

RUTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA EL DESARROLLO DE POLIHIDROXIALCANOATOS ANTIMICROBIANOS BASADOS EN NANOMETALES PARA APLICACIONES DE ENVASADO ACTIVO DE ALIMENTOS

Resumen

El desarrollo de nuevos biomateriales con propiedades antimicrobianas para aplicaciones de envasado activo resulta un tema de gran interés en la actualidad. La presente tesis doctoral estudia el desarrollo por vía biotecnológica de polihidroxicanoatos (PHAs) conteniendo nanometales para aplicaciones de envasado activo antimicrobiano de alimentos. En primer lugar, se produjeron nanopartículas de plata (AgNPs) por reducción química y se estabilizaron *in situ* en una suspensión de poli (hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) no purificado, PHBV18 (18% en moles de valerato), obtenido previamente a partir de cultivos mixtos microbianos. Posteriormente, las AgNPs estabilizadas se utilizaron para desarrollar nanocompuestos de PHAs-AgNPs siguiendo dos estrategias diferentes: 1) un proceso de mezclado-fundido en donde las AgNPs se añadieron al PHBV3 (3% mol de valerato) a partir de un masterbatch de nanopartículas altamente dispersas y distribuidas y, 2) como una estructura bicapa formada por un recubrimiento a base de PHBV/PHBV18/AgNPs depositado sobre un film de PHBV3 obtenido por moldeo por compresión. La aplicación de ambas estrategias dio lugar a nanocompuestos activos con una fuerte actividad antimicrobiana frente a patógenos transmitidos por los alimentos, siendo la estructura bicapa la más eficaz en la reducción de la población bacteriana y viral, incluso a una carga muy baja de AgNPs (de 0,002 a 0,04% en peso).

Como ruta alternativa, también se llevó a cabo un proceso integrado de fermentación con *Cupriavidus necator* para la síntesis biológica de AgNPs y polihidroxibutirato (PHB). En este trabajo

se demostró, por primera vez, la capacidad inherente de *C. necator* para reducir nitrato de plata y producir AgNPs sin la necesidad de añadir un agente reductor. El proceso fue optimizado y escalado satisfactoriamente a un biorreactor automatizado de 10 litros.

Finalmente, debido a las limitaciones del uso de AgNPs en aplicaciones alimentarias, se prepararon films antimicrobianos de PHAs basados en nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y óxido de cobre (CuO) de acuerdo con las estrategias previamente desarrolladas. Adicionalmente, ambas estrategias se compararon con una tercera basada en la preincorporación de ZnO en fibras de PHBV18 no purificado y su posterior mezclado-fundido con polímero virgen. Se estudió el efecto de la morfología de las nanopartículas de ZnO y del método de incorporación de ZnO/CuO sobre las propiedades morfológicas, ópticas, térmicas, mecánicas y de barrera de los films activos resultantes, así como su influencia en el comportamiento antimicrobiano (bactericida y virucida).

Por lo tanto, esta tesis doctoral representa un avance significativo en la comprensión de la eficacia antimicrobiana de nanometales altamente dispersos y distribuidos y destaca la idoneidad de los materiales desarrollados a base de PHAs y nanometales para aplicaciones antimicrobianas y, en particular, para aplicaciones de envasado de alimentos activos antimicrobianos.