



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

**Recubrimientos fotocatalíticos e inclusión de agentes potenciadores de su efectividad  
como estrategia alternativa en el control de biofilms: un estudio bibliográfico**

**Jenny Rodríguez Toranzo**



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

RECUBRIMIENTOS FOTOCATALÍTICOS E INCLUSIÓN DE AGENTES  
POTENCIADORES DE SU EFECTIVIDAD COMO ESTRATEGIA ALTERNATIVA  
EN EL CONTROL DE BIOFILMS: UN ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO

Jenny Rodríguez Toranzo

Trabajo presentado para la superación de los 15 créditos del Módulo Trabajo Fin de Máster  
del Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal

Trabajo dirigido por:

Dr. José Juan Rodríguez Jerez

Dra. Carolina Ripollés Ávila

Facultat de Veterinària  
Departament de Ciència Animal i dels Aliments

Barcelona, Julio de 2020

Departament de Ciència Animal i dels Aliments

José Juan Rodríguez Jerez, Profesor Titular del Área de Nutrición y Bromatología y Carolina Ripollés Ávila, Profesora Asociada del Área de Nutrición y Bromatología, del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universitat Autònoma de Barcelona

**CERTIFICAN,**

**Que el trabajo de investigación titulado:** *“Recubrimientos fotocatalíticos e inclusión de agentes potenciadores de su efectividad como estrategia alternativa en el control de biofilms: un estudio bibliográfico”* ha sido realizado bajo nuestra dirección por **Jenny Rodríguez Toranzo**, dentro del módulo “Trabajo Fin de Máster” del Máster Oficial de Calidad de Alimentos de Origen Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Y para que conste donde proceda, firmo el presente en Bellaterra (Cerdanyola del Vallés) a 2 de julio de 2020.

Dr. José Juan Rodríguez Jerez

Profesor Titular

Dra. Carolina Ripollés Ávila

Profesora Asociada

Jenny Rodríguez Toranzo

Alumna Máster Calidad de los Alimentos de Origen Animal

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por estar siempre conmigo.

Al Dr. José Juan Rodríguez Jerez, por darme la oportunidad de realizar este trabajo y brindarme sus conocimientos.

A la Dra. Carolina Ripollés Ávila, por sus innumerables enseñanzas, orientación, paciencia y apoyo. Fue indispensable para concretar este trabajo.

Al Departamento de Ciencia de los Alimentos, a Dolors, Tina y Brayan, por enseñarme y ayudarme tanto en mi paso por el laboratorio.

A mis queridos abuelos, Rosa y Alfonso, por su formación y amor incondicional.

A mi madre y a toda mi familia, por su constante cariño y apoyo.

A Juan, mi compañero de vida, por estar a mi lado y quererme siempre.

A todos los amigos que poseo, que con su apoyo y cariño han contribuido también con este logro.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**CIP:** Limpieza *in situ* (Cleaning in place)

**COP:** Limpieza fuera de lugar (Cleaning out of place)

**EFSA:** Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority)

**ETAs:** Enfermedades transmitidas por alimentos

**FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (Food and Drug Administration)

**IR:** Radiación infrarroja

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**RENAVE:** Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

**ROS:** Especies Reactivas de Oxígeno (Reactive oxygen species)

**UV:** Radiación Ultravioleta

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	3
1.1 Objetivo.....	4
1.2 Metodología.....	4
2. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS.....	5
2.1 Datos cuantitativos .....	5
2.2 Repercusión pública y económica.....	7
2.3 Contaminación cruzada .....	9
3. BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA .....	10
3.1 Adhesión microbiana y desarrollo de biofilms.....	11
3.2 Persistencia y resistencia.....	13
3.3 Control e inhibición en la industria alimentaria .....	15
4. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN CONVENCIONAL EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA .....	16
5. TECNOLOGÍAS PARA PREVENIR FORMACIÓN DE BIOFILMS FRENTE A MÉTODOS CONVENCIONALES .....	18
6. FOTOCATALISIS EN RECUBRIMIENTOS DE SUPERFICIES ALIMENTARIAS	19
6.1 Fotocatálisis.....	19
6.2 Sustancias fotocatalíticas.....	21
6.1 Dióxido de titanio y cualidades .....	22
6.2 Recubrimientos con sustancias fotocatalíticas .....	24
7. RADIACIÓN UV .....	25
7.1 UV y sustancias fotocatalíticas.....	26
7.2 Efectividad del tratamiento .....	27
8. ACEITES ESENCIALES .....	29
8.1 Aplicación y actividad antimicrobiana.....	29
8.2. Recubrimientos fotocatalíticos y aceites esenciales.....	32
9. CONCLUSIONES .....	32
10. BIBLIOGRAFÍA .....	32

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Búsqueda en las diferentes bases de datos (Elaboración propia)..... 5

**Tabla 2.** Actividad antimicrobiana de TiO<sub>2</sub> contra diversos patógenos microbianos.....28

**Tabla 3.** Actividad antimicrobiana de aceites esenciales contra diversos patógenos  
microbianos.....31

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fases para la formación de un biofilm. (Elaboración propia).....	12
<b>Figura 2.</b> Diagrama esquemático de ROS y la muerte fotocatalítica de bacterias (Hemraj Mahipati Yadav, Kim, y Pawar, 2016).....	20
<b>Figura 3.</b> Esquema del proceso fotocatalítico sobre la superficie de TiO <sub>2</sub> (Dalrymple, Stefanakos, Trotz, y Goswami, 2010).....	23
<b>Figura 4.</b> Esquema del proceso fotocatalítico sobre la superficie de TiO <sub>2</sub> (Dalrymple et al., 2010).....	23

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), actualmente representan un número significativo de casos de hospitalizaciones e incluso fallecimientos a nivel mundial, problema importante que afecta a los sistemas de salud de los países implicados y también a su economía. Se ha determinado que muchas de estas ETAs son causadas por la contaminación cruzada entre manipuladores y superficies de contacto directas e indirectas en los entornos de procesamiento y a lo largo de la cadena de producción, y que, entre otros factores, esta contaminación se produce por la presencia de biofilms. La principal herramienta para combatir la formación de estas estructuras, que reúnen microorganismos y que se encuentran recubiertas y protegidas por una matriz compleja, son los procedimientos de limpieza y desinfección que se realizan en los ambientes de producción. Sin embargo, se ha determinado que ciertos biofilms son capaces de resistir la acción física y química de estos procedimientos y sobreviven a ellos. Actualmente se cuenta con varias técnicas alternativas que se aplican para su control, no obstante, aún no se ha conseguido un método totalmente eficaz que elimine por completo estas estructuras. Debido a la naturaleza compleja y poco conocida de los biofilms, las tecnologías deben enfocarse a prevenir la adhesión de estas estructuras a las superficies antes de tratar de eliminarlas, por lo que la tecnología Hurdle o de obstáculo se muestra como una alternativa interesante para hacer frente a la presencia de biofilms. La fotocatalisis es una reacción fotoquímica con efectos oxidantes y antimicrobianos que se viene aplicando para la desinfección de agua y de aire, por lo que considerarla para la aplicación en la industria alimentaria, junto con recubrimientos de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y bajo radiación UV que active la reacción, podría convertirse en una técnica innovadora y eficaz para la desinfección de superficies. Además, la aplicación de las altas propiedades biocidas de los aceites esenciales junto a la tecnología mencionada, podría potenciar los efectos de la técnica. Finalmente, debe considerarse con especial cuidado todos los factores inmersos que podrían repercutir en los resultados del método, así como, investigaciones que lleven a cabo el ensayo bajo condiciones reales. Todas estas consideraciones podrían esclarecer el grado de factibilidad de esta metodología y con ello proyectar su implantación.

Palabras clave: Biofilm, superficie, fotocatalisis, recubrimientos de dióxido de titanio, radiación UV, aceites esenciales

## ABSTRACT

Food-borne diseases (FBDs) currently account for a significant number of hospitalizations and even deaths worldwide, a major problem affecting the health systems of the countries concerned and also their economies. It has been determined that many of these FBDs are caused by cross-contamination between handlers and direct and indirect contact surfaces in processing environments and along the production chain, and that, among other factors, this contamination is caused by the presence of biofilms. The main instrument to combat the formation of these structures, which contain microorganisms and are covered and protected by a complex matrix, are the cleaning and disinfection procedures applied in the production environments. However, it has been determined that some biofilms are able to resist the physical and chemical action of these procedures and survive them. Actually, there are several alternative techniques that are applied for their control, although a totally effective method that completely eliminates these structures has not yet been achieved. Since the complex and unknown nature of biofilms, technologies must focus on preventing the adhesion of these structures to surfaces before trying to remove them, so Hurdle technology is an interesting alternative to confront the presence of biofilms. Photocatalysis is a photochemical reaction with oxidative and antimicrobial effects that has been applied for the disinfection of water and air, so considering it for application in the food industry, together with titanium dioxide coatings and under UV radiation that activates the reaction, could be an innovative and effective technique for surface disinfection. Furthermore, the application of the high biocidal properties of essential oils together with the mentioned technology could potentiate the effects of the technique. Finally, special care must be taken to consider all the factors involved that could affect the results of the method, as well as research that makes the test under real conditions. All these considerations could clarify the degree of viability of this methodology and consequently project its implementation.

Keywords: Biofilm, surface, photocatalysis, titanium dioxide coatings, UV radiation, essential oils.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) son motivo de preocupación actual ya que son una de las principales causas por las cuales la población mundial enferma. Debido a las ETAs, aproximadamente 600 millones de personas enferman al año y 420.000 de esta cifra, fallecen (OMS, 2018). Estos datos demuestran claramente la contribución en términos de salud pública que tienen sobre la población. En el 2018 se detectaron en Europa un total de 5.146 brotes transmitidos por alimentos, incluyendo entre ellos los de origen hídrico. Las tres ETAs con mayor número de casos fueron la campilobacteriosis, la salmonelosis y finalmente, las causadas por *Escherichia coli* tipo shiga-toxigénico (STEC) (EFSA-ECDC, 2019). En consecuencia y a pesar de los avances tecnológicos en cuanto a procesamiento y producción de alimentos, aún existe una alta incidencia de brotes que afectan la salud de miles de consumidores.

Las ETAs surgen por el consumo de alimentos que han sufrido algún tipo de contaminación que puede ser de tres tipos: física, química o microbiológica. Por otro lado, dicha contaminación puede darse mediante numerosas vías, siendo una de ellas el contacto con superficies contaminadas (González-Rivas et al., 2018). Teniendo en cuenta que hay microorganismos que logran resistir los procedimientos de limpieza y desinfección que se llevan a cabo actualmente gracias a que son capaces de formar estructuras resistentes llamadas biofilms (Hascoët, 2019), se debe enfocar los estudios a la búsqueda de nuevas alternativas y estrategias para impedir la formación de estas estructuras en la industria alimentaria (Araújo et al., 2010). Estudiar con profundidad la naturaleza y formación de biofilms en las superficies resulta de gran importancia debido a su repercusión como factor de riesgo en cuanto a brotes de enfermedades que afectan la salud pública (Jahid y Ha, 2012).

Uno de los objetivos de la industria alimentaria es ofrecer alimentos inocuos, lo que convierte a los procedimientos de limpieza y desinfección en una de las principales herramientas para prevenir que el producto final sea afectado por la contaminación cruzada. En este sentido, la ausencia de procedimientos que aseguren superficies con una carga nula de microbiota patógena supone un alto riesgo, ya que existe gran probabilidad de que a lo largo del proceso el producto entre en contacto con áreas contaminadas (Møretro et al., 2013). Además, no hay que olvidar que la formación de biofilms en superficies industriales alimentarias supone también pérdidas económicas, puesto que provoca corrosión, mal funcionamiento y deterioro de los equipos

(Weng et al., 2016). Todo ello implica que el desarrollo de estrategias preventivas a la aparición de estas estructuras sobre superficies industriales tenga un alto interés entre los expertos de calidad en la industria alimentaria. La naturaleza compleja de los biofilms y la capacidad que poseen las células que los conforman para propagarse y fijarse firmemente en rincones de difícil acceso, restan eficacia a la acción de los desinfectantes que se aplican actualmente (Martínez-Suárez et al., 2016). Además, los microorganismos patógenos que conforman estas estructuras son causantes de enfermedades aún más difíciles de combatir ya que, estas bacterias pueden tolerar productos químicos desinfectantes y también ofrecen resistencia a agentes antibióticos actuales (Kordmahaleh y Shalke, 2013).

Por todo ello, es necesario plantear nuevas metodologías y generar productos adecuados para resolver esta problemática. En este caso, la ciencia de la nanotecnología, en específico la inclusión de nanopartículas en materiales, se consolida como una nueva alternativa gracias a su eficacia antimicrobiana, tanto para aplicaciones farmacéuticas, biomédicas, como alimentarias (Khezerlou et al., 2018). En cuanto al uso de nuevas tecnologías, la fotocatalisis surge como un método alternativo efectivo gracias a sus propiedades antimicrobianas (Luksiene, 2017), además de ser un proceso sostenible, no tóxico y poco costoso (Zhu et al., 2018). La tecnología de fotocatalisis aplicada en recubrimientos con sustancias fotocatalíticas se presenta como una nueva técnica no térmica para la desinfección de superficies que puede impedir el crecimiento bacteriano o incluso eliminar microorganismos adheridos (Weng et al., 2016).

## **1.1 Objetivo**

El objetivo del presente trabajo es conocer la importancia de los sistemas de desinfección en continuo para su aplicación en industria alimentaria, específicamente aquellos que se basan en recubrimientos con sustancias fotocatalíticas, y analizar, desde un punto científico y práctico, la viabilidad de su implementación en el mercado.

