



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

“Efecto de la incorporación de antimicrobianos en la biodegradación y compostaje de films activos para el envasado de alimentos”

JAVIER ALVENTOSA CARBÓ

TUTORA: AMPARO CHIRALT BOIX

COTUTORA: EVA HERNÁNDEZ GARCÍA

VALENCIA, JULIO 2020

TRABAJO DE FIN DE GRADO – CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Efecto de la incorporación de antimicrobianos en la biodegradación y compostaje de films activos para el envasado de alimentos.

Efecte de la incorporació d'antimicrobians en la biodegradació i compostatge de films actius per a l'envasament d'aliments.

Effect of the incorporation of antimicrobials on biodegradation and composting of active films for food packaging.

Alumno: Javier Alventosa Carbó

Tutora: Amparo Chiralt Boix

Cotutora: Eva Hernández García

Valencia, Julio 2020

Abstract

The environmental problem generated by the massive consumption of plastics, and the need for to improve food preservation, makes it necessary to develop biodegradable or compostable materials that reduce the environmental impact. On the other hand, the development of active materials with antioxidant and / or antimicrobial properties represents a major challenge for the enhancement of food preservation and extending its shelf life. This study analyses the current situation regarding the availability of biodegradable or compostable polymers that can be used in the development of food packaging materials. Different studies carried out on the development of biodegradable active materials for food preservation are described, in terms of their antimicrobial activity: biopolymers and antimicrobial compounds used and the observed effects on different pathogenic or spoilage bacteria. Likewise, relevant information on biodegradation studies carried out on different biopolymers in different environments (compost, soil, aquatic), and the effect of some antimicrobials on this behaviour, are reviewed. In most of the studies carried out, no relevant effect of the incorporated antimicrobials in the degradation of the polymer was observed, but some antimicrobials delay the process. The changes in biodegradation due to the antimicrobial are attributed to its influence on the population of microorganisms responsible for the process. Studies are necessary in each case to know the specific influence of antimicrobial compounds on the behaviour of each polymer matrix in different environment.

Keywords: biopolymers, active packaging, biodegradation, composting, antimicrobials

Resumen

El problema medioambiental generado por el consumo masivo de plásticos en el envasado de alimentos y la necesidad de envasado para garantizar su conservación, hace necesario el desarrollo de materiales biodegradables o compostables que permitan la reducción del impacto ambiental. Por otro lado, el desarrollo de materiales activos con propiedades antioxidantes y/o antimicrobianas representa un reto importante para la favorecer la conservación de alimentos y alargar su vida útil. El presente estudio analiza la situación actual en cuanto disponibilidad de polímeros biodegradables o compostables que pueden ser utilizados en el desarrollo de materiales de envase alimentario. Se discuten diferentes estudios realizados sobre desarrollo de materiales biodegradables activos para la conservación de alimentos por su efecto antimicrobiano: biopolímeros y compuestos antimicrobianos utilizados, y efectos observados sobre diferentes bacterias patógenas o causantes de deterioro. Así mismo, se recopila información relevante sobre los estudios de biodegradación realizados en diferentes biopolímeros en diferentes medios (compost, suelo, medios acuáticos) y el efecto de algunos antimicrobianos sobre este comportamiento. En la mayoría de los estudios realizados no se observa un gran efecto de los antimicrobianos incorporados en la degradación del polímero, pero algunos antimicrobianos retrasan el proceso. Los cambios en la biodegradación debidos al antimicrobiano se atribuyen a su influencia sobre la población de microorganismos responsables del proceso. Son necesarios estudios particulares en cada caso para conocer la influencia concreta de los compuestos antimicrobianos en el comportamiento de cada matriz polimérica en diferentes medios.

Palabras clave: biopolímeros, envasado activo, biodegradación, compostaje, antimicrobianos.

Resum

El problema mediambiental generat pel consum massiu de plàstics en l'envasament d'aliments, i la necessitat d'envasament per a garantir la seua conservació, fa necessari el desenvolupament de materials biodegradables o compostables que permeten la reducció de l'impacte ambiental. D'altra banda, el desenvolupament de materials actius amb propietats antioxidants i/o antimicrobianes representa un repte important per afavorir la conservació d'aliments i allargar la seua vida útil. El present estudi analitza la situació actual com a disponibilitat de polímers biodegradables o compostables que poden ser utilitzats en el desenvolupament de materials d'envasat alimentari. Es discuteixen diferents estudis realitzats sobre desenvolupament de materials biodegradables actius per a la conservació d'aliments, pel seu efecte antimicrobià: biopolímers i compostos antimicrobians utilitzats, i efectes observats sobre diferents bacteris patògens o causants de deterioració. Així mateix, es recopila informació rellevant sobre els estudis de biodegradació realitzats en diferents biopolímers en diferents mitjans (compost, sòl, medis aquàtics) i l'efecte d'alguns antimicrobians sobre aquest comportament. En la majoria dels estudis realitzats no s'observa un gran efecte dels antimicrobians incorporats en la degradació del polímer, però alguns antimicrobians retarden el procés. Els canvis en la biodegradació deguts a l'antimicrobià s'atribueixen a la seua influència sobre la població de microorganismes responsables del procés. Són necessaris estudis particulars en cada cas per a conèixer la influència concreta dels compostos antimicrobians en el comportament de cada matriu polimèrica en diferents mitjans.

