneno	61,68	(Ammad et al., 2018)
		neral	21,66	
		b-pineno	10,63	
		terpineno	6,42	
<i>Origanum vulgare</i>	Hidrodestilación Hojas frescas de orégano Minas Gerais, Brasil	terpinen-4-ol	22,94	(Ferreira et al., 2019)
		trans-sabineno hidrato	20,56	
		carvacrol	15,64	
		g- terpineno	10,58	
		p-cimeno	4,07	
		a-terpineol	3,11	
		biciclogermacreno	3,01	
		a- terpineno	2,78	

	Hidrodestilación Hojas frescas de orégano Tamil Nadu, India	carvacrol	38,30	(Govindajaran et al., 2016)
		terpinen-4-ol	28,70	
		a-terpineol	4,28	
		timol	2,80	
		trans-cariofileno	2,62	
		borneol	2,39	
		sabineno	2,18	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hidrodestilación Hojas frescas de romero Er-Rich, Marruecos	1-8 Cineol	33,88	(Chraibi et al., 2020)
		alcanfor	16,66	
		a-pineno	12,76	
		b-pineno	7,17	
		mirreno	4,54	
		ledeno	3,92	
		b-Cariofileno	3,8	
		terpineol	3,46	
	Hidrodestilación Hojas secas de romero Lam Dong, Vietnam	a-Pineno	23	(Anh et al., 2019)
		eucaliptol	11,85	
		geraniol	4,02	
		acetato de borilo	3,04	
		canfeno	2,52	
		alcanfor	2,51	
		d-limoneno	2,17	
		terpineol	1,83	
		b-pineno	1,44	
		cariofileno	1,00	
		mirreno	0,80	
		<i>Anethum graveolens</i>	Hidrodestilación Semillas de eneldo	
carvona	25,7			
limoneno	20,6			

	Túnez	apiol eneldo	8,0		
		trans-dihidrocarvona	4,9		
		alcanfor	4,4		
		cis-dihidrocarvona	1,7		
		mirreno	1,5		
		felandreno	1,4		
	Hidrodestilación Hojas secas Ilam, Irán	a-felandreno	29,12		(Kazemi & Abdossi.,2015)
		limoneno	26,34		
		éter de eneldo	15,23		
		a-pineno	2,00		
		n-tetracosano	1,54		
		sabineno	1,34		
		b-mirreno	0,23		
<i>Syzygium aromaticum</i>	Hidrodestilación Yemas secas de clavo Punjab, India	eugenol	69,68	(Kaur et., 2019)	
		acetato de eugenilo	14,38		
		b-cariofileno	12,23		
		a-humuleno	1,50		
		a-cubebano	0,42		
	Hidrodestilación Yemas secas de clavo Java, Indonesia	eugenol	55,60	(Amelia et al., 2017)	
		acetato de eugenilo	20,54		
		cariofileno	14,84		
		a-humuleno	2,75		
		a-copaeno	0,80		
óxido de cariofileno		0,70			
a-cububano	0,032				

<i>Ocimum basilicum</i>	Hidrodestilación Hojas y tallos secos de albahaca Assiut, Egipto	linalol	31,65	(Ahmed et al., 2019)
		estragol	17,37	
		cinamato de metilo	15,14	
		biciclo sesqui- felandreno	6,01	
		eucaliptol	4,04	
		a-bergamoteno	3,94	
		eugenol	3,59	
		γ-cadineno	2,42	
		germacreno D	1,56	
	Hidrodestilación Hojas secas de albahaca Laghouat, Argelia.	linalol	52,1	(Rezzoug et al., 2019)
		Acetato de linalilo	19,1	
		1,8-cineol	9,2	
		a-terpineol	5,7	
		acetato de geranilo	3,6	
		acetato de nerilo	1,8	
mircenol	1,3			
<i>Thymus vulgaris</i>	Hidrodestilación Hojas secas de tomillo Lublin, Polonia	timol	75,2	(Baj et al., 2020)
		carvacrol	7,7	
		p-cimeno	6,3	
		borneol	1,6	
		óxido de cariofileno	1,4	
		linalol	1,1	
	Hidrodestilación Hojas secas de tomillo	carvacrol	89,15	(Abdelli et al., 2019)
		trans- sabineno hidrato	2,33	

	Mostaganem, Argelia	b-cariofileno	1,35	
		timol	0,77	
		borneol	0,99	
		p-cimeno	0,85	
<i>Cinnamomum verum</i>	Hidrodestilación Corteza seca de canela Mizoram, India	cinamato de metilo	81,87	(Malsawmtluangi et al.,2016)
		trans- cinamaldehído	4,01	
		linalol	3,90	
		a-pineno	2,41	
		benzoato de bencilo	1,09	
		a-Terpineol	0,76	
		copaeno	0,76	
		estireno	0,74	
		Hidrodestilación Hojas de canela São Luís, Brasil	eugenol	
	hidrocarburos monoterpenos		1,55	
	cariofileno		1,4	
	a-Tujeno		0,7	
	e-cinamaldehido		0,6	
a-felandreno	0,6			

3.5. Uso y efectividad de los aceites esenciales como conservantes

3.5.1. Mecanismo de acción antibacteriana

Los aceites esenciales tienen acción bacteriostática, lo que quiere decir que matan las células bacterianas. No se ha establecido sus mecanismos formalmente dada su variabilidad de componentes, pero existe un acuerdo general sobre la lipofilia de los aceites esenciales que les otorga la capacidad de cruzar la membrana citoplasmática y las mitocondrias de la célula, permeabilizando sus capas de ácidos grasos, polisacáridos y fosfolípidos. En las bacterias grampositivas, los extremos lipofílicos de los ácidos en la membrana bacteriana se favorecen de los compuestos hidrofóbicos que son penetrados por los compuestos de los aceites esenciales. Por el contrario, en las bacterias gramnegativas, su membrana externa, que rodea la pared celular, evita el flujo de los aceites esenciales hidrofóbicos a través de la capa de lipopolisacáridos. Esta es la razón por la cual las bacterias grampositivas son más sensibles a la acción de los EO. No obstante, algunos compuestos fenólicos con el timol y carvacrol, de bajo peso molecular, pueden fijarse a las bacterias gramnegativas al unirse con las proteínas de la membrana debido a sus grupos funcionales, llegando a la membrana vulnerable más interna (Laghmouchi et al., 2018). La perturbación en las estructuras de las células bacterianas implica la fuga de importantes iones y otros contenidos celulares además de la reducción del potencial de membrana y conjunto de ATP (Falleh et al., 2020).

Al evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de romero, se encontró que la concentración bactericida mínima (MBC, por sus siglas en inglés) era equivalente en la mayoría de patógenos a la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés). Los valores de MBC variaron de 0,12 a 0,5% (v/v), mientras que los de MIC variaron de 0,06 a 0,25% (v/v). Con esto se demostró el efecto bactericida del aceite esencial (Laghmouchi et al., 2018).

3.5.2. Mecanismo antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno, conocidas también como radicales libres, disminuyen la autoestabilidad en los sistemas alimenticios. Son especies químicas que tienen uno o más electrones no apareados, debido a esto son altamente inestables y causan daño a otras moléculas. Se originan como producto de reacciones biológicas como el metabolismo de los alimentos y respiración celular o factores exógenos como radiación ultravioleta y contaminación atmosférica. La oxidación es un proceso multilateral que produce efectos indeseados en las cualidades organolépticas de los alimentos y por lo tanto en su calidad. Se manifiesta a través de la decoloración y generación de sabores desagradables, tanto como la alteración de las proteínas, lípidos y vitaminas. Las empresas de alimentos prestan especial interés a los antioxidantes basados en productos naturales, debido a los informes de sospecha de carcinogenicidad de algunos antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado e hidroxianianisol butilado (Prakash et al.,2015). Los compuestos antioxidantes principales registrados son compuestos fenólicos, como el carvacrol, el timol y el eugenol ya que pueden donar átomos de hidrógeno a los radicales libres y transformarlos en productos más estables (Falleh et al.,2020).

3.5.3. Métodos de aplicación de aceites esenciales en la conservación de alimentos

En los sistemas alimentarios los protocolos aplicados para investigar la efectividad de los aceites esenciales se pueden dividir en tres grupos principales:

- Contacto directo con una solución de aceites esenciales y emulsiones
- Tratamiento con vapor de alimentos con aceites esenciales gaseosos.

- Inclusión de los aceites esenciales en películas comestibles o nanoportadores capaces de interactuar directamente con la atmósfera y la comida.

(Fancello et al.,2020)

3.5.3.1. Aplicación en contacto directo

Los aceites esenciales aplicados en forma líquida por contacto directo pueden añadirse como parte de la formulación o al final del procesamiento del alimento, tienen un menor efecto antimicrobiano que los otros métodos de aplicación, ya que las moléculas lipofílicas en la fase acuosa se asocian para formar micelas y por lo tanto restringen la unión de los aceites esenciales a los microorganismos. Al ser los aceites esenciales una mezcla de varios compuestos químicos, las proporciones de estos compuestos individuales son relativamente estables. No obstante, cada compuesto posee una volatilidad diferente y, cuando esta mezcla se introduce en un ambiente no saturado, los componentes volátiles empiezan a difundirse a diferentes velocidades dependiendo de su peso molecular, hasta que alcanzan el equilibrio si están en un ambiente cerrado (Reyes-Jurado et al.,2020). Además, algunos estudios evaluaron la efectividad de los aceites esenciales en contacto directo y muestran resultados menos eficaces en comparación con estudios *in vitro*, por ejemplo la MIC de 2.5 µl/ml del aceite esencial de tomillo contra *S. aureus* y *L. monocytogenes* fue efectivo durante 24 horas reduciendo drásticamente estos patógenos en el caldo a base de queso, sin embargo en el modelo de queso sólido se redujo el recuento de las mismas bacterias ligeramente durante 72 horas, Esto puede deberse a que en los alimentos las proteínas pueden formar complejos con constituyentes fenólicos presentes en las EO, mientras que los ácidos grasos encierran los constituyentes individuales hidrófobos de las EO, lo que hace que estos componentes no estén disponibles para atacar las células objetivo (de Carvalho et al., 2015).