## **1.2 Metodología**

El presente trabajo se basa en la realización de una revisión bibliográfica sobre la aplicación de fotocatalisis en recubrimientos de superficies industriales y la posible inclusión de aceites esenciales como agentes potenciadores del efecto antimicrobiano, todo ello como estrategia alternativa para el control de biofilms.

Para proceder con el mismo, en primer lugar se realizó una búsqueda de revisiones bibliográficas que apuntaban a la incidencia y repercusión de las ETAs a nivel global y la relación con la contaminación cruzada causada por biofilms, todo ello para obtener una valoración crítica y genérica sobre el tema. Posteriormente se exploró artículos científicos que obtuvieran resultados, evaluando la aplicación de fotocatalisis en diferentes condiciones, superficies y frente a microorganismos distintos, para así visibilizar todas las circunstancias que influyen sobre la efectividad del tratamiento. Se reconoció las consideraciones más relevantes que puedan aportar detalles sustanciales cuando se quiera aplicar la técnica en condiciones industriales. Esta búsqueda bibliográfica se ha realizado en diferentes bases de datos (**Tabla 1**), incluyendo operadores booleanos que la optimicen.

**Tabla 1.** Búsqueda en las diferentes bases de datos (Elaboración propia).

<b>Bases de datos</b>	<b>Palabras clave</b>
Science Direct	Biofilm surface AND disinfection NOT hospital
Google Scholar	Photocatalysis OR Nanoparticles AND titanium dioxide
Springer Link	Disinfection AND UV radiation AND food industry
MDPI	Nanoparticles AND essential oils
NCBI	Essential oils AND biofilm
Knovel	Biofilm AND food industry Disinfection photocatalysis AND food industry

A partir de la búsqueda realizada, se hizo una síntesis de los aspectos más importantes que se incluirían en los apartados del trabajo, recopilando la información que diera pautas sustanciales para una posible aplicación en la industria alimentaria.

## **2. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

### **2.1 Datos cuantitativos**

En el mundo, millones de personas enferman año tras año por el consumo de alimentos insalubres, considerando así que a nivel mundial aproximadamente una de cada diez personas es víctima de enfermedad tras haber ingerido alimentos contaminados. Según cálculos, cada

año mueren 2,2 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas, la mayoría causadas por la ingesta de agua o alimentos contaminados. De entre ellas, se ha indicado que las infecciones diarreicas hacen enfermar cada año a aproximadamente 550 millones de personas (Jayasena et al., 2015).

El 2017 en EEUU se notificaron 841 brotes de ETAs, resultando en 14.481 casos, 827 hospitalizaciones, 20 muertes y 14 operaciones de retiro de producto. La categoría de alimentos asociados a la mayoría de los brotes fue: moluscos, pescado, pollo y carne de res (según orden de mayor incidencia), norovirus fue la causa más común de los brotes (35%), luego *Salmonella* spp. (29%), seguida por STEC (5%) y también *Clostridium perfringens* (5%) (CDC, 2019). En una recopilación de los informes presentados por el Sistema de Vigilancia de Brotes de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (FDOSS) de EEUU, durante el periodo que comprende del 2009 al 2015 se registraron 5.760 brotes de ETAs, que resultaron en 100.939 casos, 5.699 hospitalizaciones y 145 muertes (Mattia et al., 2018). Microorganismos patógenos tales como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. y STEC, fueron responsables del 82 % de hospitalizaciones y muertes reportadas en personas con una sola etiología confirmada, siendo las causas de los brotes más grandes *Salmonella* spp. y STEC. Las categorías de alimentos responsables de las enfermedades causadas por estos brotes fueron: pollo (12%), cerdo (10%) y vegetales sin semillas (10%). Es importante precisar que no se identifican todos los brotes y la mayoría de ETAs se presentan fuera del escenario de un brote reconocido (Mattia et al., 2018).

Por otro lado, en la Unión Europea las zoonosis reportadas con mayor incidencia fueron, en primer lugar, campilobacteriosis, seguida de salmonelosis, STEC, yersiniosis y finalmente listeriosis. La zoonosis con mayor número de hospitalizaciones y tasa de mortalidad más elevada fue la listeriosis. Cabe resaltar, que las infecciones producidas por STEC registraron una tendencia en alza de 2014 a 2018 (EFSA-ECDC, 2018). En los últimos años ha habido distintas crisis alimentarias, destacando entre ellas la ocurrida el 2017 cuando se registró un brote de salmonelosis en leches infantiles en Francia, que provocó la intoxicación de 38 bebés menores de seis meses teniendo que ser retirados casi 7.000 toneladas de productos potencialmente contaminados de 80 países de Europa y del resto del mundo donde también eran comercializados (EFSA, 2019). Curiosamente, en el 2011 se investigó en España un gran brote nacional de salmonelosis, detectada también en fórmula infantil (EFSA, 2019). Se determinó que la cepa causante, *Salmonella enterica* ser. Poona, correspondió al mismo serotipo en las

dos crisis, hecho que lo relacionó con su persistencia en la industria alimentaria y la contaminación cruzada derivada.

Por otro lado, en agosto del 2019 se detecta un brote de listeriosis en España, el más importante de la historia del país y que hizo enfermar a más de 200 personas, notificándose 3 muertes y cinco casos de abortos (CCAES, 2019). En este contexto, entre el 2017-2018 se producía el mayor brote de listeriosis del mundo, declarado en Sudáfrica, en el que se infectaron más de 1000 personas, de entre las que más de 200 murieron, y en consecuencia obligó a retirar y destruir unas 12.000 toneladas de comida. También, en el 2018 se registró un brote de listeriosis en Europa, vinculado a la producción de hortalizas congeladas en una fábrica húngara que afectó a siete países e hizo enfermar a 47 personas. Esta fábrica producía y exportaba para más de 100 países (OMS, 2019). Por ello, recientemente y con el objetivo de aumentar los estándares de inocuidad, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA) ha publicado una evaluación sobre el riesgo que supone *L. monocytogenes* durante el procesamiento de frutas y verduras congeladas, destacando como los principales factores que pueden aumentar la contaminación y/o crecimiento de este microorganismo patógeno: la higiene de las materias primas, la calidad microbiológica del agua, las combinaciones de tiempo y temperatura usadas a lo largo de la cadena de producción y finalmente las condiciones higiénicas de las instalaciones de procesamiento, haciendo hincapié en las superficies de contacto directas e indirectas (EFSA et al., 2020).

## **2.2 Repercusión pública y económica**

Las ETAs pueden afectar a personas de cualquier edad, sin embargo, se presentan cuadros más graves en niños, embarazadas, ancianos y personas con el sistema inmunitario comprometido (OMS, 2019). Se ha detectado mayor incidencia en poblaciones de bajos recursos y en niños menores de 5 años, representando el 40 % del total de las ETAs producidas anualmente, lo que se traduce en 125 mil muertes aproximadamente en este grupo poblacional (Jayasena et al., 2015). Es importante destacar que hay un elevado número de casos de ETAs que no se reportan a las autoridades sanitarias (Ripolles-Avila, 2018). En muchas ocasiones, las personas que sufren algún trastorno diarreico por haber consumido algún alimento en mal estado no acuden a un centro de atención de salud, por lo que estos casos no son registrados en las cifras oficiales de estas patologías. Si se tomara en cuenta los casos que no son cuantificados, las ETAs se

identificarían como una de las enfermedades más extendidas en el mundo contemporáneo (González-Rivas et al., 2018).

Además, las ETAs perjudican la economía y el comercio de la sociedad (OMS, 2019). Considerando que el comercio de alimentos tiene un valor de 1,6 billones de dólares, los cálculos indican que el efecto de los alimentos contaminados cuesta a las economías de ingresos bajos y medios, alrededor de 95 mil millones en pérdidas de productividad al año (Jayasena et al., 2015). Los costos socioeconómicos que causan las ETAs pueden clasificarse en: costos para los individuos, para la industria y para el sector gubernamental encargado de salud pública. De acuerdo con Kopper et al. (2009) se ha logrado estimar ciertas cifras económicas a raíz de casos por ETAs en distintos países, teniendo que por ejemplo en Nueva Zelanda un caso representa 462 dólares estadounidenses (Scott et al., 2000), en Estados Unidos un rango medio de 1.270 dólares estadounidenses (Buzby y Roberts, 1997), en Canadá 1.100 dólares estadounidenses por caso (Todd, 1989), en Inglaterra 50 dólares estadounidenses (Roberts et al., 2003) y en Suecia 303 dólares estadounidenses (Lindqvist et al., 2001), considerando los gastos médicos y pérdida de productividad (Kopper et al., 2009). En consecuencia, las ETAs son causa del impedimento en el desarrollo socioeconómico a nivel mundial. Según los factores mencionados, es importante considerar la inversión en tecnologías que contribuyan a la detección temprana de brotes, así como que permitan prevenir estas amenazas en términos de inocuidad de alimentos en todos los países del mundo (OMS, 2019).

La distribución mundial de alimentos, la globalización y el uso de productos importados presenta una tendencia creciente en el futuro. Ello involucra dos ideas importantes, por un lado, que el consumidor se podrá beneficiar de una mayor y variada cantidad de productos, pero también implica la posibilidad de mayores incidencias de transmisión de ETAs a mayor escala. Es por ello que los sistemas de vigilancia de salud pública requieren rigurosidad y análisis crítico de las causas por las que puede darse estos brotes alimenticios para poder solucionar estas crisis. Sin medidas eficaces de prevención, corrección y monitoreo, el beneficio económico que puede lograr el comercio global de alimentos se verá disminuido por los costos de salud pública que se generen en el consumidor (Hedberg, 2000; Unnevehr y Roberts, 2002).

### 2.3 Contaminación cruzada

Hace más de una década, la Organización Mundial de la Salud (OMS) identificó como principales y más frecuentes causantes de ETAs los siguientes factores: procedimientos de cocción deficientes o preparación de alimentos con demasiada antelación a su consumo, mal manejo de temperatura en el almacenamiento o conservación, manipuladores enfermos o que presentan higiene deficiente y, finalmente, la contaminación cruzada (OMS, 2007; Rosas, 2007). Puede entenderse como el proceso por el cual los alimentos se contaminan cuando entran en contacto con superficies, entre otras vías, que no se encuentran en condiciones higiénicas (Possas et al., 2017). La contaminación cruzada que se puede producir durante la elaboración de productos alimenticios, y está directamente relacionada a las ETAs (González-Rivas et al., 2018). En un informe realizado en España, que analizó la data de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) durante el periodo del 2008 al 2011, se consideró que la contaminación cruzada era un factor que representaba el 26.5% de los brotes de transmisión alimentaria notificados (excluyendo brotes hídricos) (Espinosa et al., 1997).

Existen diferentes condicionantes que pueden potenciar la contaminación cruzada. Por ejemplo, cuando las superficies en contacto con alimentos cuentan con presencia de biofilms, el riesgo de contaminación cruzada por estos microorganismos aumenta ya que pueden transmitir patógenos a los alimentos (Ripolles-Avila et al., 2020). Cuando las superficies se encuentran secas, el riesgo se reduce ya que el crecimiento y capacidad de supervivencia de los microorganismos disminuye. Sin embargo, existen microorganismos capaces de soportar por tiempo prolongados, situaciones de sequedad en las superficies (Ríos-Castillo et al., 2020). Además, se ha demostrado que hay patógenos que permanecen viables en superficies secas de acero inoxidable durante periodos de tiempo largos, dependiendo a su vez de los niveles de contaminación y el tipo de patógeno existentes (Kusumaningrum et al., 2003).

Según la OMS, tanto *Salmonella* spp. como *E. coli* tienen una alta incidencia en la contaminación cruzada desde superficies y utensilios contaminados durante la preparación de alimentos, además de por contaminación fecal del agua o por cocción ineficiente (OPS, 1993). En el caso de *Salmonella* spp., se ha indicado que el microorganismo cuenta con un alto potencial para actuar como fuente continua de contaminación en superficies. Este microorganismo puede permanecer viable en las superficies de contacto con alimentos durante periodos de tiempo considerables, incrementando las posibilidades de ocurrencia de

contaminación cruzada entre utensilios, manipuladores y superficies (Carrasco et al., 2012). Además, su persistencia en entornos de procesamiento se debe a la capacidad para formar biofilms (Soni et al., 2013). Las células de biofilm de *Salmonella* spp. muestran ser más resistentes a los desinfectantes que las células planctónicas, pudiendo resistir tensiones mecánicas y químicas (Joseph et al., 2001). En caso de *E. coli* O157:H7, una cepa concreta de STEC, también se ha relacionado de forma directa con ser causante de brotes en la industria alimentaria debido a contaminación cruzada (Warriner et al., 2002). Este microorganismo es capaz de sobrevivir durante prolongados periodos de tiempo en las superficies ya que posee una alta capacidad para resistir en diversos entornos y condiciones, lo que se acentúa si además no se cuenta con medidas de higiene suficientes ni adecuadas (Wilks et al., 2005). En cuanto a *L. monocytogenes*, hay estudios en los que se ha determinado que este microorganismo se encuentra en numerosos entornos de proceso en las instalaciones alimentarias analizadas, representando así un riesgo consistente de contaminación cruzada (Borucki et al., 2003; Muhterem-Uyar et al., 2015; Ripolles-Avila, 2018). *L. monocytogenes* es un microorganismo patógeno capaz de sobrevivir más tiempo que otras bacterias (Ryser y Marth, 2007). Además es un microorganismo psicotrofo capaz de crecer a temperaturas de refrigeración (Newell et al., 2010), tolerar diferentes rangos de pH, sobrevivir altas concentraciones de cloruro de sodio (Rocourt y Buchrieser, 2007) y también posee mecanismos de control que contribuyen a expresar un factor de virulencia (Vera et al., 2013).