Paraules claus: biopolímers, envasat actiu, biodegradació, compostatge, antimicrobians.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. MATERIALES BIODEGRADABLES/COMPOSTABLES ACTIVOS	8
2.1 Polímeros obtenidos de biomasa	8
2.2 Biopolímeros de síntesis	9
2.3 Biopolímeros producidos por microorganismos	15
3. BIODEGRADACIÓN EN DISTINTOS MEDIOS. COMPOSTAJE.	20
3.1. Efecto de la incorporación de antimicrobianos en la biodegradación/compostaje de los polímeros.	24
4. CONCLUSIÓN	28
5. BIBLIOGRAFÍA	29

1. INTRODUCCIÓN

En 2018, la producción de plásticos en el mundo alcanzó casi los 360 millones de toneladas. De los cuales, el 51% corresponde a Asia, seguido de América del Norte (18%) y Europa (17%) (Plasticseurope, 2019). El consumo de plástico en las últimas décadas se ha incrementado notablemente hasta llegar a niveles alarmantes para nuestro planeta, se estima que crece un 4% cada año (Arandes et al., 2004). En Europa, en el año 2018, el 40 % de los materiales plásticos se dedicaron a la fabricación de envases de uso alimentario (Figura 1).

PRINCIPALES SECTORES DE APLICACIÓN DE LOS MATERIALES PLÁSTICOS

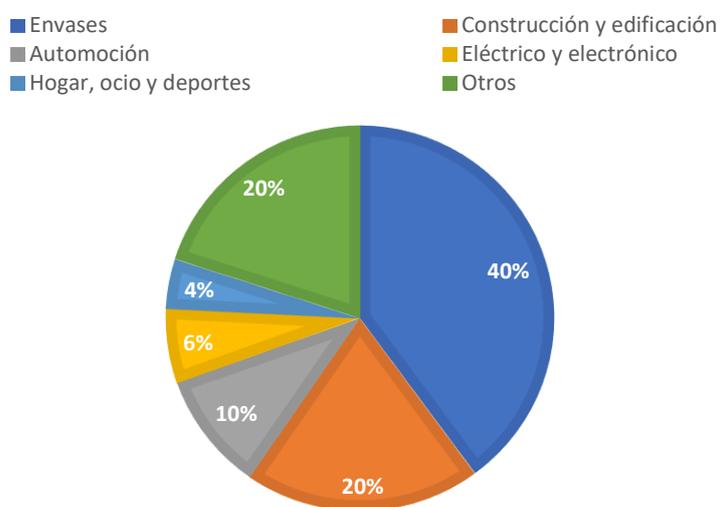


Figura 1. Distribución de la demanda de los transformadores de plásticos en Europa por segmento en 2016. Adaptado de *Plasticseurope*, (2019).

La industria alimentaria es responsable de un alto consumo de plásticos para el envasado de alimentos. Estos envases resultan esenciales para el mantenimiento de la seguridad alimentaria. Tradicionalmente, las empresas alimentarias han envasado sus productos en envases metálicos y de vidrio, pero en la actualidad, el uso de envases plásticos para empacar alimentos se ha globalizado (Alvarado, 2009) debido a las grandes ventajas del plástico para el envasado: es ligero, versátil en sus propiedades mecánicas y ópticas, termo-sellable, y permite la impresión de información relevante para el consumidor. Además, permite el desarrollo de envases que favorecen la conservación de alimentos mediante la aplicación de diferentes estrategias como el desarrollo de materiales activos (incorporación de antimicrobianos, antioxidantes, atmósferas modificadas, ...). Los plásticos son polímeros orgánicos de alto peso molecular que normalmente son sintetizados a partir de derivados del petróleo. Estos plásticos tienen innumerables características beneficiosas para la industria: moldeables, impermeabilidad tanto al agua como

a gases, baja conductividad eléctrica, resistencia a químicos corrosivos, baja densidad y la más importante para la industria, su bajo coste. A pesar de estas características, el problema de los plásticos sintéticos derivados del petróleo es que generan una gran cantidad de residuos que se descomponen muy lentamente acumulándose en los ecosistemas terrestres. Además, en su gran mayoría proceden de fuentes no renovables.

Durante los últimos años, ante el gran impacto del plástico sobre el medio ambiente, la sensibilidad cada vez mayor de los ciudadanos y las nuevas normativas europeas respecto a este tema, está tomando cada vez más fuerza un nuevo concepto de envase: el envase sostenible. Este concepto responde a un mayor respeto por el medio ambiente, con una reducción del impacto ambiental. Así, se ha extendido la investigación en materias primas renovables, biotransformaciones, diseño estructural y biodegradabilidad. En este sentido, se ha potenciado el interés en los llamados biopolímeros, por la mayor conciencia medioambiental de los ciudadanos, y a los desarrollos obtenidos en los últimos años que los convierten en una alternativa a los polímeros tradicionales (Arrieta *et al.*, 2011). Los biopolímeros o bioplásticos son polímeros que provienen de fuentes naturales renovables o son biodegradables, o ambas cosas. Como ejemplo, está el almidón o la celulosa que se pueden usar como sustitutos de los plásticos tradicionales sintéticos derivados del petróleo (Labeaga, 2018).