3.5.3.2. Tratamiento con aceites esenciales gaseosos

Los gases de aceites esenciales no se colocan directamente, pero pueden ser usados como elementos desinfectantes en la superficie del alimento o en superficies en contacto con alimentos. También pueden ser usados como agentes antimicrobianos primarios en el envase de alimentos. La ventaja principal de utilizar EO gaseosos es que con frecuencia causan mínimas alteraciones en las cualidades organolépticas de los alimentos a causa de que existe una penetración insignificante en el área subsuperficial. Los EO gaseosos ejercen un mayor efecto antimicrobiano contra bacterias de descomposición y los patógenos transmitidos por alimentos que los aceites esenciales líquidos, en una investigación se comparó la zona de inhibición de aceite esencial de hierba luisa líquido y gaseoso, a las mismas concentraciones contra *E. coli*, en los resultados obtuvieron que la zona de inhibición para el aceite gaseoso fue de 60 mm y para el líquido fue de 20 mm (Fancello et al., 2020). Existen varios ensayos para evaluar la eficacia de los aceites esenciales gaseosos, entre los cuales se pueden mencionar:

- Placa de Petri invertida: En la superficie interna de una placa de Petri se coloca un disco de papel estéril impregnado con un volumen conocido de aceite esencial, luego se inocula el microorganismo a prueba, se cierra la placa y se hace un recuento de supervivencia.
- Creación de una atmósfera de EO utilizando una caja de vidrio o plástico: Se utiliza una caja herméticamente sellada con un volumen superior a 1L, con una tapa transparente y se coloca un agar inoculado dentro de la caja por separado de una concentración conocida de EO.

- Vial de policarbonato autoclavable: Aparato que consta de un pozo inferior y uno superior, en un medio sólido ubicado en el pozo superior se inocula el microorganismo a evaluar y en el pozo inferior se genera vapor a partir de un EO líquido.
- Ensayo de fase de vapor del tapón de agar: Una tapa de microtubo que contiene una concentración específica de EO está incrustada en una tapa de agar, se coloca una suspensión bacteriana en un tapón de agar y se incuba durante 24 horas a 37°C.

(Reyes- Jurado et al., 2020).

3.5.3.3. Encapsulación de aceites esenciales

La microencapsulación se ha investigado continuamente en la ciencia de los alimentos, evaluando una amplia variedad de materiales encapsulados, mientras se busca una alta resistencia de los materiales a las condiciones de procesamiento y a la estabilidad de las características de calidad de cada producto alimenticio durante su almacenamiento. Entre los materiales utilizados para la encapsulación, se encuentran las proteínas de origen vegetal, como los aislados de soja, guisantes y varios cereales. Existen algunas técnicas de encapsulación como liofilización, polimerización interfacial, secado por pulverización, inclusión molecular, revestimiento de lecho fluidizado por pulverización superior, coacervación simple, coacervación compleja y emulsificación. Los métodos más utilizados para aceites esenciales son el secado por pulverización y coacervación compleja (Dávila-Rodríguez et al., 2020). La coacervación compleja es un método de encapsulación en el que existe una atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas (proteína y polisacárido). Como resultado, se obtiene un coacervado, que consiste en dos fases líquidas inmiscibles (Hernández-Nava et al., 2020). Por otro

lado, en el secado por pulverización existe un proceso de emulsificación inicial, en el que los materiales de la cápsula se usan como estabilizadores para los materiales del núcleo (los aceites esenciales). Después, las emulsiones se convierten en un polvo que fluye libremente. En general este proceso tiene una producción continua, rentable, fácil industrialización, operación a alta velocidad y producción de partículas de buena calidad (Mehran et al., 2020).

3.5.3.4. Embalajes activos

Los embalajes activos han evolucionado mucho en los últimos años y ganado considerable popularidad. Uno de sus mecanismos de acción es la migración de componentes activos desde el envasado hasta el alimento, que se encuentran en contacto directo, para desempeñar su función. Las películas son láminas delgadas elaboradas previamente para colocarlas en el producto como cubierta, embalaje o envoltura, mientras que los recubrimientos son láminas formadas directamente sobre la superficie del producto. Existen también películas o recubrimientos comestibles que además de prolongar la vida útil del alimento, se pueden comer junto con estos, los aceites esenciales se agregan durante su preparación, en la fundición del material. (Jugreet et al., 2020).

Los recubrimientos alimenticios son usados para evitar la pérdida de humedad y daños físicos, además son portadores apropiados para especias, aromatizantes, nutrientes, antioxidantes, colorantes y antimicrobianos. Uno de los materiales usado como recubrimiento es el alginato de sodio. Es una sal de ácido algínico aislada de algas pardas (*Phaeophyceae*). Las especies principales para producir alginato son *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystus pyrifera* y *Laminaria hyperborea*. Este recubrimiento comestible tiene propiedades coloidales únicas que

le otorgan su capacidad para espesar, formar gel y estabilizar la emulsión formada con el aceite esencial (Raeisi et al., 2019).

3.5.3.5. Dosis sinérgicas de los aceites esenciales

Uno de los inconvenientes más grandes de colocar aceites esenciales como conservantes en los alimentos es el requisito de utilizar dosis muy altas para que puedan ser eficaces, lo cual produce efectos negativos en sus cualidades organolépticas. Aplicar aceites en combinación podría mejorar sus efectos conservadores, reduciendo los impactos sensoriales al aplicarlos en dosis más bajas. Dos o más agentes en combinación interactúan de diferentes maneras que conducen a uno de los cuatro posibles efectos: sinergia, sinergia parcial, sin efecto y antagonismo. El mecanismo subyacente al efecto sinérgico es la complejidad de las estructuras de sus componentes. Los diferentes tipos de componentes en la combinación pueden funcionar sinérgicamente para afectar múltiples procesos bioquímicos en las bacterias, reforzando el efecto de cada uno (Chouhan et al., 2017) En un estudio en el 2017 se analizó la actividad sinérgica de carvacrol y timol contra *E. coli* para películas de envasado en alimentos, en los resultados se mostraron que con una MIC individual de 200 mg/l para carvacrol y 100 mg/l para timol se erradicó en su totalidad el recuento de esta bacteria y por el contrario en la literatura se mencionaba que era necesario una MIC de 350 mg/l para carvacrol y 400 mg/l para timol, al erradicar *E. coli*, con lo cual se demostró su efecto sinérgico de estos dos compuestos (Krepker et al., 2017).

3.5.4. Conservación de alimentos de corta vida útil

3.5.4.1. Conservación de queso fresco

De Carvalho et al. (2015) realizaron un estudio de aceite esencial de tomillo, *Thymus vulgaris*, en quesos frescos y de baja maduración ya que son susceptibles a *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, bacterias patógenas. Además, analizaron los efectos sobre el cocultivo iniciador mesofílico *L. lactis subsp. lactis* y *L. lactis subsp. cremoris*. Se analizó en un caldo a base de queso y en un modelo semisólido de queso, con una calidad sanitaria adecuada y satisfactoria. Como resultados, se obtuvo que el cocultivo tuvo una mayor sensibilidad al aceite esencial de tomillo pues la MIC fue menor para afectarlo, en comparación con la MIC necesaria para contrarrestar los patógenos (Tabla 3.). Los valores de MIC bajos contra patógenos se debe a la fuerte actividad antimicrobiana del perfil de los componentes de EO. La actividad más alta de sus componentes se da en el siguiente orden: fenoles > aldehídos > cetonas > alcoholes > éteres > hidrocarburos. En el estudio, la MIC fue baja porque el EO presentaba timol como componente principal, que es un monoterpeno con anillo fenólico. Este componente en particular daña la membrana citoplasmática bacteriana, lo que ocasiona el colapso de la fuerza motriz del protón y agotamiento del conjunto de ATP con eventual muerte celular. En el caldo a base de queso, se probaron distintas concentraciones de aceite esencial 2,5 µl/ml y 5 µl/ml, mostrando la última concentración una fuerte reducción con el tiempo para las bacterias patógenas. Con curvas de tiempo de muerte similares a las obtenidas para el cocultivo mesofílico cuando se expuso a el EO de tomillo a 2,5 µl. Por el contrario, cuando se expuso las mismas concentraciones en el modelo de queso semisólido, se presentó un aumento leve y lineal en el recuento de patógenos durante el tiempo evaluado. La causa de una mayor eficacia de los EO en el caldo a base de queso se debe a la composición de este sistema, pues podría afectar la eficacia antimicrobiana de las OE. Los sistemas que contienen mayores cantidades de proteínas y grasas, como el modelo de queso semisólido, disminuyen la eficacia de las OE.

Un estudio evaluó las cualidades fisicoquímicas y sensoriales en queso fresco durante su refrigeración con la adición sinérgica de aceites esenciales de romero, *Rosmarinus officinalis*, y orégano, *Origanum vulgare*, así como su efecto contra *Escherichia coli* e iniciador mesofílico (Tabla 3.) En este estudio, los EO se extrajeron por destilación a vapor y se colocaron en la fórmula del queso con ayuda de Tween 80 como emulsionante. Los quesos elaborados contaron con las especificaciones microbiológicas adecuadas y se envasaron en bolsas de polietileno estériles almacenándolos en refrigeración durante 21 días. Como resultados obtuvieron que, tras los ensayos de las concentraciones para la interacción sinérgica, se escogió las concentraciones más bajas, como efectivas, que las requeridas por cada EO de manera individual para su efecto inhibitorio. La sinergia entre estos EO está relacionada a la alteración desde el principio en las estructuras de la membrana bacteriana ocasionada por la alta hidrofobicidad de los compuestos como: timol, p-cimeno y carvacrol, los cuales favorecen a otros componentes como: eucaliptol, alcanfor y α -pineno para atravesar las membranas bacterianas y actuar directamente en las células. Este proceso puede causar pérdida de iones y reducción del potencial de membrana, pérdida de la función de las bombas de protones y agotamiento del ATP. De los ensayos tratados, una mezcla mostró un efecto aditivo en vez de sinérgico (aceite esencial de romero: 1,32 $\mu\text{g/ml}$ + 0,3 $\mu\text{g/ml}$ de aceite esencial de orégano). El contenido de todos los terpenos (provenientes de los EO) en el queso se redujo durante el periodo de almacenamiento. Los terpenos prevalentes en queso con EO de orégano y romero durante los 21 días de almacenamiento refrigerado fueron eucaliptol, alcanfor y α -pineno, por el contrario, el γ -terpineno y el carvacrol se detectaron solo inmediatamente después de la fabricación. Esto pudo estar relacionado con las características específicas de volatilidad y solubilidad de cada EO por su capacidad de reacción con compuestos del queso. Otro factor es la permeabilidad del empaque ocasionada por el aumento de agua dentro del mismo, la sinéresis puede provocar la volatilización de los terpenos. En el queso fresco sin OE, el recuento inicial de *E. coli* aumentó alrededor de 1,5 log UFC/g después de 6 días de almacenamiento en

refrigeración y se notó un incremento de aproximadamente 2,8 log UFC/g después de 21 días de almacenamiento, mientras que, en queso fresco con la mezcla de EO, el recuento de *E. coli* se redujo alrededor de 1,5 log UFC/g después de 6 días de almacenamiento. Además, se evidenció una disminución de 3 log UFC/g en los recuentos de *E. coli* después de 15 días de almacenamiento. Después no se evidenciaron cambios en el tiempo restante de almacenamiento evaluado. Por lo tanto, el uso de estos EO en sinergia disminuye la supervivencia de *E. coli* y no compromete la supervivencia de *Lactococcus sp.* (cocultivo iniciador), pero sí retrasa su crecimiento (Diniz-Silva et al., 2019).