Los microorganismos se pueden incorporar a los alimentos durante la elaboración de los mismos debido a la contaminación cruzada originada, entre otros, por procesos de limpieza y desinfección deficientes. Debido a que estos procedimientos tienen como principal objetivo eliminar la presencia de microorganismos, son por ello cruciales para evitar la contaminación posterior en alimentos (Nerín et al., 2016). Siendo una de las principales causas de contaminación cruzada, el contacto de superficies contaminadas con presencia de biofilms, es importante ampliar y mejorar los conocimientos de contaminación de superficies, así como de los mecanismos de limpieza óptimos que contribuyan a optimizar el diseño higiénico de las instalaciones, lo cual repercutirá positivamente en la seguridad del producto (Faille et al., 2018).

### **3. BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

Las instalaciones de las industrias alimentarias reúnen condiciones favorables para el desarrollo de biofilms, como por ejemplo la presencia de nutrientes y agua. Los biofilms pueden

desarrollarse en superficies de diversos materiales como metal, plástico y vidrio, todos ellos presentes en las salas de procesamiento de alimentos (Elortondo et al., 1999). La presencia de biofilms formados por microorganismos patógenos establece un alto riesgo de propagación de ETAs, ya que estas estructuras son una de las principales fuentes de contaminación de alimentos (Shi y Zhu, 2009), afectan la inocuidad, disminuyendo a su vez la vida útil de los productos (Chmielewski y Frank, 2003).

La formación de un biofilm es un proceso complejo que inicia cuando quedan residuos orgánicos del procesamiento de alimentos, y se depositan en las superficies. Luego de ello, los microorganismos presentes en el medio son atraídos por las superficies ahora “acondionadas”. Los microorganismos que permanecen tras no ser eliminados por los procedimientos de limpieza y desinfección, conocidos como la microbiota residente, inician la formación de biofilms. El desarrollo se propicia debido a la transmisión de información genética entre microorganismos y la detección de células similares (Shi y Zhu, 2009).

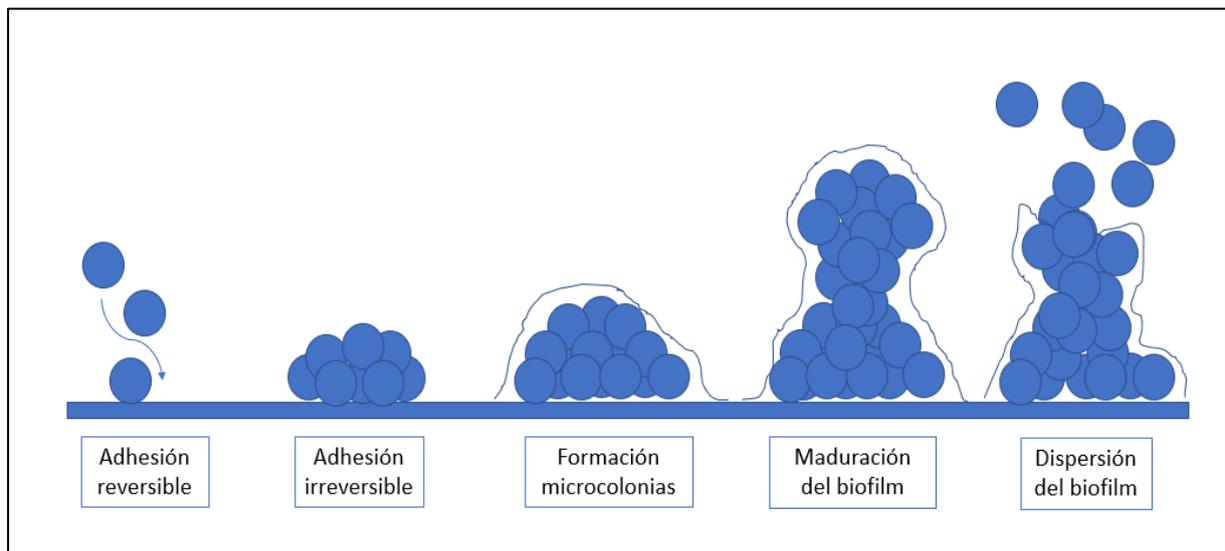
### **3.1 Adhesión microbiana y desarrollo de biofilms**

Los microorganismos se adhieren a superficies vivas o sustratos inertes como una estrategia de supervivencia que da lugar a la formación de biofilms (Araújo et al., 2010). Los biofilms consisten en un conjunto de microorganismos inmovilizados, recubiertos por una matriz compuesta por polisacáridos, proteínas y ADN extracelular (González-Rivas et al., 2018). Las células de un biofilm tienen distinto comportamiento, fisiología y fenotipo que las células planctónicas debido a su estructura de protección (Shi y Zhu, 2009; Simões et al., 2010). Cada célula de un biofilm vive en una “microcolonia” personalizada dentro de una comunidad microbiana, reaccionando según el entorno (Costerton, 1995).

La formación de biofilms comprende varias etapas y está determinada por parámetros ambientales y características propias de los microorganismos que los conforman (Liu y Tay, 2001; Mittelman, 1998). Las cinco etapas para que se lleve a cabo la formación de un biofilm son (**Figura 1**): 1) Adhesión reversible; 2) Adhesión irreversible; 3) Formación de microcolonias; 4) Maduración del biofilm; y finalmente, 5) Disociación de las células y colonización de una nueva superficie (Costerton et al. 1995; Donlan 2002). Según el proceso de formación y el entorno, para la formación de un biofilm el acondicionamiento del sustrato a

colonizar y la adhesión de los microorganismos resultan factores críticos (Zottola y Sasahara, 1994).

La etapa inicial de adhesión es un paso crucial para el desarrollo de los biofilms (Araújo et al., 2010). Además, es un proceso complejo en el que intervienen factores fisicoquímicos propios del medio de sustrato o superficie donde se adhieren y por otro lado, propiedades fisicoquímicas de la superficie celular (Donlan, 2002; Shi y Zhu, 2009). Cuando se lleva a cabo este proceso, se produce la adhesión de las células en dos etapas, primero una adhesión reversible y luego una irreversible (Kumar y Anand, 1998). En la adhesión reversible intervienen las fuerzas de atracción de Van der Waals, las fuerzas electrostáticas, interacciones ácido-base e interacciones hidrofóbicas (Araújo et al., 2010; Liu y Tay, 2001; Mittelman, 1998). En la adhesión irreversible se producen interacciones dipolo-dipolo, enlaces iónicos y covalentes e interacciones hidrofóbicas. Las fimbrias, estructuras microbianas, forman un puente entre la célula y el sustrato dando lugar a una asociación irreversible con la superficie (Marshall et al., 1971).



**Figura 1.** Fases para la formación de un biofilm. Elaboración propia.

En cuanto a la superficie celular, la carga superficial, la propiedad de donar y aceptar electrones así como la hidrofobicidad son importantes en la etapa de adhesión (Araújo et al., 2010). La superficie celular bacteriana posee hidrofobicidad gracias a las fimbrias, flagelos y polisacáridos (Shi y Zhu, 2009). Además, los apéndices celulares y la producción de

exopolisacáridos, así como otras sustancias, también influyen en esta etapa (Araújo et al., 2010; Palmer et al., 2007).

Por otro lado, en cuanto al medio, factores como las propiedades fisicoquímicas del sustrato y la acción de los electrones implicados, el acondicionamiento de la superficie, la aspereza o rugosidad y el transporte de masa también podrán afectar la etapa de adhesión (Araújo et al., 2010; Palmer et al., 2007). También se debe considerar el pH, la temperatura y los nutrientes de la superficie (Kumar y Anand, 1998; Shi y Zhu, 2009), así como la humedad existente (Giaouris et al., 2005). Sin embargo, hay evidencia de que en condiciones inversas también se puede desarrollar un biofilm, como es el caso de *Staphylococcus aureus* capaz de producir biofilms en superficies secas de acero inoxidable (Fuster-Valls et al., 2008). Dentro de un biofilm existe amplia heterogeneidad y basta capacidad de comunicación entre sus miembros (Kordmahaleh y Shalke, 2013). El proceso conocido como “detección de quorum”, es esencial para su desarrollo (González-Rivas et al., 2018). Las interacciones entre “micro poblaciones” bacterianas pueden tener gran influencia en la estructura y fisiología de las comunidades que forman un biofilm, sobre todo en la etapa inicial de adhesión que será fundamental para el desarrollo del mismo (James et al., 1995).

### **3.2 Persistencia y resistencia**

Las células dentro del biofilm se comunican mediante la “detección de quorum”, lo cual contribuye a dificultar el desprendimiento de los biofilms (Donlan, 2002). La interacción que se lleva a cabo dentro de un biofilm podría ser determinante para la formación de los mismos y para la resistencia a agentes antimicrobianos. En entornos de procesamiento de alimentos, los múltiples microorganismos que forman un biofilm puede competir, cooperar y comunicarse entre sí (Gkana et al., 2017).

La capacidad de supervivencia de los microorganismos que conforman a los biofilms radica en la estructura compleja y tridimensional que poseen, provista de distribuciones y canales en su interior (Jahid y Ha, 2012). La composición de esta estructura hace posible que los nutrientes y el agua circulen en su interior, además de permitir la eliminación de residuos que puedan generarse (Donlan y Costerton, 2002). Además, gracias a la protección que poseen, salvaguardan su interior ante la aplicación de productos químicos y procedimientos mecánicos de desinfección (Weng et al., 2016). Se ha demostrado que las bacterias pueden volverse

resistentes a determinados tratamientos químicos que se les apliquen, en un estudio se monitoreó la formación de biofilms de *Yersinia enterocolitica* durante 5 días, en una planta procesadora de carne de cerdo y bajo las condiciones del programa de limpieza que se desarrollaba cotidianamente. En los resultados se reflejó cierta recuperación celular, biofilms más robustos y mayor resistencia al hipoclorito de sodio (Wang et al., 2017). En otros estudios se puede ver que las fuentes de estrés diversas y los antibióticos a los que son expuestos los microorganismos provocan que éstos emitan respuestas adaptativas (De la Fuente-Núñez et al., 2013).

Por otro lado, es necesario seleccionar cuidadosamente el procedimiento de limpieza y desinfección a implantar, así como los agentes químicos correctos para hacer frente a los biofilms ya que las condiciones hidrodinámicas que se provoquen en el entorno, tendrán influencia en las propiedades de resistencia de los mismos, tal y como indicado en el estudio realizado con biofilms de *Pseudomonas fluorescens* (Simões et al., 2006). Ciertos microorganismos en superficies húmedas son capaces de producir biofilms después de 24 horas, por ello se puede considerar que el agua es un factor determinante en la formación de estas estructuras. En consecuencia, el secado rápido de las superficies luego de los procesos de higienización, contribuirá a aminorar la proliferación de bacterias (Fuster-Valls et al., 2008). La proximidad de las células entre sí, en la etapa de formación de un biofilm, dificulta la reacción y la difusión del agente de limpieza que se aplique en la superficie donde se esté formando esta estructura, ya que las células más profundas no serán alcanzadas por los productos desinfectantes. La cantidad de nutrientes dentro de la matriz también será distinta según el área, reflejando microambientes fisicoquímicos distintos que producirán distintos fenotipos dentro del biofilm. La naturaleza heterogénea de la composición del biofilm contribuirá a que la estructura tenga reacciones diversas según las condiciones y el medio donde se encuentre (Gilbert et al., 2003).

La presencia de distintos microorganismos según el tipo de industria alimentaria es otro factor a considerar ya que, según condiciones ambientales adecuadas, cualquier microorganismo es capaz de formar un biofilm (Lasa et al., 2005). De acuerdo a ello, la mayoría de biofilms que se encuentran en ambientes de procesamiento están conformados por cepas distintas de microorganismos (Colagiorgi et al., 2017). La composición heterogénea de los biofilms requiere estudios diferenciados, por ello se considera este factor, así como cuando se trata con cepas puras en ambientes controlados (Carpentier y Cerf, 1993) o cuando se evalúa la adhesión

microbiana dentro de los mismos entornos de procesamiento (Kumar y Anand, 1998). Además, los biofilms logran formarse en sustratos de distintos materiales como aluminio, acero inoxidable, vidrio, etc. y todos estos materiales pueden encontrarse en los entornos de procesamiento de la industria alimentaria (Araújo et al., 2010). Por ejemplo, estudios demuestran que los biofilms se forman preferentemente en las cintas transportadoras (Fagerlund et al., 2017). En consecuencia, el reconocimiento de la presencia de biofilms en las superficies de equipos de procesamiento, así como de los lugares críticos en los cuales pueden desarrollarse, será fundamental para desarrollar tecnologías que logren inhibir su formación (Jessen y Lammert, 2003).

### **3.3 Control e inhibición en la industria alimentaria**

La correcta ejecución de los procedimientos de limpieza y desinfección resulta determinante para controlar la posible formación de biofilms. La limpieza puede eliminar casi el 90 % de microorganismos que se encuentran en una superficie (Dunsmore, 1981), sin embargo, las bacterias en suspensión pueden instalarse en otros lugares y con condiciones propicias formar de nuevo un biofilm (Gibson et al., 1999). Además, la fricción mecánica no puede eliminar por completo las bacterias (Jessen y Lammert, 2003), por ello la aplicación de un tratamiento químico y mecánico a la vez es necesario para eliminar a los biofilms (Srey et al., 2013). Las zonas de difícil acceso como grietas y ranuras, donde pueden formarse estas estructuras, constituyen la principal limitación de los procedimientos de limpieza (Hernández y Gizem, 2012; Serra, 2003).