Hoy en día, se puede observar en los supermercados como muchas marcas ya apuestan por este tipo de envases sostenibles, con la finalidad de atraer la atención del consumidor. No quiere decir que este tipo de envases sean 100 % sostenibles, pero la mayor parte de ellos provienen de fuentes renovables. El desarrollo de envases sostenibles requiere añadir otras sustancias al polímero para adecuar sus propiedades a las necesidades de uso. Por ejemplo, los plastificantes se utilizan para mejorar sus características. La incorporación de plastificantes tiene como objetivo mejorar la flexibilidad de los recubrimientos o films, haciéndolos menos quebradizos. La rigidez de los recubrimientos o films se debe a las fuerzas de cohesión que estabilizan la matriz polimérica. Los plastificantes debilitan estas fuerzas de cohesión entre las cadenas de polímero incrementando su movilidad y mejorando la flexibilidad de la matriz polimérica (Tubón, 2013). Algunos de los plastificantes empleados en la formulación de films hidrofílicos, como los de almidón, son polioles, como glicerol, polietilenglicol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa o glucosa, que tienen naturaleza hidrofílica y reducen significativamente la capacidad de barrera al vapor de agua del material. Para preservar la barrera al vapor de agua de los recubrimientos o films se pueden utilizar otros plastificantes de naturaleza hidrofóbica, como los ácidos grasos y sus derivados, y los aceites que, sin embargo, aumentan la permeabilidad al oxígeno del recubrimiento o film (Tubon, 2013).

La reducción de la problemática medioambiental de los plásticos, que tardan años en desaparecer del medio ambiente, requiere de la fabricación de materiales que se desintegren por la acción de los factores ambientales. Hay diferentes tipos de plásticos degradables dependiendo del factor ambiental que provoca la descomposición (Segura, 2015). Los fotodegradables, tienen grupos incorporados en las cadenas que son susceptibles a los rayos ultravioleta provocando la desestructuración del plástico en partículas más pequeñas que, en algunos casos, son descompuestas por bacterias. No obstante, los plásticos fotodegradables en ausencia de luz siguen siendo un problema para la contaminación, ya que muchos de ellos se degradan en partículas más pequeñas que permanecen en el medio. Por otro lado, existen los plásticos totalmente degradables, entre los que se encuentran los poliésteres como el ácido poliláctico y los polihidroxialcanoatos (PHA), los polisacáridos y copolímeros derivados de ellos (Segura, 2015).

Por otro lado, los envases para alimentos, fabricados a partir de materiales 100% degradables, debe tener buenas propiedades que permitan conservar adecuadamente el alimento. Por ello, se estudia la posibilidad de fabricar envases activos degradables con agentes antimicrobianos. Los envases activos son capaces de interactuar con el producto extendiendo la vida útil y manteniendo su calidad nutricional y microbiológica, mejorando la seguridad y sus atributos sensoriales (Ozdemir and Floros, 2008).

Existen diferentes tipos de sustancias usadas en envases activos: sistemas de eliminación de oxígeno, emisores de CO₂, absorbedores de CO₂, etileno y humedad, antioxidantes y antimicrobianos. Los envases antimicrobianos incorporan agentes en su estructura que evitan el crecimiento indeseable de microorganismos en la superficie del alimento (Vermeiren, et al. 2002). Estos envases son capaces de liberar el componente antimicrobiano desde el material del envase hasta el producto, de esta forma tiene una mayor efectividad que si se le añadiese al producto directamente. Con la migración controlada desde el envase, la acción antimicrobiana se prolonga en el tiempo y es más constante, mientras que la adición directa requiere una concentración inicial de aditivos relativamente elevada (Rivas, 2012).

En este trabajo se analizan estudios destinados al desarrollo de materiales antimicrobianos a partir de polímeros degradables, así como la influencia de la incorporación de los compuestos antimicrobianos en la biodegradación de los materiales activos desarrollados.

2. MATERIALES BIODEGRADABLES/COMPOSTABLES ACTIVOS

Los polímeros biodegradables para el envasado activo de alimentos se dividen varios grupos. El primero corresponde a aquellos obtenidos de biomasa, como es el caso de los biopolímeros extraídos de recursos o residuos agroalimentarios, entre los que se encuentran principalmente los polisacáridos (como el almidón, celulosa, o quitosano) y las proteínas (lácteas, de soja o gelatina). El segundo grupo corresponde a los sintéticos obtenidos a partir de monómeros procedentes de fuentes renovables (como el PLA), o del petróleo (como la PCL). En tercer lugar, están los obtenidos a partir de procesos biotecnológicos (producidos por microorganismos), los cuáles se obtienen por extracción de las células cultivadas y entre los que destacan los poli-hidroxi-alcanoatos (PHAs) (como el PHB o el PHBV). A continuación, se discuten algunos estudios sobre materiales activos realizados con biopolímeros de cada uno de estos grupos.