Fogarasi et al. (2019) informaron que el aceite esencial de romero tiene una alta actividad antimicrobiana, presentando valores bajos de MIC contra cuatro bacterias del queso fresco, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes* (Tabla 3.). Se mostró que tiene una mayor efectividad antimicrobiana que el aceite esencial de menta. Sin embargo, muestra un menor porcentaje de aceptación en cuanto a las cualidades organolépticas en comparación con queso fresco y EO de menta. Así, el EO de romero mejora las propiedades antimicrobianas del queso fresco durante el tiempo de almacenamiento, conduciendo a la preservación natural del producto. En la composición del aceite esencial de orégano, el timol pertenece a la clase de los monoterpenos oxigenados y el resto, a los hidrocarburos monoterpenos.

Pieretti et al. (2019) investigaron la aplicación de recubrimientos comestibles con alginato de sodio y aceites esenciales de romero y orégano, por separado, como conservantes en queso fresco (Tabla 3.). Los aceites fueron extraídos por hidrodestilación de sus hojas secas. El recubrimiento con EO correspondió en promedio 3,0% del peso de la muestra, las muestras de queso se almacenaron en bandejas de poliestireno y cubrieron con una película estirada de cloruro de

polivinilo. Como resultados obtuvieron que los quesos con recubrimiento mostraron cantidades de *Salmonella* muy por debajo de la muestra sin recubrimiento desde el día 18 de almacenamiento, en especial el queso que contenía recubrimiento con aceite esencial de romero. Por otro lado, los valores del pH no fueron influenciados por el tipo de recubrimiento usado en referencia al queso sin recubrimiento agregado, los pH variaron de 6,00 a 6,96. Con respecto a la pérdida de masa, las muestras de queso con recubrimiento mostraron valores más bajos en relación a la muestra sin recubrimiento con una pérdida del 26% del peso total. Sin embargo, en los quesos con recubrimiento que incluían aceites esenciales, la eficacia para disminuir la pérdida de masa se redujo. Los quesos cuyos recubrimientos tenían aceite de orégano y aceite de romero obtuvieron valores finales de 20 y 21%, respectivamente, mientras que el recubrimiento sin aceites esenciales tuvo una pérdida del 16%. Todos los recubrimientos comestibles fueron eficaces como una barrera semipermeable a la humedad, evitando una mayor disminución de humedad. Esto se da por una función de barrera que evita variación en los carbohidratos del alimento ya que cuando en el alimento el porcentaje de humedad se reduce, se acumula un mayor porcentaje de carbohidratos. En cuanto a la textura, todas las muestras que contenían recubrimiento no presentaron variación durante los treinta días de almacenamiento en comparación con la muestra sin recubrimiento. Por otro lado, en todas las muestras se evaluaron los valores medios de color, resultando con el valor más satisfactorio en cuanto al tono de color (del verde al rojo) la muestra que tenía aceite esencial de romero y el más bajo el recubrimiento con EO de orégano. Por otro lado, en la evaluación sensorial obtuvo un valor más alto en aceptación la muestra con recubrimiento con EO de orégano.

Tabla 3.

Datos de aceites esenciales colocados en queso fresco.

Aceite esencial	Compuestos principales	Modo de aplicación	MIC	Acción del EO	Referencia
<i>Thymus vulgaris</i>	Timol (43,19%) p- cimeno (28,55%) γ-terpineno (6,36%) linalool (5,57%) carvacrol (3,14%)	Contacto directo	<i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> (2,5 µl/ml) <i>L. lactis subsp. Lactis</i> y <i>L. lactis subsp. cremoris</i> (1,25 µl/ml)	Daño de la membrana citoplasmática bacteriana	(de Carvalho et al., 2015)
EO en sinergia					
<i>Rosmarinus officinalis</i>	eucaliptol alcanfor α-pineno cariofileno canfeno	Contacto directo	<i>L. lactis subsp. lactis</i> y <i>L. lactis subsp. cremoris</i> (21,2 µl/ml) <i>E. coli</i> (1,32 µl/ml)	Alteración en las estructuras de la membrana bacteriana por alta hidrofobicidad de los componentes	(Diniz-Silva et al., 2019)
<i>Origanum vulgare</i>	timol		<i>L. lactis subsp. lactis</i>		

	p-cimeno carvacrol γ-terpineno		y <i>L. lactis</i> <i>subsp.</i> <i>cremoris</i> (0,6 μl/ml) <i>E. coli</i> (0,03 μl/ml)		
<i>Origanum vulgare</i>	D-limoneno (34%) timol (19,38%) p-cimeno (13,76%) gama terpineno (11,94%)	Contacto directo	<i>Salmonella</i> <i>enteritidis</i> (0,27 μl/ml) <i>E. coli</i> (0,22 μl/ml) <i>S. aureus</i> (0,13 μl/ml) <i>L.</i> <i>monocytoge</i> <i>nes</i> (0,13 μl/ml)	Membrana permeabiliz ada	(Fogarasi et al., 2019)
Recubrimiento comestible con alginato					
<i>Rosmarin us officinalis</i>	1,8 cineol (46,4%) canfor (11,4%) α-pineno (11%) β-pineno (9,2%)	Inclusión en película comestible	0,1 % en la formulación del recubrimient o	Alteración de la permeabilid ad de la membrana celular	(Pieretti et al.,2019)

	canfeno (5,2%)				
<i>Origanum vulgare</i>	-		0,06% en la formulación del recubrimient o		

3.5.4.2. Conservación de carne de pollo

Raeisi et al. (2019) evaluaron la efectividad del alginato de sodio como solución de recubrimiento, impregnado con aceite esencial de romero y canela para inhibir los cambios químicos y sensoriales en la carne fresca de pollo durante el almacenamiento en refrigeración. No se menciona en el estudio el método de extracción o el lugar de obtención de los aceites esenciales. Se analizaron 5 tratamientos, el control (C), muestra con recubrimiento solo con alginato (CA), recubrimiento de alginato con aceite esencial de canela (CEO), recubrimiento con alginato y aceite esencial de romero (REO) y recubrimiento de alginato con aceite esencial de romero y canela en combinación (CEO)+(REO). Se determinó la actividad antioxidante por medio de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH, por sus siglas en inglés) eliminación de radicales, contenido fenólico total, ensayo de blanqueo de β -caroteno, poder reductor y poder quelante. Los resultados arrojaron que el aceite esencial de romero tuvo una mayor actividad antioxidante en relación al aceite esencial de canela en cuanto a contenido fenólico (Tabla 4.). ensayo de blanqueo de β -caroteno / ácido linoleico y poder quelante. Por otro lado, los valores de peróxido (que indican el grado de oxidación) fueron más altos en las muestras de

control en todas las etapas del muestreo. Se registraron valores significativamente bajos en todos los tratamientos en el día 12, aun cuando los valores mucho más bajos fueron de las muestras REO y CEO+REO, por lo tanto, REO solo o en combinación mejora la actividad antioxidante del recubrimiento para pollo.

El contenido de carbonilo aumentó en todas las muestras durante 15 días. El grupo carbonilo es el resultado de la oxidación de los hidroperóxidos, responsable del sabor rancio de los alimentos fritos y disminuye su calidad nutricional. No se observó ningún efecto significativo respecto al carbonilo en CA, pero las muestras CEO, REO y CEO+REO mostraron una formación limitada de carbonilo, mostrando un efecto inhibitorio contra la oxidación de proteínas, la cual ocurre por la oxidación directa de las cadenas laterales en aminoácidos siendo responsable de esto la reacción con azúcares reductores. En la carne no oxidada, el contenido de carbonilo es de 1 nmol/mg de proteína, que va aumentando hasta 14 nmol/mg cuando ya está oxidada. En las muestras con CEO, REO y CEO+REO durante 15 días no alcanzó los 2 nmol/mg de proteína. Por otro lado, los valores de nitrógeno de trimetilamina y nitrógeno básico volátil total en la carne de pollo fueron significativamente más bajos en CEO, REO Y CEO+REO que en las muestras control durante los 15 días de almacenamiento. Estos valores se producen a partir de la descarboxilación enzimática microbiana de aminoácidos y su evaluación es un indicador aplicable en el deterioro de la carne de pollo. Después de los 9 y 12 días de almacenamiento, las puntuaciones sensoriales disminuyeron en la muestra control y CA mientras que las puntuaciones para recubrimientos con EO fueron más altas, en especial el recubrimiento con aceite esencial de canela. Además, retrasó el mal olor resultante de la oxidación de las grasas.

Tabla 4.

Contenido fenólico y concentración usada de aceite esencial de canela y romero.