Mientras que con la limpieza se retiran los residuos orgánicos, la desinfección posterior es necesaria para eliminar los posibles microorganismos presentes, una desinfección incorrecta permitirá el crecimiento de biofilms (González-Rivas et al., 2015). Además, es de suma importancia el tiempo de contacto del producto químico desinfectante con la superficie a esterilizar, que en la mayoría de casos debe ser de mínimo 5 minutos. La eficacia de la desinfección dependerá directamente del desempeño de la limpieza previa (Serra, 2003).

Por otro lado, un estudio demostró que los altos niveles de carbohidratos extracelulares producidos por *L. monocytogenes* aumentan su capacidad de formar biofilms. En este caso, estudios genéticos que se enfoquen a la síntesis de carbohidratos contribuirán a entender el mecanismo de esta propiedad y con ello al control de biofilms de este microorganismo (Chae

et al., 2006). Si bien es más adecuado lograr prevenir la formación de estas estructuras antes que buscar tratamientos para eliminarlos, en la actualidad aún no se cuenta con un método que logre totalmente este objetivo (Simões et al., 2010). Los procedimientos de limpieza y desinfección convencionales son una herramienta importante para el control de biofilms, por ello, una revisión más amplia sobre los métodos actuales se desarrolla a continuación.

#### **4. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN CONVENCIONAL EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

La limpieza y desinfección en la industria alimentaria son fundamentales para obtener productos inocuos. Además, son procedimientos esenciales para evitar que se produzca contaminación cruzada y para asegurar el funcionamiento óptimo de maquinaria y equipos. Los procedimientos de limpieza y desinfección deben estar enfocados a prevenir brotes de ETAs y así salvaguardar la salud del consumidor. Aunado a ello es importante monitorear y verificar que el procedimiento se realice de manera óptima y así cumplir los objetivos antes mencionados. Dada la importancia que tienen los procesos de limpieza y desinfección en la industria alimentaria, estos procedimientos merecen el mismo valor que cualquier otra etapa del proceso de producción (Blackburn y McClure, 2009).

Es preciso tener en cuenta que una superficie aparentemente limpia a la vista puede no estarlo, y justamente esta consideración puede interferir en la conformidad de los procedimientos de higienización. Un ejemplo demostrativo es el agua turbia, la que requiere alrededor de 2.500 millones de bacterias para que muestre esta condición (OMS, 2007). Sin embargo, para enfermar a una persona es suficiente la presencia de menos de 100 células microbianas en el caso, por ejemplo, de *Shigella* spp. (González-Torralba y Alós, 2015) o incluso menos, como en el caso de infecciones por STEC, que se producen con una baja dosis infectiva de tan solo 10 células bacterianas (Rubaglio y Tesone, 2007).

Distinguir los conceptos de limpieza y desinfección es importante, la limpieza se refiere al proceso de remover físicamente la suciedad mientras que la desinfección consiste en eliminar microorganismos hasta niveles indetectables (OMS, 2007). Las estrategias de limpieza se clasifican dos categorías distintas, la Limpieza Fuera De Lugar o limpieza C.O.P. (Cleaning out of place) y la limpieza *in situ* o limpieza C.I.P. (Cleaning in Place). El método C.O.P, es un procedimiento de limpieza que puede ser manual o asistido por una máquina, en superficies

expuestas o con equipos que se pueden desmontar. Se enjuaga, limpia y desinfecta con ayuda de instrumentos como cepillos y dispositivos a alta presión con agua caliente, detergente y desinfectante (Berk, 2013). En cuanto a la limpieza, el método CIP es un procedimiento de limpieza muy utilizado en industrias procesadoras de alimentos. Éste es el procedimiento de higienización que se realiza en un sistema sin necesidad de desmontarlo, generalmente para limpiar tuberías o equipos internamente. Este procedimiento es controlado por un programa que tiene previamente establecidos determinados tiempos y dosificaciones, tanto de agua como de productos químicos que se aplicaran durante el proceso de limpieza. Durante el funcionamiento se monitorea los tiempos de permanencia de los agentes químicos, así como de las operaciones de enjuague y secado (Fellows, 2017). Además, se regula la temperatura, la conductividad y la velocidad del flujo (Van Asselt et al., 2002). La incrustación en instalaciones que se higienizan por CIP es un punto crítico a tener en cuenta (Van Asselt et al., 2002). Al evaluar la eficacia de estos sistemas de limpieza, se ha encontrado contaminación superficial significativa en forma de esporas gracias a un fenómeno de re-adhesión en las líneas de proceso, dado por suspensión del agua a cierta temperatura (Le Gentil et al., 2010). Por lo tanto, considerar la posible formación de biofilms es fundamental para el diseño de sistemas CIP (Kumari y Sarkar, 2014).

En cuanto a los desinfectantes químicos utilizados en la industria, el peróxido de hidrógeno es un desinfectante muy utilizado (Srey et al., 2013), los productos a base de cloro también son muy comunes, sin embargo ya se cuenta con evidencia de resistencia de las bacterias patógenas a estos productos (Anese et al., 2015; Srey et al., 2013). Por otro lado, el ozono es un gas empleado también como agente antimicrobiano (Khadre et al., 2001), sin embargo se determinó que ciertos microorganismos podrían resultar resistentes a su aplicación, probablemente por ciertas reacciones entre el ozono y la matriz del biofilm (Srey et al., 2013). Otro desinfectante usado es el ácido peracético, no obstante podría ser menos efectivo contra biofilms, ya que al parecer no degrada la matriz sino que le otorga más estabilidad (Srey et al., 2013). Finalmente, el amonio cuaternario es otro desinfectante que se usa con frecuencia, la baja tensión superficial que posee le permite penetrar en diferentes materiales, sin embargo podría ser ineficaz frente a biofilms de *L. monocytogenes* que han mostrado resistencia luego de su aplicación (Frank y Koffi, 1990).

En la actualidad aún no se cuenta con un procedimiento de limpieza y desinfección totalmente eficaz que pueda eliminar totalmente un biofilm (Jessen y Lammert, 2003). Las estrategias convencionales para el control de estas estructuras están basadas en la aplicación de productos

químicos, sin embargo es posible que los microorganismos desarrollen resistencia a estos métodos debido a intercambios genéticos o mutación (Gilbert et al., 2003). Además, los métodos tradicionales de limpieza y desinfección, que en su mayoría se basan en principios mecánicos, químicos o térmicos, suelen demandar elevadas cantidades de energía y tiempo. Todos estos factores revelan la necesidad de buscar nuevas metodologías alternativas que optimicen los procedimientos de limpieza y desinfección tradicionales, que sean eficaces y a la vez requieran: menos tiempo, costos más bajos, menor consumo energético, mayor sostenibilidad y además que no resulten dañinas para los utensilios y equipos (Otto et al., 2011).

## **5. TECNOLOGÍAS PARA PREVENIR FORMACIÓN DE BIOFILMS FRENTE A MÉTODOS CONVENCIONALES**

Conocer las características fisiológicas de las células que conforman los biofilms es necesario a la hora de plantear métodos para su eliminación, así como tener en cuenta la aplicación de métodos físicos que afecten su estabilidad (Lasa et al., 2005). Entre las principales tecnologías alternativas para el control de biofilms, destacan diversas técnicas como: bacteriófagos, bacteriocinas, biosurfactantes, enzimas, fotocátalisis, nanotecnología, aceites esenciales, entre otros (EFSA et al., 2020). Las enzimas se muestran como una alternativa acertada ya que si se utiliza una mezcla variada de estas proteínas, se logra degradar la matriz del biofilm (Simões et al., 2010). Por otra parte, el uso de bacteriófagos como agentes de control previo o junto a la aplicación de biocidas químicos es otro método para impedir la adhesión microbiana (Griffiths, 2010). Otra opción son los biosurfactantes, compuestos de origen microbiano que tienen la capacidad de modificar las propiedades hidrofóbicas de la superficie bacteriana, alterando la adhesión a otras superficies (Coronel-León et al., 2016).

Los aceites esenciales, son compuestos naturales con efectos de conservación y con propiedades antimicrobianas (Szczepanski y Lipski, 2014), algunos de ellos muestran aptitudes para el control de biofilms (Campana et al., 2017). Otra alternativa es la fotocátalisis, una tecnología versátil que se emplea para la desinfección en varias industrias y entornos como plantas de tratamiento de agua potable y aguas residuales, hospitales, laboratorios, entre otros. Esta tecnología resulta eficiente ya que es capaz de inactivar una amplia gama de microorganismos nocivos en diferentes medios (superficies, agua, aire, etc.). Por otra parte, las nanopartículas de ciertos compuestos, muestran un gran potencial para evitar la formación de biofilms (Awasthi et al., 2020), por lo que su incorporación en recubrimientos aplicados en superficies de contacto

sería también una alternativa. Además, la aplicación de recubrimientos fotocatalíticos en diversas superficies cuenta con un gran potencial por su capacidad de “auto desinfección”, muy necesaria para entornos que requieren estándares altos de higiene (Gamage y Zhang, 2010), aplicar recubrimientos “autolimpiantes”, podría reducir el uso de productos químicos y mano de obra (Weng et al., 2016).

La tecnología de obstáculo o Hurdle es otra opción prometedora para el control de biofilms (Srey et al., 2013), esta tecnología comprende la mezcla de dos o más técnicas que hayan demostrado ser efectivas para el control de microorganismos, sin embargo, la combinación debe ser adecuada para lograr buenos resultados (Srey et al., 2013). Por ejemplo, la aplicación de agentes químicos y campos eléctricos, ambas técnicas combinadas contribuirían a que los productos químicos penetren en la matriz del biofilm (Bower et al., 1996). Otro modelo de la tecnología Hurdle es el uso de la técnica de ultrasonido junto a la aplicación de ozono en superficies de acero inoxidable. Al parecer combinar estas dos técnicas reflejaría mejores resultados (Baumann et al., 2009). La aplicación de radiación UV en superficies recubiertas con dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), se presenta como una técnica Hurdle de elevado interés para el control de biofilms, ya que al inactivar microorganismos bajo exposición a luz visible y en especial con luz ultravioleta (Nica et al., 2017), podría ser una alternativa interesante para la desinfección en entornos de procesamiento.

## **6. FOTOCATALISIS EN RECUBRIMIENTOS DE SUPERFICIES ALIMENTARIAS**

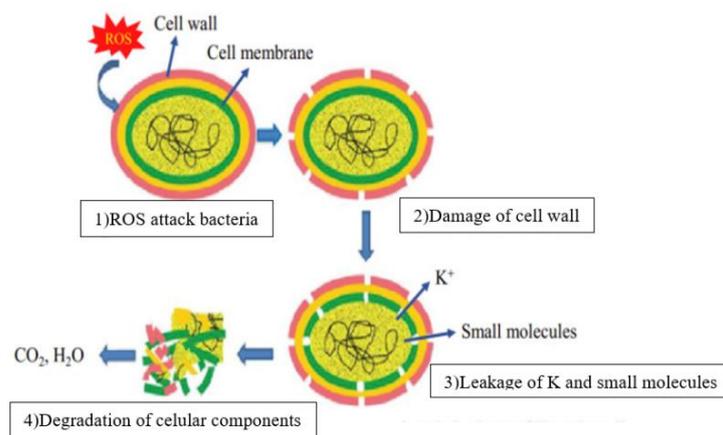
Actualmente, la fotocatalisis es una técnica que cuenta con varios estudios y aplicaciones para tratar la contaminación ambiental (Xu et al., 2014), en cambio, su aplicación como técnica antimicrobiana en la industria de alimentos aún no ha sido muy desarrollada.

### **6.1 Fotocatálisis**

La tecnología de fotocatalisis o fotoactivación se lleva a cabo cuando una sustancia fotocatalizadora absorbe energía. La fotocatalisis es una reacción fotoquímica que se basa en la oxidación de compuestos orgánicos volátiles presentes en el aire, mediante un catalizador semiconductor que se activa por una luz con determinada longitud de onda. Para que se lleve a cabo esta reacción, es necesario contar con un compuesto oxidante a degradar, un medio donde

se produzca la reacción, un fotocatalizador u otro compuesto semiconductor y una fuente de luz ultravioleta natural o artificial (Sánchez et al., 2012).

Los procesos avanzados de oxidación que comprende esta tecnología, dan lugar a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Malato et al., 2009). Las ROS son las especies químicas capaces de inactivar microorganismos al desencadenar un efecto biocida (Cai et al., 2014). Ejemplos de estos compuestos son los radicales hidroxilos ( $\cdot\text{OH}$ ), los radicales superóxidos y el peróxido de hidrogeno. Los ROS primero causan una filtración del contenido celular y posteriormente la lisis de la célula (Foster et al., 2011). El efecto letal hacia los microorganismos se produce mediante la degradación de la pared celular y de la membrana citoplasmática de manera irreversible (**Figura 2**) (Kühn et al., 2003). En este sentido, la temperatura también es un factor importante en cuanto al incremento de la transferencia interfacial que facilita la producción de radicales hidroxilo (Ramírez-Sánchez et al., 2017).



**Figura 2.** Diagrama esquemático de ROS y la muerte fotocatalítica de bacterias (Yadav et al., 2016)

La eficiencia del tratamiento fotocatalítico está influenciada por el grado de absorción de luz, la separación de carga y la reactividad superficial (Xu et al., 2014). Esta técnica muestra mayor efecto biocida en bacterias Gram negativas que en Gram positivas (Priha et al., 2011). Una posible explicación de esta condición sería que las células con mayor resistencia al tratamiento probablemente sean las que poseen paredes celulares más gruesas (Foster et al., 2011). Por otro lado, al evaluar la eficacia de la fotocatalisis directamente sobre superficies de acero inoxidable y aluminio, se han obtenido buenos resultados en ambos y un mejor efecto sobre el primero (Weng et al., 2016). Sin embargo, existen determinados microorganismos que poseen

mecanismos capaces de tolerar el estrés oxidativo de la reacción (Weng et al., 2016). Por ello, se debe considerar que el tipo de microbiota que se encuentra en la superficie también es un factor importante que puede influir directamente en la eficacia del tratamiento. En consecuencia, es necesario realizar más investigación sobre los factores comprometidos en esta reacción, ya que todos ellos contribuyen con la eficacia de los resultados.