2.1 Polímeros obtenidos de biomasa

Dentro de este grupo de polímeros destaca el almidón por el alto número de estudios realizados, en coherencia con su gran disponibilidad, bajo coste y adecuadas propiedades para el contacto alimentario. El **almidón** procede de fuentes naturales donde está presente en forma de gránulos, que consisten en estructuras macromoleculares ordenadas en capas y cuyas características en cuanto a composición (proporción de amilosa y amilopectina), cantidad y forma varían de acuerdo con el tipo de fuente de la que provenga (Waddell, 1979). Es uno de los polímeros renovables y biodegradables más abundantes en la tierra, junto con la celulosa y la quitina. Se han llevado a cabo numerosos estudios en los que se ha empleado el almidón, procedente de diferentes fuentes, con la incorporación de compuestos activos antimicrobianos mediante diferentes técnicas comprobando su actividad antimicrobiana. La tabla 1 resumen algunos estudios llevados a cabo para el desarrollo de materiales antimicrobianos con almidón.

Souza et al. (2013), Silveira et al. (2020) y Dhumal et al. (2019) incorporaron aceites esenciales como agentes antimicrobianos. Souza et al. (2013) observaron que la incorporación de aceite esencial de canela a una matriz de almidón de yuca con glicerol y nanopartículas de arcilla, mostró una buena inhibición del crecimiento de los hongos *P. commune* y *E. amstelodami*, siendo el último más sensible. Silveira et al. (2020), incorporaron aceite esencial de árbol de té en una matriz de almidón con nanofibras de celulosa, obteniendo una inhibición del crecimiento de *S. aureus* y *C. albicans* del 73% y 63%, respectivamente, mientras que no se observó una inhibición significativa del crecimiento de *E. coli*. Dhumal et al. (2019), incorporaron carvacrol y citral en películas de almidón de sagú con goma guar, que exhibieron una buena actividad antimicrobiana frente a *B. cereus* y *E.coli*.

Otros compuestos activos, como el dehidroacetato de sodio y extracto de romero (Yan et al., 2013), nanopartículas de plata (Cano et al., 2016), cáscara de granada (Ali et al., 2019), quitosano (Hasan et al., 2020) o benzoato de sodio y ácido cítrico (De Moraes et al., 2020) se han incorporado también a matrices de almidón con fines antimicrobianos. Yan et al. (2013) incorporaron dehidroacetato de sodio y extracto de romero a películas de almidón de maíz oxidado y acetilado y alginato de sodio, obteniendo efectos antimicrobianos frente a *E. coli* con ambos compuestos. Por otra parte, observaron que *Aspergillus niger* podía inhibirse efectivamente mediante la incorporación de dehidroacetato de sodio. En cambio, el extracto de romero no mostró efecto inhibitorio. Cano et al. (2016) desarrollaron films de almidón de guisante y PVA con la incorporación de nanopartículas de plata como agente antimicrobiano, mostrando una inhibición creciente a mayor concentración de plata. El efecto antimicrobiano se mantuvo entre 5 y 7 días para las bacterias *L. innocua* y *E. coli* y entre 4-5 días para los hongos *Aspergillus niger* y *Penicillium expansum*. Ali et al. (2019) incorporaron cáscara de granada con agente antimicrobiano en almidón modificado (hidroxipropilado) alto en amilosa plastificado con agua y glicerol. Los resultados demostraron que la cáscara de granada permitió la inhibición del crecimiento de bacterias tanto gram-positivas (*S. aureus*) como gram-negativas (*Salmonella*), siendo este efecto mayor frente a *S. aureus*. Hasan et al. (2020), desarrollaron películas a base de almidón de arroz integral y quitosano plastificadas con aceite de palma demostrando un efecto antimicrobiano notable frente a bacterias gram-positivas (*S. aureus*) y bacterias gram-negativas (*E. coli*). De Moraes et al. (2020), evaluaron las propiedades de las películas de almidón con benzoato de sodio, ácido cítrico y la mezcla de ambos, irradiadas con luz pulsada, frente a *L. innocua* inoculada en queso Cheddar. Los resultados mostraron eficacia de dichas películas para reducir el crecimiento de *L. innocua*.

2.2 Biopolímeros de síntesis

En este grupo se encuentra el **ácido poliláctico** (PLA) que es un biopolímero termoplástico cuya molécula precursora es el ácido láctico, obtenido por fermentación de almidón. Debido a su biodegradabilidad en medio compost (compostable), propiedades de barrera y biocompatibilidad, este biopolímero ha encontrado numerosas aplicaciones ya que presenta un inusualmente amplio rango de propiedades. Puede obtenerse en estado amorfo y semi-cristalino y presenta propiedades muy semejantes a las de los polímeros derivados del petróleo. Sin embargo, tiene una baja extensibilidad que se puede corregir con la adición de plastificantes. Otro de los problemas que presenta es su baja temperatura de distorsión, por lo que es susceptible en empaques sometidos a altas temperaturas asociadas a procesos de esterilización

o llenado en caliente. Sin embargo, el ácido poliláctico presenta buenas propiedades de barrera frente al vapor de agua, O₂ y CO₂ (Serna et al., 2011).