Recubrimiento comestible con alginato			
Aceite esencial	Contenido fenólico total	Concentración	Referencia
<i>Cinnamomum verum</i>	193±4,29	5 mg/ml	(Raeisi et al., 2019)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	289±7,31	5 mg/ml	

En un estudio realizado en el 2018, se investigó en un lapso de 72 horas los efectos antimicrobianos contra *Salmonella spp.* y conservadores de los aceites esenciales de romero y albahaca agregados juntos o por separado en dos modelos de carne de pollo (cruda y procesada térmicamente) en dos temperaturas de almacenamiento. Los aceites esenciales se extrajeron por hidrodestilación de las partes aéreas de albahaca y, en el caso del romero, de las hojas y flores. Después se colocaron en los trozos de carne, sumergiéndolos en la solución con aceites esenciales durante 15 minutos y se analizaron después de 0, 24, 48 y 72 h. La actividad anti-Salmonella se determinó mediante microdilución mostrando una MIC requerida más baja en el caso del EO de albahaca (Tabla 5.). Algunos coliformes fecales y bacterias acidolácticas son partícipes importantes en el deterioro de la carne, por lo que fue necesario determinarlas. Se encontraron reducciones significativas en la aplicación de aceites solos y no en combinación, a temperatura ambiente (18°C) y después de 24 horas de incubación. El tratamiento con aceite esencial de romero resultó ser ligeramente más efectivo reduciendo coliformes fecales (1,75 log UFC/g), bacterias mesofílicas (1,28 log UFC/g), bacterias aerobias

(0,87 log UFC/g) y de ácido láctico (1,05 log UFC/g). Por el contrario, el aceite esencial de albahaca tuvo un efecto bactericida completo contra *Salmonella spp.* y reducción del crecimiento en 2,74 log UFC/g en el caso de *S. aureus*. La evaluación en carne almacenada a 4°C arrojó resultados diferentes ya que el efecto combinado de los aceites esenciales fue mucho más efectivo, donde se observó la mayor reducción del crecimiento bacteriano y bacterias psicotrópicas (más de 2 log UFC / g). La eficiencia del aceite esencial de albahaca coincide con la tratada a 18°C, ya que redujo completamente *Salmonella spp.* Después de 72 horas de almacenamiento en la carne a 4°C se observó una reducción de *Salmonella spp.* de 1,8, 1,82 y 1,75 log UFC/g para aceite esencial de romero, de albahaca y combinación de los dos, respectivamente. De este modo se asume que el aceite esencial de albahaca es más efectivo cuando se aplica a carne fresca, a diferencia del romero o combinación de los dos que es efectivo en carne más seca y procesada térmicamente, lo cual se puede atribuir a cambios en la composición de la carne después del procesamiento térmico, acompañados de una disminución de grasas, agua disponible, nutrientes y cambios en el pH. En el caso de las propiedades fisicoquímicas de la carne, los valores de color se mostraron más altos en cuanto a ligereza en los tratamientos con aceite esencial de albahaca. En el aspecto de enrojecimiento, no se mostraron diferencias significativas porque los aceites usados no contenían pigmentos. En general los tratamientos no mostraron ni mejoras ni efectos benéficos en el color de la carne hasta los tres días de almacenamiento. En cuanto, a textura, los parámetros de firmeza de corte y trabajo de corte no diferían significativamente con los tratamientos. Los valores de TBAR (indicador de oxidación lipídica) fueron más altos en la carne de control no tratada comparando con los tratamientos de aceites esenciales. Estos estabilizaron la oxidación de los lípidos en las muestras de carne. Por lo tanto, estos tratamientos representan un alto potencial en la conservación de carne de pollo (Stojanović-Radić et al., 2018).

Tabla 5.

Concentración y efectividad del aceite esencial de romero y albahaca en pollo.

Aceite esencial	Concentración utilizada	Modo de aplicación	Efectividad en carne de pollo	Referencia
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,0 mg/ml	Contacto directo	Reducción de la flora bacteriana mixta y una mayor eficiencia contra <i>Salmonella enteritidis</i> en carne procesada térmicamente	(Stojanović-Radić et al., 2018)
<i>Ocimum basilicum</i>	2,5 mg/ml	(Sumergiendo la carne pollo)	Eficiente contra patógenos bacterianos y contra <i>Salmonella enteritidis</i> en carne cruda.	

El polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) es un termoplástico de uso común y bajo costo. Se realizó una investigación sobre aceite esencial de clavo de olor infundido en una película LLDPE para el envasado de carne de pollo, no se menciona en el estudio el método de extracción o el lugar de obtención del EO. Este polímero necesita ser modificado para ejercer actividad antimicrobiana. En muchas investigaciones, se ha incorporado sorbato de potasio para reducir el crecimiento de levaduras y mohos. En dicha investigación, se informó sobre el efecto del aceite esencial de clavo como recubrimiento en la superficie de las películas LLDPE creadas por el tratamiento con ácido, contra *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium*. Se utilizaron películas de 9 x 5 cm, en las cuales, luego de realizar una modificación superficial, se colocaron 0,5g de aceite esencial de clavo, extendiéndolo por la superficie de las mismas. Para la verificación antimicrobiana en el pollo se utilizaron 2 g de pollo picado por muestra, se envolvieron en la película de LLDPE con aceite esencial de clavo e inocularon *S. Typhimurium* y *L. monocytogenes*. Se utilizó también una muestra control con LLDPE limpia. En los resultados, se mostró un aumento significativo de la amarillez en la película con aceite esencial de clavo. Esto debido a los pigmentos presentes en el mismo. Así, también en la película con EO, se observó una disminución significativa de la transmitancia, lo cual indica una capacidad superior de barrera UV ocasionada por el obstáculo del paso de la luz o su dispersión por las gotas de lípidos del aceite, distribuidas por toda la superficie del recubrimiento. Sin embargo, con respecto a la permeabilidad al oxígeno, el aceite aumenta la absorción de oxígeno, por lo que se incrementan los coeficientes de permeabilidad global, resultando como una desventaja. En el caso de la actividad antimicrobiana, las películas incorporadas por aceite esencial de clavo tuvieron una fuerte efectividad contra los dos patógenos de interés (*S. typhimurium* y *L. monocytogenes*), mostrando una inhibición desde el primer día, con un mejor resultado sobre *Listeria*. A los 7 días, se mostró una inhibición completa y una efectividad importante contra los microorganismos estudiados. Al día quinto de almacenamiento del pollo picado con la película con aceite esencial, no se encontró supervivencia de *S. typhimurium* y *L.*

monocytogenes y de igual manera no se detectó crecimiento microbiano después de 21 días de incubación en la película de LLDPE con EO. La concentración efectiva del aceite esencial fue de 0,05–0,04%. Su efectividad fue mayor para bacteria grampositivas debido a que en las gramnegativas existe una membrana externa adicional de la bacteria, lo que limita la dispersión de las sustancias hidrófobas a través de la membrana citoplasmática (Mulla et al., 2017).

3.5.4.3. Conservación de pescado

En un estudio en el que se evaluó la prolongación de la vida útil de filetes de trucha, se utilizó recubrimientos a base de goma farsi con aceites esenciales de clavo de olor y tomillo. La goma farsi es un polímero de carbohidrato, secretado por la corteza de los almendros de montaña (*Amygdalus scoparia Spach*) utilizado en recubrimientos antimicrobianos, presenta varias ventajas como su adhesividad intrínseca que ocasiona un proceso más eficiente. En la investigación, se evaluaron los efectos de los recubrimientos de goma farsi con emulsiones de aceites esenciales de clavo y tomillo en la preservación de la vida útil de trucha, almacenada en frío. Los aceites esenciales se colocaron individualmente o en combinación para verificar si existen efectos sinérgicos. Las plantas de clavo y tomillo procedentes de Irán se sometieron a hidrodestilación (tipo Clevenger). La actividad antioxidante se determinó calculando la actividad de eliminación de radicales libres y obtuvieron que el aceite esencial de clavo tiene mayor actividad antioxidante que el aceite esencial de tomillo y BHA (un antioxidante sintético estándar). También se encontró que existía un efecto sinérgico entre los dos aceites esenciales, ya que se evidencia una alta capacidad de eliminación de radicales libres (>57%) (Tabla 6.). El pH de los filetes fue evaluado durante el almacenamiento. El valor de pH está relacionado con factores como el tamaño de los peces, ubicación geográfica, composición del agua y nivel de estrés en la pesca. El pH inicial fue de 6,4. Las muestras sin recubrimiento al final del almacenamiento presentaron un pH de 7,6. Este aumento pudo estar

ocasionado por la actividad proteolítica de las bacterias psicrófilas y la actividad autolítica de las enzimas, las cuales forman compuestos nitrogenados básicos, como las aminas biogénicas y compuestos nitrogenados. La variación del pH en los filetes con recubrimientos y aceites esenciales no fue significativa. Uno de los factores más importantes de la calidad del pescado es el nitrógeno básico volátil total (TVB-N). El valor de 30-35 mg N/100 g de músculo de pescado indica el comienzo del deterioro del mismo. El límite de TVB-N para pescado de agua dulce es 25 mg N/100 g de músculo de pescado. La muestra control inició con 2,8 mg N/100 g y alcanzó 42 mg N/100 g después de 16 días. Hasta el día 12 las muestra con recubrimiento y EO no presentaron valores mayores que el límite aceptable, mientras que los valores en el día 12 para muestras control fueron superiores al límite aceptable. La mejor explicación para el crecimiento lento de estos valores en los filetes de pescado con EO es la facultad de desaminación de los compuestos nitrogenados no proteicos. El índice de peróxido (PV) muestra el progreso de oxidación midiendo los hidroperóxidos de la oxidación de lípidos. La cantidad más baja de PV se obtuvo en los filetes recubiertos que contienen 2% de EO de clavo de olor más EO de tomillo en la formulación de recubrimiento. En esta misma formulación también se mostró la cantidad más baja de TBAR (1,7 mg MDA eq. /kg, mg malondialdehído equivalente por kg de tejido) el malondialdehído es un biomarcador de estrés oxidativo. Con respecto a la calidad microbiológica de los filetes de pescado, se ha mostrado un rango de 2-6 logCFU/g para los recuentos totales viables (TVC) para los peces de agua dulce como trucha, perca plateada y tilapia. El valor del TVC hasta el día 12 sobrepasó los 7 log CFU/g en todos los tratamientos, aunque la tasa de crecimiento en las muestras con recubrimiento y emulsión de EO fue menor que en las muestras de control. Por otra parte, el crecimiento de bacterias psicrófilas en muestras sin recubrimiento fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que en otros tratamientos. Se informaron más efectos inhibitorios para bacterias psicrófilas en el recubrimiento de goma farsí con emulsión de aceites esenciales: 2% de aceite esencial de tomillo + 2% de aceite esencial de clavo. Por lo tanto, existió una actividad sinérgica entre estos aceites al

extender la vida útil de trucha refrigerada. La presencia de estos aceites aumentó la aceptabilidad organoléptica del pescado (Dehghani et al., 2018).

Tabla 6.

Concentración y eliminación de radicales libres del tomillo y clavo.

Aceite esencial	Compuestos principales	Concentración (ppm)	Eliminación de DPPH (%)	Referencia
<i>Thymus vulgaris</i>	timol (50,17%)	1000	93,7	(Dehghani et al., 2018).
	p-cimeno (13,71%)	500	84,8	
	carvacrol (13,60%)	100	81,1	
	γ-terpineno (5,03%)	50	30,5	
	α-pineno (3,13%)	10	29,9	
		1	16,6	
<i>Syzygium aromaticum</i>	eugenol (77,57%)	1000	53,5	
	acetato de eugenol (10,23%)	500	21,2	
	cariofileno (7,52%)	100	20,3	
	α-humuleno (1,66%)	50	15,2	
		10	13,5	
		1	8,2	

En una investigación se analizó la efectividad del aceite de limón nanoemulsificado y puro sobre las bacterias de descomposición de los peces. Las bacterias de descomposición en peces seleccionadas para el estudio fueron *Photobacterium damsela*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio vulnificus*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens* y *Pseudomonas luteola*. La planta de limón se adquirió en Turquía y se extrajo el aceite por hidrodestilación tipo Clevenger. La nanoemulsión se elaboró a partir de una mezcla de aceite de limón (10% p/p), Tween 80 (1% p/p) y agua (89% p/p), luego la mezcla se homogeneizó utilizando un homogeneizador ultrasónico durante 15 minutos a 72 amplitudes. La distribución del tamaño de partícula de las gotas (PDI) fue de 0,114 la cual representa una distribución de tamaño de partícula pequeña. El diámetro medio de gota fue 181,5 nm.