## 6.2 Sustancias fotocatalíticas

Las nanopartículas metálicas se muestran como una alternativa prometedora gracias a sus potentes propiedades antimicrobianas que se dan por el contacto directo con la pared celular. A diferencia de las micropartículas, las nanopartículas tienen mayor poder bactericida debido a que alcanzan más espacios funcionales (Galié et al., 2018). Por otra parte, algunas nanopartículas son menos propensas a inducir resistencia a los antibióticos tradicionales (Beyth et al., 2015; Luksiene, 2017), por ello, aunque esta teoría requiere mayor investigación y desarrollo, su aplicación en superficies podría ser una posible opción desinfectante.

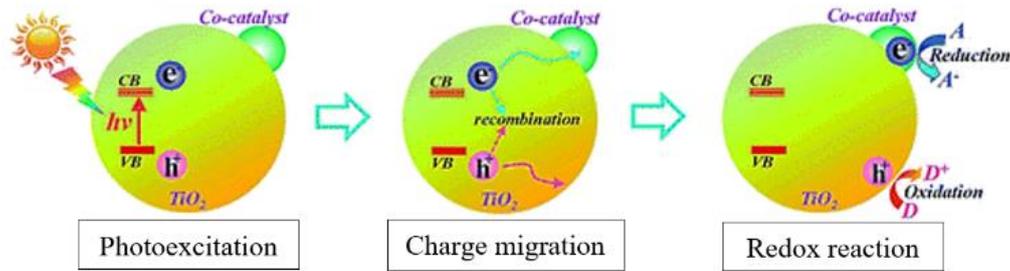
Se tiene referencia de varios estudios que evalúan la capacidad antimicrobiana de nanopartículas de distintos tipos. Por ejemplo, el ZnO que es un aditivo alimentario seguro evaluado por la FDA, y cuenta con capacidad antimicrobiana cuanto se encuentra en escala nanométrica (Espitia et al., 2012). En un estudio se observó la reducción de formación de biofilms de *Bacillus subtilis* debido a la exposición con nanopartículas de ZnO que produjeron estrés oxidativo. El aumento de la dosis de nanopartículas en el medio redujo la adhesión de las bacterias y la formación de biofilms (Awasthi et al., 2020). Otro estudio demostró que la acción conjunta de nanopartículas de ZnO y Ag<sub>2</sub>O muestra una alta eficacia antimicrobiana para *S. aureus* y *E. coli* en superficies de poliéster incrustadas, dependiendo de la concentración de los catalizadores (Fontecha-Umaña et al., 2020). En otra investigación, nanopartículas de ZnO mostraron efectividad antibacteriana contra *E. coli* al trabajar con una concentración alta del fotocatalizador (Aponiene y Luksiene, 2015). Sin embargo, otro estudio que evaluó la eficacia de TiO<sub>2</sub> junto a Cu<sub>3</sub> bajo la aplicación de luz visible, evidenció efectividad antibacteriana cuando se expuso la superficie a la luz, mientras que las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> solas y bajo luz visible no mostraron ningún efecto inhibitorio sobre las bacterias. Estos resultados podrían sugerir que la aplicación de luz UV, junto a TiO<sub>2</sub>, podría requerir un agente o compuesto adicional para lograr una desinfección fotocatalítica efectiva (Yadav et al., 2014).

Actualmente las nanopartículas de plata son muy estudiadas, sin embargo, las nanopartículas de óxido metálico son probablemente las que más se utilizan, como nanopartículas de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CuO}$  y  $\text{MgO}$ . Entre otros semiconductores investigados, figura el titanato de estroncio ( $\text{SrTiO}_3$ ), el sulfuro de cadmio ( $\text{CdS}$ ), el trióxido de tungsteno ( $\text{WO}_3$ ) y el  $\text{TiO}_2$ . Debido a que este último compuesto demuestra alta eficacia (Xu et al., 2014), es preciso desarrollarlo en forma más amplia.

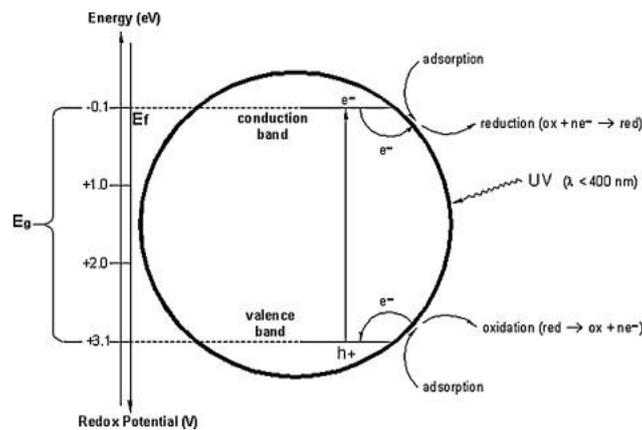
### 6.1 Dióxido de titanio y cualidades

El  $\text{TiO}_2$  es un material de uso básico en la vida diaria, muy adecuado para actuar como fotocatalizador en procedimientos de desinfección ambiental (Fujishima et al., 2000). Actualmente se viene aplicando este compuesto en desinfección de agua, purificación de aire, vidrios autolimpiantes, implantes óseos, superficies de distintos materiales, entre otros (Kühn et al., 2003; Schneider et al., 2014). El  $\text{TiO}_2$  ha demostrado gran potencial como fotocatalizador gracias a su estabilidad física y química, no toxicidad y alta reactividad (Navabpour et al., 2014), además de ser un material económico y de alto poder oxidante bajo la luz UV (Long et al., 2014). Este compuesto también es un fotocatalizador natural de compuestos orgánicos, propiedad que se aprecia por ejemplo al colocar  $\text{TiO}_2$  en polvo en una piscina poco profunda, con agua contaminada y bajo luz solar. Se podrá ver que el agua se purifica poco a poco (Fujishima et al., 2000). El  $\text{TiO}_2$  es un aditivo alimentario aprobado por la EFSA, quien además en su informe sobre la evaluación de toxicidad de este compuesto, indica que su uso como aditivo alimentario no supone una preocupación genotóxica (EFSA, 2016). En cuanto a su composición, el  $\text{TiO}_2$  posee tres estructuras cristalinas: anatasa, rutilo y brookita, entre las cuales la anatasa muestra la fotoactividad más alta (Wold, 1993).

La acción del  $\text{TiO}_2$  como fotocatalizador se produce cuando absorbe energía y produce ROS (radicales  $\cdot\text{OH}$  y superóxido) que provocan la degradación de la pared celular y la membrana citoplasmática, radicales que resultan capaces de inactivar a los microorganismos (**Figura 3**) (Kühn et al., 2003). En la superficie del catalizador se producen actividades reductoras y oxidantes. En concreto, el agujero en la banda de valencia reacciona con agua y genera los radicales  $\cdot\text{OH}$  (**Figura 4**). En la reacción fotocatalítica, el electrón en la banda de conducción reacciona con el oxígeno para producir aniones superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) (Maness et al., 1999). Los radicales  $\cdot\text{OH}$  son los compuestos que atacan a los microorganismos en la superficie (Kühn et al., 2003).



**Figura 3.** Esquema del proceso fotocatalítico sobre la superficie de TiO<sub>2</sub> (Dalrymple et al., 2010)



**Figura 4.** Esquema del proceso fotocatalítico sobre la superficie de TiO<sub>2</sub> (Dalrymple et al., 2010)

En cuanto al efecto biocida, primero se origina la fuga de contenido celular, luego se lleva a cabo la lisis y finalmente puede producirse una completa mineralización del microorganismo (Foster et al., 2011). En un estudio realizado con *E. coli* K-12 en presencia de TiO<sub>2</sub> y bajo radiación UV-A, se determinó que los efectos biocidas del tratamiento fueron causados por la reacción de peroxidación de lípidos, que se asumió como el motivo de la muerte celular. Según los resultados del estudio, los ROS generados en la superficie irradiada del TiO<sub>2</sub> atacaban a los fosfolípidos poliinsaturados de *E. coli* K-12. La peroxidación de lípidos provoca la ruptura de la membrana celular, por ello se podría considerar que el mecanismo de ataque en la fotocatalisis es aplicable a todos los tipos de células (Maness et al., 1999). Los ROS generados son capaces de atacar endosporas bacterianas en medios como el agua, el aire y superficies de diversos materiales (Foster et al., 2011). Además, el TiO<sub>2</sub> fotoactivado tiene efecto antibacteriano frente a una amplia gama de bacterias Gram negativas y Gram positivas, hongos filamentosos, levaduras, algas, endosporas bacterianas, protozoos y virus (Kühn et al., 2003).

Por otra parte, según la composición y proceso de fabricación, el  $\text{TiO}_2$  posee propiedades fotocatalíticas e hidrófilas en distinta proporción (Fujishima et al., 2000). La fotocatalisis concede propiedad hidrófila a los recubrimientos con este compuesto, alterando las cualidades de la superficie sobre la que se produzca la reacción. La hidrofilia permite que las gotas de agua en la superficie se extiendan y puedan secarse rápidamente (Fujishima et al., 2000), condición que perjudica el desarrollo de los microorganismos presentes que puedan desencadenar la formación de biofilms.

En cuanto a la efectividad del tratamiento fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$ , se registra mayor efecto cuando existe contacto más cercano entre microorganismos y este compuesto, así como con la presencia adicional de agentes antimicrobianos como Cu y Ag, que refuerzan las reacciones biocidas de la fotocatalisis (Foster et al., 2011). Además, la efectividad de la desinfección fotocatalítica también está relacionada a la cantidad de  $\text{TiO}_2$  presente (Huppmann et al., 2014). Sin embargo, el análisis de la efectividad del tratamiento debe realizarse con especial atención, según las condiciones que reúne el entorno de la industria donde se vaya a aplicar la tecnología y conforme al tipo de biofilm con el que se esté tratando. Finalmente, el uso de materiales que incorporen nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  se proyecta como una tecnología alternativa y prometedora que reúne efectos antibacterianos y fotocatalíticos, y que a su vez puede aumentar la eficacia de un tratamiento que tan solo fuera a través de luz UV (Kühn et al., 2003; Pantaroto et al., 2018).

## **6.2 Recubrimientos con sustancias fotocatalíticas**

La industria alimentaria lleva a cabo sus procesos en ambientes húmedos, entornos que, junto con otras características, reúnen condiciones óptimas para la formación de biofilms. Por tanto, el diseño de superficies, el uso de métodos físicos y la aplicación de materiales de recubrimiento que repelan la adhesión microbiana son aspectos de gran interés de investigación (Motarjemi, 2013). Modificar las superficies de contacto incorporando materiales o compuestos adecuados, provocará que los microorganismos patógenos no encuentren condiciones que permitan su adhesión y consecuente desarrollo de biofilms (Araújo et al., 2010).

Una de las principales ventajas de estos recubrimientos es que se puede conseguir efectos antibacterianos continuos o discontinuos, ya que, con fotocatalizadores de longitud de onda de absorción en el rango de luz visible, se puede lograr efecto antibacteriano continuo. En cuanto

al efecto discontinuo, se puede obtener mediante el uso de radiación infrarroja (IR) o ultravioleta (UV) (Mitra et al., 2020). La efectividad biocida de recubrimientos de TiO<sub>2</sub>, está relacionada con la producción de radicales ·OH durante el proceso de fotocátalisis (Barthomeuf et al., 2019). Sin embargo, dado que existen ciertas cepas capaces de reducir las ROS por ser más o menos tolerantes ante el estrés oxidativo, esta característica podría repercutir sobre la efectividad del recubrimiento (Weng et al., 2016). Por otra parte, se puede observar que hay mejor efecto antimicrobiano cuando hay mayor contacto entre microorganismos y TiO<sub>2</sub> (Foster et al., 2011) así como también, al aumentar el espesor de los recubrimientos (Barthomeuf et al., 2019; Weng et al., 2016). Según todo ello, es necesario conocer más a fondo las interacciones que se llevan a cabo entre los recubrimientos con TiO<sub>2</sub> y la pared celular de los microorganismos cuando se produce el efecto biocida para así poder establecer condiciones determinadas que optimicen la reacción fotocatalítica de desinfección (Rodríguez-González et al., 2020).

Además, al aplicar recubrimientos con TiO<sub>2</sub> en una superficie, el área muestra una conducta hidrófila que facilita la evaporación del agua presente. Esta reacción afecta a los microorganismos, ya que se elimina el agua y por consiguiente las condiciones húmedas que preparan la superficie y que es esencial para su crecimiento (Muranyi et al., 2010). Por otra parte, el TiO<sub>2</sub> cuenta con estabilidad física y química que otorga larga duración a los recubrimientos que lo tienen incorporado (Muranyi et al., 2010), lo cual resulta provechoso para su aplicación.

## **7. RADIACIÓN UV**

La luz ultravioleta es la porción del espectro electromagnético que se encuentra entre los rayos X y la luz visible. Se clasifica según el rango de longitud de onda en UV-vacío (100 a 200 nm), UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 315 nm) y UV-A (315 a 400 nm) (Gayán et al., 2013; Meulemans, 1987). La acción de la luz UV está basada en la emisión de radiación dentro de la región ultravioleta (100 – 400 nm), más específicamente en la región UV-C (Pedrós-Garrido et al., 2018), que es el rango más efectivo contra bacterias patógenas, levaduras y mohos que contra virus (Koutchma, 2009). Los efectos de la luz UV sobre el material genético, son la causa principal de la inactivación microbiana, aunque también la luz UV puede dañar las proteínas de la célula (Gayán et al., 2014). La resistencia de un microorganismo a la radiación UV dependerá de cuan efectivos son sus mecanismos de reparación de ADN y de la magnitud del daño causado

por el tratamiento (Barbosa-Cánovas et al., 2004). Considerando que las bacterias cambian su fisiología según las condiciones de crecimiento, la resistencia a la radiación UV podría variar significativamente (Barbosa-Cánovas et al., 2004).