Tabla 1. Algunos estudios sobre películas de almidón con compuestos activos antimicrobianos

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
Almidón de yuca con nanofibras de celulosa	Aceite esencial del árbol de té	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	- <i>S. aureus</i> : inhibición de 73% - <i>C. albicans</i> : inhibición del 65% - <i>E. coli</i> : no efectivo	Silveira et al., 2020
Almidón de yuca	Aceite esencial de canela	<i>In vitro</i>	<i>P. commune</i> <i>E. amstelodami</i>	Inhibición mayor del <i>E. amstelodami</i>	Souza et al., 2013
Almidón de guisante/PVA	Nanopartículas de plata	<i>In vitro</i>	<i>L. innocua</i> <i>E. coli</i> <i>A. niger</i> <i>P. expansum</i>	Inhibición crecimiento microbiano	Cano et al., 2016
Almidón de arroz integral/quitosano	Quitosano	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición crecimiento microbiano	Hasan et al., 2020
Almidón de sagú/goma de guar	Carvacrol, y citral	<i>In vitro</i>	<i>B. cereus</i> <i>E. coli</i>	Inhibición crecimiento microbiano	Dhumal et al., 2019
Almidón de maíz oxidado y acetilado/alginate de sodio	Dehidroacetato de sodio y extracto de romero	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>A. niger</i>	Inhibición crecimiento microbiano	Yan et al., 2013
Almidón hidroxipropil-alto-amilosa	Cáscara de granada	<i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i> <i>Salmonella</i>	Mayor acción contra el <i>S. aureus</i> que contra la <i>Salmonella</i>	Ali et al., 2019
Almidón antimicrobiano	Benzoato de sodio y ácido cítrico	<i>In vivo</i>	<i>L. innocua</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	De Moraes et al., 2020

Se han encontrado diferentes estudios en los que se analiza la capacidad del PLA, con antimicrobianos incorporados, para su uso como envase activo de alimentos (Tabla 2). Ahmed

et al. (2016) desarrollaron films a base de PLA con polietilenglicol (PEG) y aceites esenciales de canela, ajo o clavo con actividad antimicrobiana frente a diferentes bacterias. *C. jejuni* presentó mayor sensibilidad a los aceites de canela y clavo incorporados a los films de PLA (reducción de 7 log aproximadamente) que *S. aureus* (reducción de 2 log). El aceite de ajo incorporado a los films de PLA/PEG exhibió una actividad antimicrobiana limitada frente a las dos bacterias. Khodayari *et al.* (2019) utilizaron films de PLA con extracto etanólico de propóleo y aceite esencial de *Tanacetum balsamita* para el control del crecimiento de bacterias gram-positivas y negativas. Los resultados *in vitro* demostraron que con el extracto etanólico de propóleo, no se obtuvo actividad antimicrobiana significativa, pero junto con el aceite esencial de *Tanacetum balsamita* se consiguió un efecto antimicrobiano eficaz. Las bacterias gram-positivas fueron más sensibles que las gram-negativas y, en especial, *B. cereus* que fue la bacteria más sensible al aceite esencial de *Tanacetum balsamita*. Además, los mismos autores, estudiaron el efecto antimicrobiano de estos films en salchichas precocinadas. Durante la cocción, los recuentos de las bacterias sensibles al calor, como *Enterobacteriaceae* o *S. aureus*, disminuyeron por debajo del límite de detección. No obstante, las bacterias psicotrofas, pasaron de estar por debajo del límite de detección en el día 0 a un nivel detectable, pero inferior al límite permisible (Codex Alimentario) a los 50 días de almacenamiento, evidenciando el efecto protector de los films.

Jiang *et al.* (2016) desarrollaron films compuestos por PLA, PBAT y nanocristales de celulosa-plata que fueron efectivos en la inhibición de *E. coli* y *S. aureus*. El film sin las nanopartículas de celulosa-plata, no mostró ningún efecto inhibitorio. Coltelli *et al.* (2020) desarrollaron películas de PLA y PBS con nanofibrillas de quitina como material de relleno. Comprobaron los efectos antimicrobianos de estas películas y llegaron a la conclusión de que no es efectivo contra *S. aureus* y *Enterobacter spp.*

El Poly(vinyl alcohol) (PVA) es un polímero biodegradable de síntesis, con características muy interesantes como, alta resistencia mecánica, fotoestabilidad y altas propiedades de barrera a gases (especialmente al oxígeno). El PVA pertenece a un pequeño grupo de polímeros que no se obtienen en la polimerización directa del monómero de alcohol vinílico debido a que el alcohol vinílico es un compuesto inestable que se transforma espontáneamente en acetaldehído. Por esta razón, el poli (alcohol vinílico) se obtiene a través de una reacción de hidrólisis de poli (acetato de vinilo) (Chen *et al.*, 2018). Una de las principales características del PVA es su hidrofilia, como resultado de la presencia de numerosos grupos hidroxilo en la cadena principal de la macromolécula (Hajji *et al.*, 2016). Además, cabe mencionar que el PVA se caracteriza por propiedades únicas, tales como excelentes propiedades de formación de película, alta cristalinidad, no toxicidad y una notable resistencia química (Chen *et al.*, 2018).