Debido a que las nanoemulsiones mejoran la estabilidad fisicoquímica de los aceites esenciales y aumentan la dispersabilidad en las matrices de alimentos, estas presentan una influencia significativa en su interacción con las células microbianas y su actividad biológica. Los resultados informados demuestran que la nanoemulsión de aceite esencial de limón ejerce una actividad antimicrobiana mucho más eficaz contra *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, que el aceite esencial de limón líquido al 10% y al 100%. Por otro lado, el aceite esencial de limón al 10% tenía fuerte efecto antimicrobiano en *Salmonella paratyphi A*, seguido de la nanoemulsión, lo cual confirma que convertir el EO en nanoemulsión mejora su efectividad antimicrobiana. Sin embargo, los efectos antimicrobianos del aceite esencial de limón y su nanoemulsión informaron que el aceite esencial al 100% fue más eficaz en especial contra *P. damsela*, *P. mirabilis*, *S. Liquefaciens* y *P. luteola* que la nanoemulsión excepto en *E. faecalis* y *V. vulnificus*. Los valores de MIC mostraron que el aceite esencial de limón al 100% y la nanoemulsión inhibieron el crecimiento bacteriano de todas las bacterias patógenas, pero fueron menos efectivas en las bacterias de descomposición de los peces. Sin embargo, el aceite esencial de limón al 10% mostró más efectividad contra las bacterias de

descomposición de los peces que contra los patógenos (Tabla 7.). (Yazgan et al., 2019).

Tabla 7.

Cantidad mínima inhibitoria utilizado como nanoemulsión y aceite esencial de limón contra bacterias en el pescado

			Nanoemulsión	Aceite esencial (100%)	Aceite esencial (10%)	Referencia
Aceite esencial	Compuestos principales	Bacterias de descomposición en el pescado	MIC mg/ml	MIC mg/ml	MIC mg/ml	
<i>Citrus limon</i>	d- limoneno (52,85%)	<i>Photobacterium damsela</i>	> 25	≥25	25	(Yazgan et al., 2019)
	p-cimeno (14,36%)					
	β-pineno (13,69%)	<i>Enterococcus faecalis</i>	> 25	≥25	12,5	
	α-pineno (3,73%)					
	β bisaboleno (1,64%)	<i>Vibrio vulnificus</i>	25	> 25	25	
	sabineno (1,60%)	<i>Proteus mirabilis</i>	> 25	> 25	6,25	

	limonen-1.2-diol (1,43%)	<i>Serratia liquefaciens</i>	6,25	6,25	1,56	
	α -bergamoteno (1,31%)	<i>Pseudomonas luteola</i>	6,25	3,125	> 25	

En otro estudio, se aislaron bacterias (34 cepas) de pescados y mariscos y se informó sobre la actividad antimicrobiana que el eneldo, *Anethum graveolens*, ejercía sobre estos. Se aislaron de peces frescos acuícolas: *Dicentrarchus labrax* (lubina) y *Sparus aurata* (dorada). Las semillas de eneldo, provenientes de plantas de Túnez, se sometieron a hidrodestilación con un aparato tipo Clevenger. La actividad antioxidante del eneldo utilizando pruebas como ensayo DPPH, poder reductor ferroso, capacidades para inhibir el blanqueo del β -caroteno obtuvieron 3000 $\mu\text{g/ml}$, mostrando menos actividad de eliminación de radicales libres en comparación con laurel, *Laurus nobilis*, y *Zingiber officinale*.

Las bacterias psicrófilas dominantes de los peces fueron *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas hydrophila* y *Photobacterium damselae*. La mayoría de las cepas de estas bacterias fueron capaces de producir varias exoenzimas. La actividad antibacteriana del eneldo fue eficaz contra las 34 cepas evaluadas con una zona de inhibición de 12,31 mm, pero su actividad fue menor en comparación con *Laurus nobilis* con una zona de inhibición 14,25 mm. Cuando se analizó el aceite esencial de eneldo contra *A. hydrophila*, aislado de los mejillones azules, *Mytilus galloprovincialis*, se mostró el mayor diámetro de inhibición (aproximadamente 25,33 mm). De hecho, también se informó que el EO de eneldo ejercía actividad contra cepas de bacterias y hongos transmitidas por los

alimentos, incluidas cuatro bacterias grampositivas (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis* y *L. monocytogenes*), cuatro bacterias gramnegativas (*E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. choleraesuis* y *P. aeruginosa*) y tres hongos (una levadura, *C. albicans* y dos mohos, *P. islandicum* y *A. flavus*) En cuanto a los valores de MIC y MBC el aceite esencial de eneldo junto con el de laurel y jengibre ejercieron actividad antibacteriana contra *A. hydrophila*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, cepas de *S. odorifera* y *V. alginolyticus*, con valores bajos de MIC desde 0,05 a 0,39 mg/ml. Por el contrario, se necesitaban altas concentraciones para el resto de las bacterias aisladas. Por lo tanto, aunque los tres aceites fueron efectivos, se encontró mayor eficacia en el EO de laurel contra el deterioro químico y microbiológico, evitando así los sabores y la formación de todos los agentes tóxicos anteriores (Snuossi et al., 2016).

3.5.4.4. Conservación del pan

En la investigación de la eficacia diez especies de aceites esenciales; tomillo, clavo, orégano, canela, romero, albahaca, comino, lavanda, hierba luisa y salvia contra cepas de *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus westerdijkiae*), también se evaluó el potencial de producción de micotoxinas a través de cromatografía en capa fina. Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación y son provenientes de Eslovaquia.

Los panes en rodajas fueron inoculados con 5 µl de suspensión de esporas de cada cepa de hongos. Luego se colocaron 100 µl de solución que incluía acetato de etilo + aceites esenciales de manera uniforme en un disco de papel con filtro insertado en la tapa de un frasco. Los frascos se cerraron y mantuvieron a temperatura ambiente durante 14 días en la oscuridad. El tratamiento control no recibió procedimiento con aceites esenciales. El eugenol, componente principal de los aceites de clavo y canela, se ha utilizado antes contra hongos (*Aspergillus* y

Candida) y confirmaron el mecanismo que ejerce: lesionar la membrana citoplasmática que conduce a la pérdida inherente de la viabilidad celular. También se informó del mecanismo del aceite esencial de tomillo, que se basa en inhibir el crecimiento de la pared celular al interrumpir la vía biosintética de esteroides, lo cual provoca una reducción de la biosíntesis de ergosterol, lo cual es importante por la interrupción del crecimiento de *Aspergillus*. Por otro lado, el carvacrol, compuesto principal en el orégano, actúa al reaccionar con la membrana celular o alterar la funcionalidad del material genético, así como conduciendo a la inactivación de enzimas esenciales. Como resultados se mostraron que los aceites esenciales de tomillo, clavo, canela, orégano, comino, lavanda y hierbaluisa, por separado, inhibieron en su totalidad el crecimiento de todos los hongos evaluados durante los 14 días de almacenamiento. Solo los aceites esenciales de albahaca, romero y salvia inhibieron parcialmente el crecimiento de las cepas analizadas. El aceite esencial de romero mostró la actividad antifúngica más pronunciada contra *A. ochraceus*, después de 14 días de cultivo. Los mejores valores mínimos inhibitorios (Tabla 8). contra las cepas analizadas fueron obtenidos en el aceite esencial de hierba luisa (15,625 µl/l de aire) seguido de aceite esencial de clavo (31,25 µl/l de aire).

Los ensayos antimicóticos in situ mostraron que el aceite de hierba luisa inhibió de manera significativa el crecimiento micelial radial, a concentraciones bajas, de tres cepas analizadas: *A. parasiticus*, *A. flavus* y *A. westerdijkiae* durante los 14 días. Además, informaron que los aceites esenciales eran efectivos, pero a una concentración más alta en comparación con los estudios in vitro. Los aceites esenciales de hierba luisa (en todas las concentraciones), orégano y tomillo (500 µl/l de aire) mostraron un efecto inhibitor pronunciado sobre la esporulación de todas las especies de *Aspergillus* evaluadas. A la misma concentración el aceite esencial de clavo y canela inhibieron más del 90% de la esporulación; la cepa más resistente fue *A. ochraceus*. El tomillo fue capaz de inhibir la esporulación de esta

cepa solo a 500 $\mu\text{L/L}$ de aire por completo. Respecto a la inhibición sobre la producción de micotoxinas, se informó que el aceite esencial de albahaca pudo inhibir al 100% la producción de ácido ciclopiazónico (contaminante con aflatoxinas) por *A. flavus* y Ocratoxina A por *A. westerdijkiae*. El aceite esencial menos efectivo en este ámbito fue el romero y más efectivo el aceite esencial de salvia. Con respecto al análisis sensorial determinaron que el uso de aceites esenciales como tomillo, canela, clavo y comino colocados en fase vapor como inhibidores de germinación no implica ningún efecto sobre las propiedades sensoriales en el pan (Císarová et al.,2020).

Tabla 8.

Cantidad mínima inhibitoria de varios aceites esenciales contra moho en el pan.