Es necesario considerar, antes de aplicar el tratamiento, la variabilidad de resistencia a la radiación UV que podría darse. Esta resistencia puede ser según la cepa, especie, género y condiciones de crecimiento microbiano (Gayán et al., 2014). Factores como la capacidad de penetración de la radiación, el efecto de sombra y la presencia de agrupaciones de microorganismos en lugares de difícil acceso, pueden disminuir el efecto biocida del tratamiento, sin embargo, combinar la aplicación de UV con otras tecnologías con efectos aditivos y/o sinérgicos podría tener mejores resultados (Fan et al., 2017). El uso de sustancias fotocatalíticas junto a la aplicación de UV es una alternativa que podría perfeccionar los efectos de la técnica.

### **7.1 UV y sustancias fotocatalíticas**

Aunque el  $\text{TiO}_2$  es un compuesto biocida de por sí, se ha demostrado que la aplicación de radiación UV aumenta el efecto antimicrobiano de este compuesto (Huppmann et al., 2014). En este sentido, la combinación de ambos métodos genera una reacción fotocatalítica, donde la concentración de radicales  $\cdot\text{OH}$  producidos tendría una relación lineal con la actividad biocida (Cho et al., 2004). La desinfección para superficies mediante radiación UV sobre fotocatalizadores de este material, resulta una combinación de factores interesante para la mejora de la inocuidad alimentaria (Chorianopoulos et al., 2011). La aplicación de  $\text{TiO}_2$  junto a radiación UV, es una tecnología usada actualmente para el tratamiento de agua potable y aguas residuales, sin embargo, estudios sobre la aplicación de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  bajo el efecto de radiación UV-A en superficies de contacto con alimentos, han resultado una técnica efectiva para eliminar microorganismos patógenos (Chorianopoulos et al., 2011). Además, según la forma de aplicación y desempeño, ésta tecnología podría resultar una forma rápida de desinfección de superficies (Chorianopoulos et al., 2011). La aplicación de UV sobre recubrimientos con sustancias conductoras de luz, permite realizar la desinfección de superficies mediante el uso de un semiconductor ( $\text{TiO}_2$ ) que es estimulado por radiación UV (Kühn et al., 2003). Cuando el catalizador absorbe la radiación, se desplaza un electrón a la banda de conducción, creando un par-electrón libre y un agujero de electrón cargado positivamente (Maness et al., 1999), ésta reacción da lugar a la aparición de ROS, capaces de

causar la muerte celular. Se tiene evidencia de que la tecnología tiene fuerte actividad desinfectante contra bacterias Gram negativas y Gram positivas (Long et al., 2014).

La efectividad del tratamiento de fotocátalisis de  $\text{TiO}_2$  junto a la radiación UV, tiene relación directa con la concentración del fotocatalizador, la carga microbiana y la luz UV (Long et al., 2014), sin embargo, más adelante se describen otros factores que también influyen en el resultado. La aplicación de películas de recubrimiento brinda practicidad a la metodología de fotoactivación por radiación UV (Zhu et al., 2018). En consecuencia, los recubrimientos de  $\text{TiO}_2$  podrían ser una herramienta para mejorar la higiene y seguridad de la industria alimentaria (Muranyi et al., 2010) y que aplicados junto al procedimiento de desinfección, contribuirían a mantener una baja carga microbiana en las superficies.

## 7.2 Efectividad del tratamiento

Un estudio evaluó el desempeño del tratamiento frente a ciertos desinfectantes químicos. El resultado de la investigación realizada con *E. coli* mostró que el tratamiento con  $\text{TiO}_2$ , bajo radiación UV  $< 300$  nm, resultó más efectivo para inactivar *E. coli* en comparación de otros desinfectantes químicos como cloro, ozono y dióxido de cloro (Cho et al., 2004). Así como este ensayo, distintas investigaciones han evaluado el efecto de esta tecnología frente a distintos microorganismos y condiciones. En la **Tabla 2** se reúne algunos estudios sobre esta técnica.

**Tabla 2.** Actividad antimicrobiana de TiO<sub>2</sub> contra diversos patógenos microbianos

<b>Fotocatalizador</b>	<b>Microorganismo</b>	<b>Tipo UV</b>	<b>Superficie</b>	<b>Tiempo irradiación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Referencia</b>
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>E. coli</i> K-12	365 nm	Placas de agar	30 minutos	Inactivación del microorganismo	Maness et al. (1999)
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>E. coli</i>	< 300 nm	Reactor Pyrex	5 horas	Inactivación de 2 log del microorganismo	Cho et al. (2004)
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>Penicillium expansum</i>	UV-A	Plagas de agar	72 horas	Reducción de las colonias visibles	Maneerat y Hayata (2006)
Recubrimiento TiO <sub>2</sub>	<i>Kocuria rhizophila</i>	UV-A	Portaobjetos de vidrio	4 horas	Reducción de la carga microbiana (hasta 5·2 log <sub>10</sub> )	Muranyi et al. (2010)
Recubrimiento TiO <sub>2</sub>	Biofilm de <i>L. monocytogenes</i>	UV-A	Vidrio y acero inoxidable	90 minutos	Vidrio: 2.33 log UFC/cm <sup>2</sup> Acero 2.89 log UFC/cm <sup>2</sup>	Chorianopoulos et al. (2011)
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Listeria innocua</i>	UV-A	Placas de Petri y azulejos	180, 60, 30 y 20 minutos	Reducción de la carga microbiana	Bonetta et al. (2013)
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>B. subtilis</i>	253.7 nm	Reactor con placas de Petri	10 minutos	Inactivación del microorganismo entre 3.08-3.95 log UFC/ml	Zhang et al. (2014)
Recubrimientos de TiO <sub>2</sub>	<i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium	254-365 nm	Acero y aluminio	20 minutos	Reducción del número total de células viables adherentes	Weng et al. (2016)
TiO <sub>2</sub> en suspensión	<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>L. casei</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Lactococcus lactis</i> y <i>S. enterica</i> var. Enteridis, <i>E. coli</i>	315-400 nm	Placas de microtitulación	6 minutos	Reducción de la carga microbiana en <i>E. coli</i> entre 2-3 log UFC/ml	Ripolles-Avila et al. (2019)

La combinación simultánea de luz UV con agentes oxidantes puede lograr tratamientos de inactivación microbiana exitosos (Gayán et al., 2014), sin embargo factores como características o tipo de superficie (Weng et al., 2016), dosis de la radiación UV, longitud de onda, temperatura del tratamiento, especie microbiana a tratar (Weng et al., 2016), serotipo, estado (viable, no cultivable), ubicación del microorganismo y el nivel de inoculación afectaran la eficacia del tratamiento (Fan et al., 2017).

Evaluar la sensibilidad de varios microorganismos frente a la aplicación de radiación UV sobre recubrimientos de TiO<sub>2</sub>, también dependerá de la naturaleza de los mismos y de los parámetros de tratamiento (Ramesh et al., 2016). No obstante, la acción biocida de la técnica también estará sujeta a otros factores como características de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, concentración del compuesto (Kim et al., 2003; Maneerat y Hayata, 2006) (anteriormente señalado), carga microbiana, intensidad de la luz aplicada y el tipo de microorganismo presente (Rodríguez-González et al., 2020). La distancia entre la superficie de contacto y la fuente de luz (Koutchma, 2009), el tipo de fuente de radiación (Gómez-López et al., 2012) y el tiempo de aplicación de la radiación UV (Kim et al., 2003; Weng et al., 2016; Zhang et al., 2014), también repercuten en los resultados.

## **8. ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales son compuestos naturales con efectos de conservación y antimicrobianos (Szczepanski y Lipski, 2014). La amplia variedad de aceites esenciales vegetales permite que se pueda investigar un sinnúmero de combinaciones con propiedades para controlar e inhibir biofilms (Campana et al., 2017; Galié et al., 2018). Los aceites esenciales vegetales son una mezcla compleja de especies de monoterpenoides, sesquiterpenoides y flavonoides. Varios componentes de los aceites esenciales se manifiestan como antibacterianos efectivos, entre ellos se destaca el carvacrol, timol, eugenol, perillaldehído, cinamaldehído y ácido cinámico (Burt, 2004).

### **8.1 Aplicación y actividad antimicrobiana**

La mayor parte de la actividad antimicrobiana en los aceites esenciales de especias y hierbas, al parecer proviene de compuestos fenólicos. Según Mourey y Canillac (2002), constituyentes como los monoterpenos (pineno, limoneno, cineol) parecen ser antimicrobianos efectivos y al

parecer, los microorganismos Gram positivos resultarían ser más sensibles que los Gram negativos (Burt, 2004; Smith-Palmer et al., 1998).

Por otra parte, la hidrofobicidad de los aceites esenciales les permite dividirse en los lípidos de la membrana celular y las mitocondrias. Esta reacción provoca permeabilidad, fuga del contenido celular, y con ello el efecto biocida. Otras condiciones que mejoran los efectos bactericidas de los aceites esenciales son bajos niveles de oxígeno, de pH y de temperatura (Burt, 2004). Por otro lado, en cuanto a la evaluación de los resultados, la microscopia laser de barrido confocal es una herramienta muy útil para confirmar los efectos de los aceites esenciales ante la formación de biofilms (Leonard et al., 2010). Ciertos estudios han evaluado el efecto microbiano de distintos tipos de aceites esenciales frente a microorganismos y biofilms (**Tabla 3**).

Las diferencias encontradas luego de evaluar resultados de diversos estudios, pueden ser debido a varios factores como las cepas usadas, la concentración y la composición química de los aceites esenciales del ensayo, el tiempo de exposición a los mismos, la etapa de crecimiento en la que se encuentre el biofilm con el que se esté tratando y la naturaleza de la superficie en la que se lleva a cabo la adhesión de la estructura (Leonard et al., 2010).

**Tabla 3.** Actividad antimicrobiana de aceites esenciales contra diversos patógenos microbianos.

<b>Aceite esencial</b>	<b>Microorganismo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Resultado</b>	<b>Referencia</b>
<i>Origanum vulgare</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	Superficie: Placas de Petri Tiempo incubación: 24 horas Concentración: 625 uL/mL	10 <sup>4</sup> UFC/ml en 1 minuto	Burt y Reinders (2003)
<i>Mentha piperita</i> y <i>Cymbopogon</i>	<i>S. enterica</i> serovar Enteritidis S64	Superficie: acero inoxidable Tiempo incubación: 240 horas Concentración inhibitoria mínima: 7.8 uL/mL	UFC/cm <sup>2</sup> < 0.03	Valeriano et al. (2012)
<i>Coriandrum sativum</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Superficie: Placas microtituladora Tiempo incubación: 24 horas Concentración inhibitoria mínima: 0.125-4%	Inhibición del desarrollo del biofilm	Duarte et al. (2013)
<i>Thymus</i>	Biofilms de <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Sphingomonas</i> spp. y <i>Stenotrophomonas</i> spp.	Superficie: Placas de Petri Tiempo incubación: 24 horas Concentración inhibitoria mínima: 0.031%	Inhibición del desarrollo del biofilm	Szczepanski y Lipski (2014)
<i>Cinnamomum cassia</i> y <i>Salvia officinalis</i>	Biofilm de <i>S. aureus</i>	Superficie: acero inoxidable Concentración inhibitoria mínima: 1.25% Tiempo incubación: 24 horas	Reducción logarítmica > 3 log UFC/cm <sup>2</sup>	Campana et al. (2017)

## 8.2. Recubrimientos fotocatalíticos y aceites esenciales

Tanto las nanopartículas como los aceites esenciales son agentes de alta actividad antimicrobiana, por ello, su combinación resulta una propuesta atractiva. Según Basavegowda et al. (2020), al unir la estabilidad física y química de las nanopartículas y su propiedad de alcance de superficie con los constituyentes antimicrobianos de los aceites esenciales, se logra dañar más fácilmente la membrana celular. Por otro lado, encapsular con nanopartículas los aceites esenciales permite aumentar la solubilidad, estabilidad y disminuir la volatilidad de los mismos (Basavegowda et al., 2020). Actualmente no se cuenta con muchos estudios sobre la aplicación de aceites esenciales junto a recubrimientos fotocatalíticos.