Tabla 2. Algunos estudios sobre películas de PLA con compuestos antimicrobianos.

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PLA	Aceites esenciales (clavo, canela y ajo)	<i>In vitro</i>	<i>C. jejuni</i> <i>S. aureus</i>	Aceite de ajo: actividad antimicrobiana limitada Aceites de clavo y canela: más efectivo frente a <i>C. jejuni</i> que frente a <i>S. aureus</i>	Ahmed <i>et al.</i> , 2016
PLA/PBAT	Nanocristales celulosa-plata	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. Aureus</i>	Actividad microbiana limitada	Jiang <i>et al.</i> , 2016
PLA/PBS	Nanofibrillas de quitina	<i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i> <i>Enterobacter spp.</i>	No hubo inhibición microbiana	Coltelli <i>et al.</i> , 2020
PLA	Extracto etanólico de propóleo	<i>In vitro</i>	Gram positivas Gram negativas	No efectivo	Khodayari <i>et al.</i> , 2019
PLA	Extracto etanólico de propóleo y Aceite esencial de Tanacetum balsamita	<i>In vitro</i>	<i>B. cereus</i> Gram positivas Gram negativas	Actividad microbiana limitada	Khodayari <i>et al.</i> , 2019
PLA	Extracto etanólico de propóleo Aceite esencial de Tanacetum balsamita	<i>In vivo</i> (Salchichas)	-Bacterias ácido lácticas -Bacterias mesófilas aerobias -Bacterias psicotrofas	Mayor vida útil de las salchichas	Khodayari <i>et al.</i> , 2019

La Tabla 3 resume algunos estudios realizados con PVA para el desarrollo de films antimicrobianos. Olewnik-Kruszkowska *et al.* (2019) desarrollaron un film compuesto de PVA y quitosano con la adición de poli-(hexameten-guanidina) (PHMG). Este estudio confirmó el potencial biocida de las películas de PVA con PHMG, mostrando su potencial antimicrobiano, contra las bacterias grampositivas (*S. aureus*) y gramnegativas (*E. coli*). Haghghi *et al.* (2020) desarrollaron películas de mezclas quitosano-PVA con diferentes concentraciones de arginato de etil lauroil (LAE). Estas películas inhibieron el crecimiento de cuatro patógenos bacterianos alimentarios, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* y *Listeria*

monocytogenes. Las películas con un contenido del 5 al 10 % del antimicrobiano fueron las más efectivas. Suganthi *et al.* (2020) usaron ácidos orgánicos (tartárico (TA), láctico (LA) y málico (MA)) como agentes de reticulación en películas de PVA. Entre las películas consideradas, PVA/LA exhibió la inhibición bacteriana más alta, que se debió en gran medida a su capacidad para modificar el pH local y alterar la permeabilidad de la membrana microbiana, interrumpiendo la interacción bacteria-sustrato. Tripathi *et al.* (2009) desarrollaron películas basadas en quitosano y PVA para evaluar su efecto antimicrobiano sobre el tomate procesado mínimamente. Las películas antimicrobianas se obtuvieron por mezclando de quitosano (CS) y poli (alcohol vinílico) (PVA) con glutaraldehído como reticulante. Los resultados mostraron un efecto inhibitor de crecimiento mayor en *E. coli* y *B. subtilis* que en *S. aureus*. Los autores propusieron el uso de estas películas bioactivas de quitosano-PVA para extender la vida útil de alimentos.

Tabla 3. Algunos estudios sobre películas de PVA con compuestos antimicrobianos.

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PVA	poli(hexametilén guanidina)	<i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Olewnik-Kruszkowska <i>et al.</i> , 2019
PVA-Quitosano	Arginato de etil lauroil (LAE)	<i>In vitro</i>	<i>C. jejuni</i> <i>S.typhimurium</i> <i>E.coli</i> <i>L.monocytogenes</i>	Inhibición del crecimiento microbiano con 5 - 10% de LAE.	Haghighi <i>et al.</i> , 2020
PVA	Ácido láctico Ácido tartárico Ácido málico	<i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	Mayor inhibición con ácido láctico, seguido del málico y del tartárico.	Suganthi <i>et al.</i> , 2020
PVA-Quitosano	Quitosano	<i>In vivo</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i>	Mayor efecto inhibitor en <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> que en <i>S. aureus</i>	Tripathi <i>et al.</i> , 2009

La **policaprolactona** (PCL) se sintetizó por primera vez en la década de 1930 mediante la polimerización de apertura de anillo de la ϵ -caprolactona. La PCL es parcialmente cristalina, con

un punto de fusión de 59–64 ° C y una temperatura de transición vítrea de –60 ° C. Es altamente hidrófoba y tiene tiempos de degradación más largos que el PLA (2–5 años), lo que la hace adecuada para aplicaciones donde se requieren tiempos de degradación prolongados. Debido a su baja temperatura de fusión, la PCL se procesa fácilmente mediante las técnicas de fusión convencionales y se puede mejorar en sus propiedades mecánicas mediante diferentes materiales de relleno (partículas o fibras) (Perveen, Inamuddin and Nasar, 2018). Aunque es un material biodegradable proviene de fuentes petroquímicas no renovables. La PCL se usa como copolímero con PLA para preparar polímeros degradables con propiedades específicas.