Aceites esenciales en fase vapor, MIC ($\mu\text{l/l}$ de aire)					
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	
<i>Thymus vulgaris</i>	31,25	31,25	15,625	15,625	(Císarová et al., 2020)
<i>Syzygium aromaticum</i>	31,25	31,25	31,25	31,25	
<i>Cinnamomum verum</i>	15,625	31,25	31,25	31,25	
<i>Origanum vulgare</i>	31,25	62,5	62,5	62,5	

Debonne et al. 2018 investigaron la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de tomillo en *Aspergillus niger* y *Penicillium paneum* en aplicación de trigo y masa

madre. Se realizaron ensayos tanto *in vivo* como *in vitro* de la actividad de aceite esencial de tomillo. No se menciona en el estudio el método de extracción o el lugar de obtención del aceite esencial. Los ensayos *in vivo* se llevaron a cabo a través de la caducidad de pan de masa fermentada y del trigo. Se evaluó la calidad de los panes horneados parcialmente. Se prepararon los siguientes panes: un control (sin conservantes), una referencia con 2000 mg de ácido propiónico/kg y 0,8, 0,15 y 0,20 ml de aceite esencial de tomillo/100 g de masa. La influencia del aceite de tomillo, pH y actividad de agua en el crecimiento de las bacterias evaluadas se determinaron *in vitro* a través de un ensayo de macrodilución. Como resultados, se informó que los valores de pH simulados a las condiciones de pan de masa fermentada y los valores de actividad de agua no mostraron ningún efecto significativo en el crecimiento radial, tiempo de fase de retraso y crecimiento máximo tanto de *A. niger* y *P. paneum*. Por otro lado, sí existió influencia por parte de la actividad antifúngica de aceite esencial de tomillo, ya que a medida que aumentaba la concentración del aceite también aumentaba la fase de retraso y disminuía la tasa de crecimiento máxima. Con respecto a los ensayos *in vivo* se informó que existió un retraso en las tasas de crecimiento de los mohos en el aire, debido a que no se detectó en el tiempo promedio de vida útil sin aceite esencial (14,4 días), sino que mostró un rango mucho más alto de vida útil. Al utilizar 0,08 ml/100 g de masa en aceite de tomillo, la vida útil se extendió ($25,6 \pm 13,8$ días) un rango mucho más amplio. A pesar de esto, existieron valores de correlación bajos entre la actividad *in vitro* del aceite esencial y en pan real. Esto se debe fundamentalmente a la falta de actividad de los componentes en la matriz alimentaria del pan o al tratamiento térmico de cocción que puede afectar al aceite esencial. En la prolongación de la vida útil son más importantes los efectos de la masa madre, la concentración de 30g de masa madre/100 g de masa provoca una vida útil más larga en el pan y genera un pH de 4,7. Sin embargo, la prolongación de la vida útil no es causa de pH bajos, más bien se atribuye a la formación de ácidos orgánicos como ácido láctico o acético debido a la fermentación de la masa. Otra causa puede ser la actividad antifúngica que ejercen en el pan las levaduras en la masa madre, por ejemplo, *Wyckerhamomyces*

anomalus y *Meyerozyma guilliermondii*. El volumen y el color del pan se vio afectado por la colocación de aceite esencial. La concentración de 0,15 ml/100 g de masa o más dio como resultado una reducción significativa del volumen ($p < 0,05$). Por lo tanto, en la investigación se sugiere trabajar con aceites menos aromáticos y aplicarlo en el alimento con otras técnicas para no reducir la concentración y su efectividad sin comprometer las cualidades del producto.

En otra investigación, se evaluó la aplicación in situ de nanocápsulas de zeína cargadas con *Origanum vulgare* Linneus y *Thymus vulgaris* como conservante en el pan. Los aceites de orégano y tomillo se encapsularon en nanocápsulas de zeína (Proteína del maíz, apta para conservar las propiedades de los compuestos en su interior) usando el método de nanoprecipitación con ayuda de un tensioactivo Pluronic no iónico. Los aceites esenciales se obtuvieron en la tienda comercial EPAGRI en Itajaí, Brasil. En la fase de disolvente del proceso de preparación de nanocápsulas, se agregó la zeína solubilizada, 0,114 ml de aceite de orégano con el contenido de 9,5 mg de timol / 100 mg y aceite esencial de tomillo, con el contenido de 6,4 mg de aceite de carvacrol/ 100 mg. Reportaron una eficiencia de 80-90% con respecto al contenido dentro de la matriz de polímero, es decir del método de encapsulación de las nanopartículas cargadas con aceites esenciales. La eficiencia de la encapsulación depende directamente de las características químicas del componente a encapsular y del tipo de recubrimiento utilizado; por ejemplo, cuando se encapsula aceite esencial de orégano en presencia de quitosano, tiene una eficiencia del 24% (Hosseini et al., 2013). Obtuvieron nanocápsulas de zeína y aceites de tomillo y orégano con una morfología sin poros, en forma de esfera, con la pared externa sin grietas ni fisuras, importante para mantener la protección. La capacidad antioxidante de las nanopartículas en la investigación pudo inhibir los radicales libres DPPH y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y actuar como antioxidante reduciendo los iones de hierro. Está en gran medida relacionado con los compuestos fenólicos totales del

aceite esencial con un coeficiente de correlación cercano a 1 (Tabla 9.). Las nanocápsulas con aceite esencial de orégano presentaron un valor más alto de inhibición de radicales libres DPPH. Esto se debe a que el carvacrol tiene una mayor actividad antioxidante que el timol.

La estabilidad de las nanocápsulas fue evaluada a temperatura ambiente (20 ± 5 ° C) y a temperatura de refrigeración (6 ± 2 ° C) durante 90 días. Como resultado se obtuvo que las nanocápsulas fueron estables dentro de las condiciones evaluadas. También se evaluó en temperatura de cocción similar a la del procesamiento del pan, en un horno a 200 ± 5 ° C durante 30 min, en la que se observó pérdida de masa de las nanocápsulas a 100°C , lo que se atribuye a la pérdida de agua. En cuanto a la degradación de sus componentes y estructura, se originó a una temperatura mayor a 300°C , la cual no se utiliza en productos horneados. Sin embargo, existe una reducción moderada de la eficiencia de la nanoencapsulación con aceites esenciales de orégano y tomillo, la temperatura de 200°C aumenta la energía cinética en el sistema (Gonçalves da Rosa et al., 2020).

La actividad antibacteriana de los aceites evaluados está relacionada con su mecanismo de aumentar la permeabilidad de la membrana plasmática bacteriana y permitir la entrada del material antimicrobiano al interior de la célula. La coagulación del citoplasma conduce a la pérdida de constituyentes celulares hacia el ambiente externo y al agotamiento de la fuerza motriz del protón. Existió mayor sensibilidad en las bacterias grampositivas, al analizar el tamaño del halo de inhibición. Por lo tanto, se requiere mayor concentración de agente antimicrobiano para conseguir la misma reacción que en las bacterias gramnegativas. La evaluación *in situ* de la actividad antibacteriana mostró que un alimento como el pan es un medio idóneo para poner a prueba los resultados *in vitro* de los antibacterianos, ya que tiene gran cantidad de nutrientes y presenta el nivel adecuado de actividad de agua favorable

para el crecimiento de moho y levadura. En la investigación se informó que se extendió la vida útil del pan en 21 días sin presentar moho y levadura gracias a la adición de nanocápsulas cargadas de EO. Se demostró que la zeína es eficaz protegiendo a los aceites en el proceso de horneado, en el estudio no se realizaron análisis organolépticos (Gonçalves da Rosa et al., 2020).

Tabla 9.

Compuestos fenólicos totales de las nanopartículas con orégano y tomillo y las colonias resultantes

Muestra	Compuestos fenólicos totales (mg TE/ ml)	Colonias de mohos y levaduras a los 21 días	Referencia
Nanopartículas sin aceite esenciales	0,91 ± 0,05	1,4 x 10 ³	(Gonçalves da Rosa et al., 2020)
Nanopartículas con aceite esencial de orégano	1,66 ± 0,05	Ausencia	
Nanopartículas con aceite esencial de tomillo	1,62 ± 0,09	Ausencia	

4. CONCLUSIONES

- Es bien sabido que la actividad antimicrobiana y antioxidante de los aceites esenciales depende fundamentalmente de su composición química. Sin embargo, el método de extracción desempeña un papel importante en la composición final del aceite, determinando su rendimiento y tiempo de extracción, si es apto o no para usar en alimentos y qué compuestos volátiles permanecerán. En consecuencia, la selección del método de extracción debe estar acorde con la aplicación futura y lo que se quiere lograr en el aceite esencial, por lo cual a partir de la literatura disponible se concluye que los métodos desarrollados en los últimos años como extracción asistida por microondas y fluido supercrítico pueden ser la mejor alternativa para este proceso, ya que conservan los compuestos bioactivos en los aceites y son eficientes en cuanto a tiempo y rendimiento.
- El uso de aceites esenciales como conservante en alimentos muestra varias ventajas, como la aceptación del consumidor por un producto “más natural”, la seguridad y no toxicidad para el ser humano y medio ambiente. No obstante, existen también desventajas y limitaciones, dentro de las cuales la más importante es su variabilidad química por varios factores como periodo de cosecha, factores edáficos, climáticos, geográficos y genéticos, los cuales ocasionan que la información proporcionada por los estudios revisados no sea definitiva en cuanto a los mecanismos de acción y naturaleza química de sus compuestos.
- En todas las investigaciones revisadas existió un amplio espectro de inhibición de algunas bacterias y retraso del fenómeno de oxidación con el uso de aceites esenciales aplicados en su mayoría con técnicas emergentes como la micro y nanotecnología que cada vez son más accesibles y mejoran

la solubilidad y bioaccesibilidad de los aceites esenciales para preservar la vida útil de los productos. Los aceites esenciales de romero y orégano fueron más eficaces como conservante en el queso. En el caso de pollo, el más eficaz fue el aceite esencial de albahaca. En el pescado, destacaron los aceites de clavo de olor y tomillo y en pan, los aceites esenciales de canela, tomillo y clavo de olor.

5. RECOMENDACIONES

- Como se pudo revisar en este artículo existe gran variación del perfil químico de los aceites esenciales y eso implica que existen mecanismos de acción aún no explorados que es necesario establecer para lograr una mayor comprensión de su uso y efectividad.
- Existe una cantidad limitada de estudios sobre el costo-beneficio de las técnicas de extracción para aceites esenciales, por lo que es necesario determinar las mejores técnicas de extracción para diferentes escenarios económicos a escala industrial.
- Estudios a futuro podrían explorar en la información detallada del antagonismo y sinergia de los compuestos individuales de los aceites esenciales en distintos alimentos.