## 9. CONCLUSIONES

La combinación de técnicas de desinfección como la radiación UV y los recubrimientos con sustancias fotocatalíticas para prevenir la formación de biofilms es una alternativa de tecnología Hurdle interesante, ya que, al combinar dichas técnicas se podría disminuir las limitaciones que presenta cada una por separado. Además, incluir lámparas UV en ciertos equipos de procesamiento, que emitan radiación sobre recubrimientos “autodesinfectantes” en forma continua, podría sacar ventaja de los tiempos muertos de producción. Por otra parte, adicionar aceites esenciales al método, podría incrementar la eficacia de la técnica, sin embargo, es necesario considerar los distintos factores determinados por los estudios realizados, para lograr una combinación de condiciones idónea que favorezca el efecto microbiano final.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Anese, M., Bot, F., Panozzo, A., Mirolo, G., y Lippe, G. (2015). Effect of ultrasound treatment, oil addition and storage time on lycopene stability and in vitro bioaccessibility of tomato pulp. *Food Chemistry*, 172, 685-691.
- Aponiene, K., y Luksiene, Z. (2015). Effective combination of LED-based visible light, photosensitizer and photocatalyst to combat Gram (-) bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 142, 257-263.
- Araújo, E. A., de Andrade, N. J., da Silva, L. H. M., de Carvalho, A. F., de Sá Silva, C. A., y Ramos, A. M. (2010). Control of microbial adhesion as a strategy for food and bioprocess

- technology. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 321-332.
- Awasthi, A., Sharma, P., Jangir, L., Kamakshi, Awasthi, G., Awasthi, K. K., y Awasthi, K. (2020). Dose dependent enhanced antibacterial effects and reduced biofilm activity against *Bacillus subtilis* in presence of ZnO nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 113, 111021.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Tapia, M. S., Cano, M. P., Martín-Belloso, O., y Martínez, A. (2004). Novel food processing technologies. En *Novel Food Processing Technologies*.
- Barthomeuf, M., Castel, X., Le Gendre, L., Louis, J., Denis, M., y Pissavin, C. (2019). Effect of titanium dioxide film thickness on photocatalytic and bactericidal activities against *Listeria monocytogenes*. *Photochemistry and Photobiology*, 95(4), 1035-1044.
- Basavegowda, N., Patra, J. K., y Baek, K.-H. (2020). Essential oils and mono/bi/tri-metallic nanocomposites as alternative sources of antimicrobial agents to combat multidrug-resistant pathogenic microorganisms: An overview. *Molecules*, 25(5), 1058.
- Baumann, A. R., Martin, S. E., y Feng, H. (2009). Removal of *Listeria monocytogenes* biofilms from stainless steel by use of ultrasound and ozone. *Journal of Food Protection*, 72(6), 1306-1309.
- Berk, Z. (2013). Cleaning, Disinfection, Sanitation. En *Food Process Engineering and Technology* (pp. 637-650).
- Beyth, N., Hourri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., y Hazan, R. (2015). Alternative antimicrobial approach: Nano-antimicrobial materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-16.
- Blackburn, C. D. W., y McClure, P. J. (2009). Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and control: Second Edition. En *Foodborne Pathogens: Hazards, Risk Analysis and Control: Second Edition*.
- Bonetta, S., Bonetta, S., Motta, F., Strini, A., y Carraro, E. (2013). Photocatalytic bacterial inactivation by TiO<sub>2</sub>-coated surfaces. *AMB Express*.
- Borucki, M. K., Peppin, J. D., White, D., Loge, F., y Call, D. R. (2003). Variation in Biofilm Formation among Strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Bower, C. K., McGuire, J., y Daeschel, M. A. (1996). The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces. *Trends in Food Science & Technology*, 7(5), 152-157.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.

- Burt, S. A., y Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*.
- Buzby, J. C., y Roberts, T. (1997). Economic costs and trade impacts of microbial foodborne illness. *World Health Statistics Quarterly*, Vol. 50, pp. 57-66.
- Cai, Y., Strømme, M., y Welch, K. (2014). Disinfection kinetics and contribution of reactive oxygen species when eliminating bacteria with TiO<sub>2</sub> induced photocatalysis. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 5(3), 200-209.
- Campana, R., Casettari, L., Fagioli, L., Cespi, M., Bonacucina, G., y Baffone, W. (2017). Activity of essential oil-based microemulsions against *Staphylococcus aureus* biofilms developed on stainless steel surface in different culture media and growth conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 132-140.
- Carpentier, B., y Cerf, O. (1993). Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(6), 499-511.
- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., y García-Gimeno, R. M. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*.
- CCAES. (2019). Informe de fin de seguimiento del brote de listeriosis (27 de septiembre de 2019). En *Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social*.
- CDC. (2019, julio). Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 2017: Annual report. *Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services.*, Vol. 62, pp. 91-93.
- Chae, M. S., Schraft, H., Truelstrup Hansen, L., y Mackereth, R. (2006). Effects of physicochemical surface characteristics of *Listeria monocytogenes* strains on attachment to glass. *Food Microbiology*, 23(3), 250-259.
- Chmielewski, R. A. N., y Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(1), 22-32.
- Cho, M., Chung, H., Choi, W., y Yoon, J. (2004). Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO<sub>2</sub> photocatalytic disinfection. *Water Research*, 38(4), 1069-1077.
- Chorianopoulos, N. G., Tsoukleris, D. S., Panagou, E. Z., Falaras, P., y Nychas, G.-J. E. (2011). Use of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysts as alternative means for *Listeria monocytogenes* biofilm disinfection in food processing. *Food Microbiology*, 28(1), 164-170.
- Colagiorgi, A., Bruini, I., Di Ciccio, P. A., Zanardi, E., Ghidini, S., y Ianieri, A. (2017). *Listeria monocytogenes* biofilms in the wonderland of food industry. *Pathogens*, 6(3), 41.

- Coronel-León, J., Marqués, A. M., Bastida, J., y Manresa, A. (2016). Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control. *Journal of Applied Microbiology*, 120(1), 99-111.
- Costerton, J. (1995). Overview of microbial biofilms. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 137-140.
- Dalrymple, O. K., Stefanakos, E., Trotz, M. A., y Goswami, D. Y. (2010). A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental*, 98(1-2), 27-38.
- De la Fuente-Núñez, C., Reffuveille, F., Fernández, L., y Hancock, R. E. W. (2013). Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: Antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Current Opinion in Microbiology*.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881-890.
- Donlan, R. M., y Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193.
- Duarte, A. F., Ferreira, S., Oliveira, R., y Domingues, F. C. (2013). Effect of coriander oil (*Coriandrum sativum*) on planktonic and biofilm cells of *Acinetobacter baumannii*. *Natural Product Communications*.
- Dunsmore, D. G. (1981). Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. I. Detergent effects. *Journal of Food Protection*, 44(1), 15-20.
- EFSA-ECDC. (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 16(12), 5500.
- EFSA-ECDC. (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 17(12), 5926.
- EFSA. (2016). Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(9), 4545.
- EFSA. (2019). Multi-country outbreak of *Salmonella Poona* infections linked to consumption of infant formula. *EFSA Supporting Publications*, 16(3), 1594.
- EFSA, Koutsoumanis, K., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., ... Allende, A. (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. *EFSA Journal*, 18(4), 6092.
- Elortondo, F. j. P., Salmerón, J., Albisu, M., y Casas, C. (1999). Biofilms in the food industry. *Food Science and Technology International*.
- Espinosa, L., Varela, C., Martínez, E. V., y Cano, R. (1997). Boletín epidemiológico semanal.

- Boletín epidemiológico semanal*, 22(11), 130-136.
- Espitia, P. J. P., Soares, N. de F. F., Coimbra, J. S. dos R., de Andrade, N. J., Cruz, R. S., y Medeiros, E. A. A. (2012). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1447-1464.
- Faille, C., Cunault, C., Dubois, T., y Bénézech, T. (2018). Hygienic design of food processing lines to mitigate the risk of bacterial food contamination with respect to environmental concerns. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.
- Fagerlund, A., Møretrø, T., Heir, E., Briandet, R., y Langsrud, S. (2017). Cleaning and disinfection of biofilms composed of *Listeria monocytogenes* and background microbiota from meat processing surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(17), 1-21.
- Fan, X., Huang, R., y Chen, H. (2017). Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends in Food Science & Technology*, 70, 9-19.
- Fellows, P. J. (2017). Food Processing Technology Principles and Practice 4th edition. En *Food Processing Technology*.
- Fontecha-Umaña, F., Ríos-Castillo, A. G., Ripolles-Avila, C., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2020). Antimicrobial activity and prevention of bacterial biofilm formation of silver and zinc oxide nanoparticle-containing polyester surfaces at various concentrations for use. *Foods*.
- Foster, H. A., Ditta, I. B., Varghese, S., y Steele, A. (2011). Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: Spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1847-1868.
- Frank, J. F., y Koffi, R. A. (1990). Surface-adherent growth of *listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and Heat. *Journal of Food Protection*, 53(7), 550-554.
- Fujishima, A., Rao, T. N., y Tryk, D. A. (2000). Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 1(1), 1-21.
- Fuster-Valls, N., Hernández-Herrero, M., Marín-de-Mateo, M., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2008). Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. *Food Control*, 19(3), 308-314.
- Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., y Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9(898), 1-18.
- Gamage, J., y Zhang, Z. (2010). Applications of photocatalytic disinfection. *International Journal of Photoenergy*, 2010, 1-11.
- Gayán, E., Álvarez, I., y Condón, S. (2013). Inactivation of bacterial spores by UV-C light.

*Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 140-145.

- Gayán, Elisa, Condón, S., y Álvarez, I. (2014). Biological aspects in food preservation by ultraviolet light: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 1-20.
- Giaouris, E., Chorianopoulos, N., y Nychas, G.-J. E. (2005). Effect of temperature, pH, and water activity on biofilm formation by *Salmonella enterica* Enteritidis PT4 on stainless steel surfaces as indicated by the bead vortexing method and conductance measurements. *Journal of Food Protection*, 68(10), 2149-2154.
- Gibson, H., Taylor, J. H., Hall, K. E., y Holah, J. T. (1999). Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 87(1), 41-48.
- Gilbert, Peter, y McBain, A. J. (2003). Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 189-208.
- Gkana, E. N., Giaouris, E. D., Doulgeraki, A. I., Kathariou, S., y Nychas, G.-J. E. (2017). Biofilm formation by *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel under either mono- or dual-species multi-strain conditions and resistance of sessile communities to sub-lethal chemical disinfection. *Food Control*, 73, 838-846.
- Gómez-López, V. M., Koutchma, T., y Linden, K. (2012). Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. En *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods* (pp. 185-223).
- González-Rivas, F., Ripolles-Avila, C., Fontecha-Umaña, F., Ríos-Castillo, A. G., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2018). Biofilms in the Spotlight: Detection, Quantification, and Removal Methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- González-Rivas, F., Fontecha-Umaña, F., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2015). Biofilms: contaminación cruzada en industria alimentaria. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, 28(1), 215-234.
- González-Torralba, A., y Alós, J.-I. (2015). Shigelosis, la importancia de la higiene en la prevención. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(3), 143-144.
- Griffiths, M. W. (2010). Improving the Safety and Quality of Milk. En *Improving the Safety and Quality of Milk* (Vol. 1).
- Hascoët, A.-S. (2019). *Desarrollo de biofilms de listeria monocytogenes y microbiota acompañante en instalaciones cárnicas: cuantificación, acción sinérgica y antagonista (tesis doctoral)*. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Hedberg, C. W. (2000). Global surveillance needed to prevent foodborne disease. *California*

- Agriculture*, 54(5), 54-61.
- Hernández, C., y Gizem, P. (2012). Eficacia contra biofilms mixtos de *Listeria monocytogenes* P-S10 y *Pseudomonas fluorescens* ATCC ® 948 TM , de enzimas combinadas o no con ácido peracético. *Reduca (Recursos educativos)*, 4(15), 5003.
- Huppmann, T., Yatsenko, S., Leonhardt, S., Krampe, E., Radovanovic, I., Bastian, M., y Wintermantel, E. (2014). Antimicrobial polymers - The antibacterial effect of photoactivated nano titanium dioxide polymer composites. *AIP Conference Proceedings*, 1593(February 2015), 440-443.
- Jahid, I. K., y Ha, S.-D. (2012). A review of microbial biofilms of produce: Future challenge to food safety. *Food Science and Biotechnology*, 21(2), 299-316.
- James, G. A., Beaudette, L., y Costerton, J. W. (1995). Interspecies bacterial interactions in biofilms. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(4), 257-262.
- Jayasena, D. D., Kim, H. J., Yong, H. I., Park, S., Kim, K., Choe, W., y Jo, C. (2015). Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiology*, 46, 51-57.
- Jessen, B., y Lammert, L. (2003). Biofilm and disinfection in meat processing plants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51(4), 265-269.
- Joseph, B., Otta, S. K., Karunasagar, I., y Karunasagar, I. (2001). Biofilm formation by *Salmonella* spp. On food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *International Journal of Food Microbiology*.
- Khadre, M. A., Yousef, A. E., y Kim, J.-G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *Journal of Food Science*, 66(9), 1242-1252.
- Khezerlou, A., Alizadeh-Sani, M., Azizi-Lalabadi, M., y Ehsani, A. (2018). Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microbial Pathogenesis*.
- Kim, B., Kim, D., Cho, D., y Cho, S. (2003). Bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. *Chemosphere*, 52(1), 277-281.
- Kordmahaleh, F. A., y Shalke, S. E. (2013). Bacterial biofilms : Microbial life on surfaces. *Journal of Biology and today's world*, 2(5), 242-248.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 138-155.
- Kühn, K. P., Chaberny, I. F., Massholder, K., Stickler, M., Benz, V. W., Sonntag, H.-G., y Erdinger, L. (2003). Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*, 53(1), 71-77.