También se ha utilizado en la preparación de materiales activos, tal como se muestra en la Tabla 4. Li et al. (2018) desarrollaron un biofilm mediante membranas electrohiladas compuestas por PCL y un péptido de cadena corta llamado REDV, al que se le añadió eugenol como agente antimicrobiano. Los films con eugenol fueron efectivos contra bacterias gram-positivas como *S. aureus* y gram-negativas como *E.coli*. Por otra parte, Salević et al. (2019) produjeron films de PCL con extracto de salvia como agente antimicrobiano mediante la misma técnica de electrohilado y posterior tratamiento de recocido. Los films también fueron efectivos en su capacidad antimicrobiana frente a bacterias gram-negativas (*E. coli*) y gram-positivas como (*S. aureus*), siendo más efectivos contra las gram-positivas.

Takala et al. (2013) prepararon películas bioactivas tricapa con metilcelulosa (MC) y policaprolactona (PCL). Se agregaron dos formulaciones antimicrobianas denominadas A (ácidos orgánicos, extracto de ácido rosmarínico y mezcla de aceites esenciales asiáticos) y B (ácidos orgánicos, extracto de ácido rosmarínico y mezcla de aceites esenciales italianos) en películas MC durante el mezclado en fundido y las películas tricapa (PCL/MC/PCL) se obtuvieron mediante moldeo por compresión. Estas películas se aplicaron a la conservación de brócoli a 4 ° C durante 12 días. Las películas redujeron significativamente el crecimiento de *Escherichia coli* en el brócoli desde el día 4 y hubo una inhibición total en el día 12. Igualmente, se observó una reducción significativa de los recuentos de *Salmonella typhimurium* desde el día 2 y una inhibición total en el día 7. Lyu et al. (2019) realizaron también un estudio con películas compuestas de PCL con diferentes concentraciones de extracto de semilla de pomelo (GSE) como agente antimicrobiano. La actividad antimicrobiana de las películas aumentó cuando lo hizo la concentración de GSE; con 5% de GSE hubo una actividad inhibitoria mayor contra *Listeria monocytogenes*. Cuando se aplicaron en envases comerciales de queso cheddar, se observó un retraso en el crecimiento microbiano de las muestras. Se han desarrollado films mixtos de PCL/almidón/corteza de granada para el envasado antimicrobiano, observándose efectividad antimicrobiana para altas concentraciones de la corteza de granada (40%) (Khalid et al., 2018).

Uzunlu and Niranjana, 2017 incorporaron por separado en films de PCL cinamaldehído (CNMA), extracto metanólico de granada (PME), arilos liofilizados de granada (FDAP) y harina de semilla de granada (SF) para obtener películas antimicrobianas para el envasado activo de alimentos. Las películas PCL-CNMA inactivaron completamente el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* inoculados, a concentraciones de 5% o 10% del activo, a 4, 20, y 37 °C. Las películas PCL-PME (10% del activo) retrasaron el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* durante 7 y 6 días, respectivamente, a 37 °C. Se lograron retrasos de dos días en el crecimiento de ambas bacterias con las películas con FDAP y SF (10% del activo), a 20°C.

2.3 Biopolímeros producidos por microorganismos

Entre los polímeros obtenidos por fermentación, los **Polihidroxicanoatos** (PHAs) son poliésteres lineales producidos por bacterias por fermentación del azúcar o lípidos. Las bacterias los producen como mecanismo de almacenamiento de carbono y energía. Los PHA tienen características físicas similares a las de los plásticos derivados del petróleo, como el polipropileno y polietileno, pero tienen la ventaja de que pueden ser sintetizados a partir de fuentes de carbono renovables, son biodegradables (pueden ser asimilados por muchos microorganismos ya sea de suelos, mares, lagos o aguas residuales) y son biocompatibles (no causan efectos tóxicos). Estas propiedades les confieren una gran importancia como substitutos de los plásticos convencionales (Anderson y Dawes, 1990). El tipo de PHA sintetizado depende del microorganismo en cuestión; la mayoría sólo produce PHA de cadena corta o PHA de cadena media, y sólo una pequeña parte de ellos es capaz de producir PHA mixtos. Los PHA de cadena corta son típicamente polímeros termoplásticos, que pueden ser moldeables por encima de su punto de fusión, cuya temperatura es relativamente alta (180 °C). En cuanto a los PHA de cadena media, son altamente amorfos con una Tg de entre -62 y -26 °C y Tm de 42 a 58 °C, por lo cual se clasifican como elastómeros (González et al., 2013). La tabla 5 presenta algunos estudios para el desarrollo de films antimicrobianos a partir de PHAs. Basnett *et al.* (2020) obtuvieron películas de PHA con aceite de lima como antimicrobiano que fueron efectivas contra *S. aureus*, incluso después de un año de su preparación. En cambio, no se consiguió inhibir el crecimiento de las gram-negativas como *E. coli*. Castro-Mayorga *et al.* (2017) desarrollaron con éxito un laminado antimicrobiano activo con una capa de PHA comercial y un recubrimiento de PHA electrohilado con nanopartículas de plata estabilizadas in situ. El efecto antimicrobiano de la película frente a *Listeria monocytogenes* no fue efectivo tras 24 h de exposición, pero redujo notablemente el crecimiento de *Salmonella entérica*. Este comportamiento es coherente con lo descrito en estudios previos acerca de la mayor susceptibilidad de las bacterias gram-negativas, en comparación con las gram-positivas. Xu *et al.* (2020) desarrollaron películas de PHA con