REFERENCIAS

- Abdelli, W., Sysak, A., Bahri, F., Szumny, A., Pawlak, A., & Obmińska-Mrukowicz, B. (2019). Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of algerian thymus vulgaris L. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 76(6), 1051–1059. <https://doi.org/10.32383/appdr/112477>
- Ahmed, A. F., Attia, F. A. K., Liu, Z., Li, C., Wei, J., & Kang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.004>
- Alves, E. C., Soares, B. B., de Almeida Neto, J. A., & Rodrigues, L. B. (2019). Strategies for reducing the environmental impacts of organic mozzarella cheese production. *Journal of Cleaner Production*, 223, 226–237. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.006>
- Amelia, B., Saepudin, E., Cahyana, A. H., Rahayu, D. U., Sulistyoningrum, A. S., & Haib, J. (2017). GC-MS analysis of clove (*Syzygium aromaticum*) bud essential oil from Java and Manado. *AIP Conference Proceedings*, 1862(July). <https://doi.org/10.1063/1.4991186>
- Ammad, F., Moumen, O., Gasem, A., Othmane, S., Hisashi, K. N., Zebib, B., & Merah, O. (2018). The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil to control some fungal diseases of grapevine wood. *Comptes Rendus - Biologies*, 341(2), 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.crvl.2018.01.003>
- Anh, T. T., Thu Ngan, L. T., & Lam, T. D. (2019). Essential oil from fresh and dried Rosemary cultivated in Lam Dong province, Vietnam. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 544(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/544/1/012025>
- Aponte, M., Anastasio, A., Marrone, R., Mercogliano, R., Peruzzy, M. F., & Murru, N. (2018). Impact of gaseous ozone coupled to passive refrigeration system to maximize shelf-life and quality of four different fresh fish products. *Lwt*, 93(January), 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.073>
- Asbahani, A. El, Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1–2), 220–243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Baj, T., Biernasiuk, A., Wróbel, R., & Malm, A. (2020). Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Open Chemistry*, 18(1), 108–118. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0011>
- Benmoussa, H., Elfalleh, W., He, S., Romdhane, M., Benhamou, A., & Chawech, R. (2018). Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from Tunisian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 124(August), 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.036>

- Brown, S. R. B., Forauer, E. C., & D'Amico, D. J. (2018). Effect of modified atmosphere packaging on the growth of spoilage microorganisms and *Listeria monocytogenes* on fresh cheese. *Journal of Dairy Science*, *101*(9), 7768–7779. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14217>
- Bukvicki, D., Giweli, A., Stojkovic, D., Vujisic, L., Tesevic, V., Nikolic, M., Sokovic, M., & Marin, P. D. (2018). Short communication: Cheese supplemented with *Thymus algeriensis* oil, a potential natural food preservative. *Journal of Dairy Science*, *101*(5), 3859–3865. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13714>
- Castañeda-ruelas, G., C, D., Eslava-campos, C., C, D., Campo, N. C., C, D., León-félix, J., C, D., Chaidez-quiros, C., & C, D. (2014). *ENSAYO Listeriosis en México : importancia clínica y epidemiológica*. *56*(6).
- Chouhan, S., Kanika Sharma, & Sanjay Guleria. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, *4*(4), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- Chraibi, M., Farah, A., Elamin, O., Iraqui, H. M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020). Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, *8*(2), 46–51. <https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR>
- Chrysargyris, A., Mikallou, M., Petropoulos, S., & Tzortzakis, N. (2020). Profiling of essential oils components and polyphenols for their antioxidant activity of medicinal and aromatic plants grown in different environmental conditions. *Agronomy*, *10*(5), 1–28. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050727>
- Ciriminna, R., Fidalgo, A. M., Carnaroglio, D., Tamburino, A., Cravotto, G., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2017). Lemon Essential Oil of Variable Composition by Changing the Conditions of the Extraction from Lemon Peel via Microwave Hydrodiffusion and Gravity. *ChemistrySelect*, *2*(24), 7123–7127. <https://doi.org/10.1002/slct.201701471>
- Císarová, M., Hleba, L., Medo, J., Tančinová, D., Mašková, Z., Čuboň, J., Kováčik, A., Foltinová, D., Božik, M., & Klouček, P. (2020). The in vitro and in situ effect of selected essential oils in vapour phase against bread spoilage toxicogenic aspergilli. *Food Control*, *110*(November 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107007>
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, *139*(June), 111498. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111498>
- Da Silva Moura, E. da S., D'Antonino Faroni, L. R., Fernandes Heleno, F. F., Aparecida Zinato Rodrigues, A. A. Z., Figueiredo Prates, L. H., & Lopes Ribeiro de Queiroz, M. E. (2020). Optimal Extraction of *Ocimum basilicum* Essential Oil by Association of Ultrasound and Hydrodistillation and Its Potential as a Biopesticide against a Major Stored Grains Pest. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules25122781>
- Dajic Stevanovic, Z., Sieniawska, E., Glowniak, K., Obradovic, N., & Pajic-Lijakovic, I. (2020). Natural Macromolecules as Carriers for Essential Oils: From Extraction to

- Biomedical Application. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(June), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00563>
- Dao, T. P., Tran, T. H., Nguyen, P. T. N., Tran, T. K. N., Ngo, T. C. Q., Nhan, L. T. H., Anh, T. T., Toan, T. Q., Quan, P. M., & Linh, H. T. K. (2020). Optimization of microwave assisted hydrodistillation of essential oil from lemon (*Citrus aurantifolia*) leaves: Response surface methodology studies. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(2), 0–8. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/736/2/022038>
- De Carvalho, R. J., de Souza, G. T., Honório, V. G., de Sousa, J. P., da Conceição, M. L., Maganani, M., & de Souza, E. L. (2015). Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiology*, 52, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.07.003>
- Debonne, E., Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Devlieghere, F., & Eeckhout, M. (2018). Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 368–378. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.007>
- Dehghani, P., Hosseini, S. M. H., Golmakani, M. T., Majdinasab, M., & Esteghlal, S. (2018). Shelf-life extension of refrigerated rainbow trout fillets using total Farsi gum-based coatings containing clove and thyme essential oils emulsions. *Food Hydrocolloids*, 77, 677–688. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.009>
- Demirok Soncu, E., Özdemir, N., Arslan, B., Küçükkaya, S., & Soyer, A. (2020). Contribution of surface application of chitosan–thyme and chitosan–rosemary essential oils to the volatile composition, microbial profile, and physicochemical and sensory quality of dry-fermented sausages during storage. *Meat Science*, 166(March), 108127. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108127>
- Diniz-Silva, H. T., Batista de Sousa, J., da Silva Guedes, J., Ramos do Egypto Queiroga, R. de C., Madruga, M. S., Tavares, J. F., Leite de Souza, E., & Magnani, M. (2019). A synergistic mixture of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils to preserve overall quality and control *Escherichia coli* O157:H7 in fresh cheese during storage. *Lwt*, 112(December 2018), 107781. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.039>
- Diniz-Silva, H. T., Brandão, L. R., de Sousa Galvão, M., Madruga, M. S., Maciel, J. F., Leite de Souza, E., & Magnani, M. (2020). Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Escherichia coli* O157:H7 in Minas Frescal cheese made with oregano and rosemary essential oils. *Food Microbiology*, 86(March 2019), 103348. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103348>
- Dos Santos Paglione, I., Galindo, M. V., de Medeiros, J. A. S., Yamashita, F., Alvim, I. D., Ferreira Grosso, C. R., Sakanaka, L. S., & Shirai, M. A. (2019). Comparative study of the properties of soy protein concentrate films containing free and encapsulated oregano essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 22(October), 100419. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100419>
- Falleh, H., Ben Jemaa, M., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative Falleh, H., Ben Jemaa, M., Saada, M., & Ksouri, R. (2020).

- Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330(June), 127268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268>. *Food Chemistry*, 330(June), 127268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268>
- Fancello, F., Petretto, G. L., Marceddu, S., Venditti, T., Pintore, G., Zara, G., Mannazzu, I., Budroni, M., & Zara, S. (2020). Antimicrobial activity of gaseous Citrus limon var pompia leaf essential oil against *Listeria monocytogenes* on ricotta salata cheese. *Food Microbiology*, 87(October 2019), 103386. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103386>
- Farhat, A., Benmoussa, H., Bachoual, R., Nasfi, Z., Elfalleh, W., Romdhane, M., & Bouajila, J. (2017). Efficiency of the optimized microwave assisted extractions on the yield, chemical composition and biological activities of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.07.011>
- Farias, A. P. P., Monteiro, O. dos S., da Silva, J. K. R., Figueiredo, P. L. B., Rodrigues, A. A. C., Monteiro, I. N., & Maia, J. G. S. (2020). Chemical composition and biological activities of two chemotype-oils from *Cinnamomum verum* J. Presl growing in North Brazil. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04288-7>
- Farsaraei, S., Moghaddam, M., & Pirbalouti, A. G. (2020). Changes in growth and essential oil composition of sweet basil in response of salinity stress and superabsorbents application. *Scientia Horticulturae*, 271(May), 109465. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109465>
- Ferreira, D. F., Lucas, B. N., Voss, M., Santos, D., Mello, P. A., Wagner, R., Cravotto, G., & Barin, J. S. (2020). Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Industrial Crops and Products*, 145(August 2019), 112094. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112094>
- Ferreira, V. R. F., Brandão, R. M., Freitas, M. P., Saczk, A. A., Felix, F. S., Silla, J. M., Teixeira, M. L., & Cardoso, M. D. G. (2019). Colorimetric, electroanalytical and theoretical evaluation of the antioxidant activity of: *Syzygium aromaticum* L., *Origanum vulgare* L., *Mentha spicata* L. and *Eremanthus erythropappus* M. essential oils, and their major constituents. *New Journal of Chemistry*, 43(20), 7653–7662. <https://doi.org/10.1039/c8nj05893h>
- Fogarasi, M., Socaci, S. A., Fogarasi, S., Jimborean, M., Pop, C., Tofană, M., Rotar, A., Tibulca, D., Salagean, D., & Salanta, L. (2019). Evaluation of biochemical and microbiological changes occurring in fresh cheese with essential oils during storage time. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia*, 64(2 Tom2), 527–537. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2019.2.45>
- García-Gómez, B., Vázquez-Odériz, M. L., Muñoz-Ferreiro, N., Romero-Rodríguez, M. Á., & Vázquez, M. (2019). Interaction between rennet source and transglutaminase in white fresh cheese production: Effect on physicochemical and textural properties. *Lwt*, 113(June), 108279. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108279>
- García-Pérez, J. S., Cuéllar-Bermúdez, S. P., Arévalo-Gallegos, A., Salinas-Salazar, C., Rodríguez-Rodríguez, J., de la Cruz-Quiroz, R., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R.