- Kumar, C. G., y Anand, S. . (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 42(1-2), 9-27.
- Kumari, S., y Sarkar, P. K. (2014). In vitro model study for biofilm formation by *Bacillus cereus* in dairy chilling tanks and optimization of clean-in-place (CIP) regimes using response surface methodology. *Food Control*, 36(1), 153-158.
- Kusumaningrum, H. D., Riboldi, G., Hazeleger, W. C., y Beumer, R. R. (2003). Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*.
- Lasa, I., Del Pozo, J. L., Penadés, J. R., y Leiva, J. (2005). Bacterial biofilms and infection. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(2), 163-175.
- Le Gentil, C., Sylla, Y., y Faille, C. (2010). Bacterial re-contamination of surfaces of food processing lines during cleaning in place procedures. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 37-42.
- Leonard, C. M., Virijevic, S., Regnier, T., y Combrinck, S. (2010). Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms. *South African Journal of Botany*, 76(4), 676-680.
- Lindqvist, R., Andersson, Y., Lindbäck, J., Wegscheider, M., Eriksson, Y., Tideström, L., ... Norinder, A. (2001). A one-year study of foodborne illnesses in the municipality of Uppsala, Sweden. *Emerging Infectious Diseases*, 7(3), 588-592.
- Liu, Y., y Tay, J.-H. (2001). Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behaviour of biofilms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 111-117.
- Long, M., Wang, J., Zhuang, H., Zhang, Y., Wu, H., y Zhang, J. (2014). Performance and mechanism of standard nano-TiO<sub>2</sub> (P-25) in photocatalytic disinfection of foodborne microorganisms – *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 39, 68-74.
- Luksiene, Z. (2017). Nanoparticles and their potential application as antimicrobials in the food industry. En *Food Preservation* (pp. 567-601).
- Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M. I., Blanco, J., y Gernjak, W. (2009). Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today*.
- Maneerat, C., y Hayata, Y. (2006). Antifungal activity of TiO<sub>2</sub> photocatalysis against *Penicillium expansum* in vitro and in fruit tests. *International Journal of Food Microbiology*, 107(2), 99-103. 7

- Maness, P.-C., Smolinski, S., Blake, D. M., Huang, Z., Wolfrum, E. J., y Jacoby, W. A. (1999). Bactericidal activity of photocatalytic TiO<sub>2</sub> reaction: Toward an understanding of its killing mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 4094-4098. 7
- Marshall, K. C., Stout, R., y Mitchell, R. (1971). Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *Journal of General Microbiology*, 68(3), 337-348.
- Martínez-Suárez, J. V., Ortiz, S., y López-Alonso, V. (2016). Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Frontiers in Microbiology*.
- Mattia, D. D., y Manikonda, K. (2018). Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States Centers for Disease Control and Prevention MMWR Editorial and Production Staff MMWR Editorial Board. *Surveillance Summaries MMWR*, 6262(2), 1-11.
- Meulemans, C. C. E. (1987). The basic principles of UV–disinfection of water. *Ozone: Science & Engineering*, 9(4), 299-313.
- Mitra, D., Kang, E.-T., y Neoh, K. G. (2020). Applications and challenges of smart antibacterial coatings. En *Advances in Smart Coatings and Thin Films for Future Industrial and Biomedical Engineering Applications* (pp. 537-556).
- Mittelman, M. W. (1998). Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2760-2764.
- Møretrø, T., Langsrud, S., y Heir, E. (2013). Bacteria on Meat Abattoir Process Surfaces after Sanitation: Characterisation of Survival Properties of *Listeria monocytogenes* and the Commensal Bacterial Flora. *Advances in Microbiology*.
- Motarjemi, Y. (2013). Encyclopedia of Food Safety. En *Encyclopedia of Food Safety*.
- Muhterem-Uyar, M., Dalmaso, M., Bolocan, A. S., Hernandez, M., Kapetanakou, A. E., Kuchta, T., ... Wagner, M. (2015). Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios. *Food Control*.
- Muranyi, P., Schraml, C., y Wunderlich, J. (2010). Antimicrobial efficiency of titanium dioxide-coated surfaces. *Journal of Applied Microbiology*, 108(6), 1966-1973.
- Navabpour, P., Ostovarpour, S., Tattershall, C., Cooke, K., Kelly, P., Verran, J., ... Priha, O. (2014). Photocatalytic TiO<sub>2</sub> and doped TiO<sub>2</sub> coatings to improve the hygiene of surfaces used in food and beverage processing—A study of the physical and chemical resistance of the coatings. *Coatings*, 4(3), 433-449.
- Nerín, C., Aznar, M., y Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 63-68.

- Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., ... Kruse, H. (2010). Food-borne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139, S3-S15.
- Nica, I. C., Stan, M. S., Popa, M., Chifiriuc, M. C., Lazar, V., Pircalabioru, G., ... Dinischiotu, A. (2017). Interaction of new-developed TiO<sub>2</sub>-based photocatalytic nanoparticles with pathogenic microorganisms and human dermal and pulmonary fibroblasts. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 249.
- OMS. (2007). Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. *Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria*, 1-9.
- OMS. (2018). 10 Amenazas a La Salud Mundial en 2018. Recuperado 27 de mayo de 2020, de OMS (Organización Mundial de la Salud) website: <http://www.who.int/features/2018/10-threats-global-health/es/>
- OMS. (2019). La creciente complejidad de los brotes de enfermedades de transmisión alimentaria exige nuevas tecnologías y mayor transparencia. Recuperado 27 de mayo de 2020, de OMS (Organización Mundial de la Salud) website <https://doi.org/https://www.who.int/es/news-room/detail/06-12-2019-more-complex-foodborne-disease-outbreaks-requires-new-technologies-greater-transparency>
- OPS. (1993). Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos y la investigación de brotes de toxi-infecciones alimentarias. (OPS) *Organización Panamericana de la Salud*, pp. 1-36.
- Otto, C., Zahn, S., Rost, F., Zahn, P., Jaros, D., y Rohm, H. (2011). Physical methods for cleaning and disinfection of surfaces. *Food Engineering Reviews*, 3(3-4), 171-188.
- Palmer, J., Flint, S., y Brooks, J. (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 34(9), 577-588.
- Pantaroto, H. N., Ricomini-Filho, A. P., Bertolini, M. M., Dias da Silva, J. H., Azevedo Neto, N. F., Sukotjo, C., ... Barão, V. A. R. (2018). Antibacterial photocatalytic activity of different crystalline TiO<sub>2</sub> phases in oral multispecies biofilm. *Dental Materials*, 34(7), e182-e195.
- Pedrós-Garrido, S., Condón-Abanto, S., Clemente, I., Beltrán, J. A., Lyng, J. G., Bolton, D., ... Whyte, P. (2018). Efficacy of ultraviolet light (UV-C) and pulsed light (PL) for the microbiological decontamination of raw salmon (*Salmo salar*) and food contact surface materials. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 124-131.
- Possas, A., Carrasco, E., García-Gimeno, R. M., y Valero, A. (2017). Models of microbial

- cross-contamination dynamics. *Current Opinion in Food Science*.
- Priha, O., Laakso, J., Tapani, K., Levänen, E., Kolari, M., Mäntylä, T., y Storgårds, E. (2011). Effect of photocatalytic and hydrophobic coatings on brewery surface microorganisms. *Journal of Food Protection*.
- Ramesh, T., Nayak, B., Amirbahman, A., Tripp, C. P., y Mukhopadhyay, S. (2016). Application of ultraviolet light assisted titanium dioxide photocatalysis for food safety: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 105-115.
- Ramírez-Sánchez, I. M., Tuberty, S., Hambourger, M., y Bandala, E. R. (2017). Resource efficiency analysis for photocatalytic degradation and mineralization of estriol using TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Chemosphere*, 184, 1270-1285.
- Ríos-Castillo, A. G., Ripolles-Avila, C., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2020). Detection of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* biofilm cells exposed to different drying and pre-enrichment times using conventional and rapid methods. *International Journal of Food Microbiology*.
- Ripolles-Avila, C., Ramos-Rubio, M., Hascoët, A. S., Castillo, M., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2020). New approach for the removal of mature biofilms formed by wild strains of *Listeria monocytogenes* isolated from food contact surfaces in an Iberian pig processing plant. *International Journal of Food Microbiology*.
- Ripolles-Avila, C., Martínez-García, M., Hascoët, A. S., y Rodríguez-Jerez, J. J. (2019). Bactericidal efficacy of UV activated TiO<sub>2</sub> nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria on suspension. *CYTA - Journal of Food*.
- Ripolles-Avila, C. (2018). *Supervivencia de Listeria monocytogenes sobre superficies de contacto con alimentos: un abordaje multidisciplinar de un problema complejo (tesis doctoral)*. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Roberts, J. A., Cumberland, P., Sockett, P. N., Wheeler, J., Rodrigues, L. C., Sethi, D., y Roderick, P. J. (2003). The study of infectious intestinal disease in England: socio-economic impact. *Epidemiology and Infection*, 130(1), 1-11.
- Rocourt, J., y Buchrieser, C. (2007). The genus listeria and *listeria monocytogenes*: Phylogenetic position, taxonomy, and identification. En *Listeria, Listeriosis, and Food Safety, Third Edition* (pp. 1-20).
- Rodríguez-González, V., Obregón, S., Patrón-Soberano, O. A., Terashima, C., y Fujishima, A. (2020). An approach to the photocatalytic mechanism in the TiO<sub>2</sub>-nanomaterials microorganism interface for the control of infectious processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 270, 118853.

- Rosas, M. R. (2007). Contaminaciones alimentarias. *OFFARM*, 26(6), 95-100.
- Rubeglio, E., y Tesone, S. (2007). *Escherichia coli* 0157 H7: presencia en alimentos no cárnicos. *Arch. argent. pediatr.*
- Ryser, E. T., y Marth, E. H. (2007). *Listeria, listeriosis, and food safety*: Third edition.
- Sánchez, R., Cámara, R., Suárez, R., Portela, R., Canela, M. C., Hernández, M. D., ... Muñoz, M. (2012). *Fotocatálisis y seguridad alimentaria*.
- Schneider, J., Matsuoka, M., Takeuchi, M., Zhang, J., Horiuchi, Y., Anpo, M., y Bahnemann, D. W. (2014). Understanding TiO<sub>2</sub> Photocatalysis: Mechanisms and materials. *Chemical Reviews*, 114(19), 9919-9986.
- Scott, W. G., Scott, H. M., Lake, R. J., y Baker, M. G. (2000). Economic cost to New Zealand of foodborne infectious disease. *New Zealand Medical Journal*.
- Serra, G. (2003). Estudio del Biofilm: formación y consecuencias. *On line*) [http://www.seguretatintegral.cat/noucat/ ...](http://www.seguretatintegral.cat/noucat/), 1-27.
- Shi, X., y Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 407-413.
- Simões, M., Simões, L. C., Machado, I., Pereira, M. O., y Vieira, M. J. (2006). Control of flow-generated biofilms with surfactants. *Food and Bioproducts Processing*, 84(4), 338-345.
- Simões, Manuel, Simões, L. C., y Vieira, M. J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 43(4), 573-583.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J., y Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26(2), 118-122.
- Soni, K. A., Oladunjoye, A., Nannapaneni, R., Schilling, M. W., Silva, J. L., Mikel, B., y Bailey, R. H. (2013). Inhibition and inactivation of *Salmonella Typhimurium* biofilms from polystyrene and stainless steel surfaces by essential oils and phenolic constituent carvacrol. *Journal of Food Protection*, 76(2), 205-212.
- Srey, S., Jahid, I. K., y Ha, S.-D. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31(2), 572-585.
- Szczepanski, S., y Lipski, A. (2014). Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. *Food Control*, 36(1), 224-229.
- Todd, E. C. D. (1989). Costs of acute bacterial foodborne disease in Canada and the United States. *International Journal of Food Microbiology*, 9(4), 313-326.
- Unnevehr, L., y Roberts, T. (2002). Food safety incentives in a changing world food system. *Food Control*, 13(2), 73-76.

- Valeriano, C., de Oliveira, T. L. C., de Carvalho, S. M., Cardoso, M. das G., Alves, E., y Piccoli, R. H. (2012). The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel. *Food Control*.
- Van Asselt, A. J., Van Houwelingen, G., y Te Giffel, M. C. (2002). Monitoring system for improving cleaning efficiency of cleaning-in-place processes in dairy environments. *Food and Bioproducts Processing*, 80(4), 276-280.
- Vera, A., González, G., Domínguez, M., y Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Revista Chilena de Infectología*.
- Wang, H., Tay, M., Palmer, J., y Flint, S. (2017). Biofilm formation of *Yersinia enterocolitica* and its persistence following treatment with different sanitation agents. *Food Control*, 73, 433-437.
- Warriner, K., Aldsworth, T. G., Kaur, S., y Dodd, C. E. R. (2002). Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing. *Journal of Applied Microbiology*.
- Weng, X., Niekerk, J. van, Neethirajan, S., y Warriner, K. (2016). Characterization of antimicrobial efficacy of photocatalytic polymers against food-borne biofilms. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 1-7.
- Wilks, S. A., Michels, H., y Keevil, C. W. (2005). The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *International Journal of Food Microbiology*.
- Wold, A. (1993). Photocatalytic properties of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>). *Chemistry of Materials*, 5(3), 280-283.
- Xu, H., Ouyang, S., Liu, L., Reunchan, P., Umezawa, N., y Ye, J. (2014). Recent advances in TiO<sub>2</sub>-based photocatalysis. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(32), 12642-12661.
- Yadav, Hemraj M., Otari, S. V., Koli, V. B., Mali, S. S., Hong, C. K., Pawar, S. H., y Delekar, S. D. (2014). Preparation and characterization of copper-doped anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles with visible light photocatalytic antibacterial activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 280, 32-38.
- Yadav, Hemraj Mahipati, Kim, J.-S., y Pawar, S. H. (2016). Developments in photocatalytic antibacterial activity of nano TiO<sub>2</sub>: a review. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 33(7), 1989-1998.
- Zhang, Y., Zhou, L., y Zhang, Y. (2014). Investigation of UV-TiO<sub>2</sub> photocatalysis and its mechanism in *Bacillus subtilis* spore inactivation. *Journal of Environmental Sciences*, 26(9), 1943-1948.
- Zhu, Z., Cai, H., y Sun, D.-W. (2018). Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) photocatalysis technology for

nonthermal inactivation of microorganisms in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 23-35.

Zottola, E. A., y Sasahara, K. C. (1994). Microbial biofilms in the food processing industry-- should they be a concern? *International journal of food microbiology*, 23(2), 125-148.