- (2020). Influence of Supercritical CO₂ Extraction on Fatty Acids Profile, Volatile Compounds and Bioactivities from *Rosmarinus officinalis*. *Waste and Biomass Valorization*, 11(4), 1527–1537. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0408-5>
- Golmakani, M. T., & Moayyedi, M. (2016). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation and solvent-less microwave extraction of essential oil from dry and fresh Citruslimon (Eureka variety) peel. *Journal of Essential Oil Research*, 28(4), 272–282. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1145606>
- Gonçalves da Rosa, C., Zapelini de Melo, A. P., Sganzerla, W. G., Machado, M. H., Nunes, M. R., Vinicius de Oliveira Brisola Maciel, M., Bertoldi, F. C., & Manique Barreto, P. L. (2020). Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. *Food Hydrocolloids*, 99(August 2019), 105339. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105339>
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Hoti, S. L., & Benelli, G. (2016). Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Research in Veterinary Science*, 104, 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.11.011>
- Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S., & Jafari, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*, 236(November 2019), 116075. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116075>
- Hanif, M. A., Nawaz, H., Ayub, M. A., Tabassum, N., Kanwal, N., Rashid, N., Saleem, M., & Ahmad, M. (2017). Evaluation of the effects of Zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 96, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.058>
- Haqqyana, H., Tania, V. F. W., Suyadi, A. M., Kusuma, H. S., Altway, A., & Mahfud, M. (2020). Kinetic study in the extraction of essential oil from clove (*Syzygium aromaticum*) stem using microwave hydrodistillation. *Moroccan Journal of Chemistry*, 8(S1), 64–71.
- Hassanein, H. D., El-Gendy, A. E. N. G., Saleh, I. A., Hendawy, S. F., Elmissiry, M. M., & Omer, E. A. (2020). Profiling of essential oil chemical composition of some Lamiaceae species extracted using conventional and microwave-assisted hydrodistillation extraction methods via chemometrics tools. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(3), 329–340. <https://doi.org/10.1002/ffj.3566>
- Hatami, T., Johner, J. C. F., Zabet, G. L., & Meireles, M. A. A. (2019). Supercritical fluid extraction assisted by cold pressing from clove buds: Extraction performance, volatile oil composition, and economic evaluation. *Journal of Supercritical Fluids*, 144(June 2018), 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.10.003>
- Hernández-Nava, R., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munguía, M. T. (2020). Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. *Food Hydrocolloids*, 109(June), 106077. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106077>

- Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science and Technology*, 101(March), 89–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.025>
- Kaur, K., Kaushal, S., & Rani, R. (2019). Chemical Composition, Antioxidant and Antifungal Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil, its Major Compound and its Derivatives. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(5), 1195–1217. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1688689>
- Kazemi, M., & Abdossi, V. (2015). CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OILS OF ANETHUM GRAVEOLENS L. 44(1), 159–161.
- Kim, H. J., Kim, H. J., Jeon, J. J., Nam, K. C., Shim, K. S., Jung, J. H., Kim, K. S., Choi, Y., Kim, S. H., & Jang, A. (2020). Comparison of the quality characteristics of chicken breast meat from conventional and animal welfare farms under refrigerated storage. *Poultry Science*, 99(3), 1788–1796. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.009>
- Król, B., & Kiełtyka-Dadasiewicz, A. (2015). Yield and herb quality of thyme (*Thymus vulgaris* L.) depending on harvest time. *Turkish Journal of Field Crops*, 20(1), 78–84. <https://doi.org/10.17557/1.89347>
- Kusuma, H. S., Putri, D. K. Y., Dewi, I. E. P., & Mahfud, M. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oil from dried basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Chemistry and Chemical Technology*, 12(4), 543–548. <https://doi.org/10.23939/chcht12.04.543>
- Laghmouchi, Y., Belmehdi, O., Senhaji, N. S., & Abrini, J. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum compactum* Benth. essential oils from different areas at northern Morocco. *South African Journal of Botany*, 115, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.02.002>
- León, C., Jordán, E. P., Salazar, K., Castellanos, E. X., & Salazar, F. W. (2020). Extraction system for the industrial use of essential oil of the subtle lemon (*Citrus aurantifolia*). *Journal of Physics: Conference Series*, 1432(1), 0–11. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1432/1/012044>
- Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Wu, C., Rao, Z., Du, L., Zhao, R., Yi, M., Wan, Q., & Zhou, Y. (2020). Fish consumption and multiple health outcomes: Umbrella review. *Trends in Food Science and Technology*, 99(February), 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.033>
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, A. I., Gutiérrez-Praena, D., Jos, A., & Cameán, A. M. (2015). In vitro toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 81, 9–27. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.03.030>
- Maharaj, S., & McGaw, D. (2020). Mathematical model for the removal of essential oil constituents during steam distillation extraction. *Processes*, 8(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/PR8040400>
- Majdinasab, M., Niakousari, M., Shaghaghian, S., & Dehghani, H. (2020). Antimicrobial and antioxidant coating based on basil seed gum incorporated with Shirazi thyme and summer savory essential oils emulsions for shelf-life extension of refrigerated chicken

- fillets. *Food Hydrocolloids*, 108(May), 106011.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106011>
- Malsawmtluangi, L., Nautiyal, B. P., Hazarika, T., Chauhan, R. S., & Tava, A. (2016). Essential oil composition of bark and leaves of *Cinammoum verum* Bertch. & Presl from Mizoram, North East India. *Journal of Essential Oil Research*, 28(6), 551–556.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1167131>
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Microencapsulation of *Mentha spicata* essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial Crops and Products*, 154(June), 112694. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112694>
- Modi, P. I., Parikh, J. K., & Desai, M. A. (2019). Sono-hydrodistillation: Innovative approach for isolation of essential oil from the bark of cinnamon. *Industrial Crops and Products*, 142(August), 111838. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111838>
- Moosavy, M. H., Hassanzadeh, P., Mohammadzadeh, E., Mahmoudi, R., Khatibi, S. A., & Mardani, K. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of lemon (*Citrus limon*) peel in vitro and in a food model. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 4(2), 42–48.
- Morsy, N. F. S. (2020). Production of thymol rich extracts from ajwain (*Carum copticum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) using supercritical CO₂. *Industrial Crops and Products*, 145(July 2019), 112072. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112072>
- Mulla, M., Ahmed, J., Al-Attar, H., Castro-Aguirre, E., Arfat, Y. A., & Auras, R. (2017). Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. *Food Control*, 73, 663–671.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.018>
- Nie, J. Y., Li, R., Jiang, Z. T., Wang, Y., Tan, J., Tang, S. H., & Zhang, Y. (2020). Antioxidant activity screening and chemical constituents of the essential oil from rosemary by ultra-fast GC electronic nose coupled with chemical methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture, March*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10388>
- Olea, M. F., López, M. del C., & López, H. (2012). *Aspectos bromatológicos de conservantes y colorantes: Toxicología alimentaria*.
- Prabhakar, P. K., Vatsa, S., Srivastav, P. P., & Pathak, S. S. (2020). A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. *Food Research International*, 133(December 2019), 109157.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109157>
- Prakash, B., Kedia, A., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2015). Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges. *Food Control*, 47, 381–391.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>
- Radivojac, A., Bera, O., Micić, D., Đurović, S., Zeković, Z., Blagojević, S., & Pavlić, B. (2020). Conventional versus microwave-assisted hydrodistillation of sage herbal dust: Kinetics modeling and physico-chemical properties of essential oil. *Food and Bioprocess Processing*, 3, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.015>

- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Guido, F., Kiliñarslan, Ö., Mammadov, R., & Bardaweel, S. K. (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *19*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y>
- Rostaei, M., Fallah, S., Lorigooini, Z., & Abbasi Surki, A. (2018). The effect of organic manure and chemical fertilizer on essential oil, chemical compositions and antioxidant activity of dill (*Anethum graveolens*) in sole and intercropped with soybean (*Glycine max*). *Journal of Cleaner Production*, *199*, 18–26. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.141>
- Sadeh, D., Nitzan, N., Chaimovitsh, D., Shachter, A., Ghanim, M., & Dudai, N. (2019). Interactive effects of genotype, seasonality and extraction method on chemical compositions and yield of essential oil from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Industrial Crops and Products*, *138*(May), 111419. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.068>
- Said-Al Ahl, H. A. H., & Omer, E. A. (2016). Impact of cultivar and harvest time on growth, production and essential oil of *Anethum graveolens* cultivated in Egypt. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *8*(4), 54–60.
- Sánchez, J., & Delgado, P. (2016). Isolation and Identification of β -hemolytic *Aeromonas* species and *Vibrio* species Potentially Virulent in Seafood Sold in Bogota, Colombia. *Revista de La Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, *24*(39), 40–72.
- Sharma, K., Guleria, S., Razdan, V. K., & Babu, V. (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*, *154*(May), 112569. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112569>
- Shiwakoti, S., Saleh, O., Poudyal, S., Barka, A., Qian, Y., & Zheljzakov, V. D. (2017). Yield, Composition and Antioxidant Capacity of the Essential Oil of Sweet Basil and Holy Basil as Influenced by Distillation Methods. *Chemistry and Biodiversity*, *14*(4). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600417>
- Singh Chouhan, K. B., Tandey, R., Sen, K. K., Mehta, R., & Mandal, V. (2019). Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: Time to replace traditional distillation. *Trends in Food Science and Technology*, *92*(June), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.006>
- Snuossi, M., Trabelsi, N., Taleb, S. Ben, Dehmeni, A., Flamini, G., & De Feo, V. (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: Composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, *21*(10). <https://doi.org/10.3390/molecules21101414>
- Stanojević, L. P., Radulović, N. S., Djokić, T. M., Stanković, B. M., Ilić, D. P., Cakić, M. D., & Nikolić, V. D. (2015). The yield, composition and hydrodistillation kinetics of the essential oil of dill seeds (*Anethi fructus*) obtained by different hydrodistillation techniques. *Industrial Crops and Products*, *65*, 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.067>

- Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jakanović, M., Ivić, M., Šojić, B., Škaljac, S., Stojanović, P., & Mihajilov-Krstev, T. (2018). Inhibition of Salmonella Enteritidis growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, 90, 332–343. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.013>
- Todd, R., & Baroutian, S. (2017). A techno-economic comparison of subcritical water, supercritical CO₂ and organic solvent extraction of bioactives from grape marc. *Journal of Cleaner Production*, 158, 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.05.043>
- Tran, T. H., Nguyen, H. H. H., Nguyen, D. C., Nguyen, T. Q., Tan, H., Nhan, L. T. H., Nguyen, D. H., Tran, L. D., Do, S. T., & Nguyen, T. D. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from Vietnamese basil (*Ocimum basilicum* L.) using response surface methodology. *Processes*, 6(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/pr6110206>
- Tredwell, B. J. (1985). Productivity in Small Scale Assembly Plants. In *Proceedings - Society of Automotive Engineers* (pp. 805–813).
- Yazgan, H., Ozogul, Y., & Kuley, E. (2019). Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 306(July). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108266>
- Zhang, H., Chen, Y., Wang, S., Ma, L., Yu, Y., Dai, H., & Zhang, Y. (2020). Extraction and comparison of cellulose nanocrystals from lemon (*Citrus limon*) seeds using sulfuric acid hydrolysis and oxidation methods. *Carbohydrate Polymers*, 238(2), 116180. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116180>
- Zhang, Q., Huo, R., Ma, Y., Yan, S., Yang, L., & Chen, F. (2020). A novel microwave-assisted steam distillation approach for separation of essential oil from tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andrews) petals: Optimization, kinetic, chemical composition and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 154(January), 112669. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112669>