nanocompuestos de óxido de grafeno y sales de amonio cuaternario alquílicas con una efectividad del 99.9% frente a las bacterias gramnegativas y grampositivas.

Tabla 4. Algunos estudios sobre películas de PCL con compuestos antimicrobianos

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PCL/péptido de cadena corta (REDV)	Eugenol	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Actividad microbiana limitada	Li <i>et al.</i> , 2018
PCL	Extracto sólido de salvia	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Actividad microbiana limitada, más efectivo contra <i>S. aureus</i>	Salević <i>et al.</i> , 2019
PCL	Acidos orgánicos, extracto de ácido rosmarínico y mezcla de aceites esenciales asiáticos.	<i>In vivo</i>	<i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Takala <i>et al.</i> , 2013
PCL	Extracto de semilla de pomelo	<i>In vitro</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Lyu, Lee and Han, 2019
PCL/almidón	Corteza de granada	<i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i>	Inhibición del crecimiento microbiano a concentraciones altas	Khalid <i>et al.</i> , 2018
PCL	Cinamaldehído	<i>In Vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Uzunlu and Niranjan, 2017
PCL	Extracto metanólico de granada	<i>In Vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Retraso del crecimiento de 6 y 7 días	Uzunlu and Niranjan, 2017
PCL	Arilos liofilizados de granada	<i>In Vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Retraso de crecimiento de 2 días	Uzunlu and Niranjan, 2017
PCL	Harina de semilla de granada	<i>In Vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Retraso de crecimiento de 2 días	Uzunlu and Niranjan, 2017

Tabla 5. Algunos estudios sobre películas de PHA con compuestos antimicrobianos.

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PHA	Aceite de lima	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Antimicrobiano efectivo solo contra <i>S.aureus</i> .	Basnett <i>et al.</i> , 2020
PHA	AgNP	<i>In vitro</i>	<i>S. entérica</i> <i>L. monocytogenes</i>	Efectivo contra <i>L. monocytigenes</i> y no efectivo contra <i>S. entérica</i>	Castro-Mayorga <i>et al.</i> , 2017
PHA	sales de amonio cuaternario alquílicas	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Xu <i>et al.</i> , 2020

Los dos PHAs más comunes son: el polihidroxitirato (PHB) y el copolímero de polihidroxitirato y polihidroxitirato conocido como polihidroxitirato-valerato (PHBV). El **PHB** es un biopoliéster cristalino, biodegradable y con una temperatura de fusión entre 173 °C y 180 °C, próxima a la del PLA por lo que puede ser un candidato para el desarrollo de mezclas en fundido de PHB/PLA. Es producido por una amplia variedad de bacterias. Al obtenerse a partir de fuentes de carbono naturales renovables representa un material biodegradable prometedor para reemplazar a los plásticos sintéticos. Se ha utilizado en algunas aplicaciones prácticas como en la fabricación de envases plásticos biodegradables. Sin embargo, no hay todavía una gran fabricación de productos de PHB, ya que tiene un mayor coste que los polímeros derivados del petróleo. Es un bioplástico relativamente rígido y frágil y presenta una baja resistencia a la degradación térmica lo que limita su termoprocesado (Ecerge *et al.*, 2005). El PHB presenta propiedades interesantes para el envasado alimentario, tales como biodegradabilidad y propiedades ópticas, tiene mejores propiedades de barrera que el PET, comúnmente usado para la fabricación de botellas (Yang *et al.*, 2010).

La Tabla 6 resume algunos de los estudios realizados para el desarrollo de materiales antimicrobianos con PHB. Xavier *et al.* (2015) produjeron PHB a partir de *Bacillus mycoides*, aislado del suelo de jardín y prepararon películas antimicrobianas de PHB con vainillina que fueron probadas frente a *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. flexneri* and *S. aureus*. Los resultados demostraron que la concentración mínima de vainillina para reducir la actividad microbiana fue

de 80µg/g PHB. Correa et al. (2017) desarrollaron un film con mezcla de PHB/PCL con nanocompuestos de arcillas orgánicas y nisina. Las arcillas orgánicas ejercieron actividad antimicrobiana contra *Lactobacillus plantarum* CRL691; sin embargo, su inclusión en la mezcla de polímeros no condujo a películas antimicrobianas. La adsorción de nisina a la película PHB / PCL no se vio afectada por la presencia de arcillas. La película activada con nisina PHB / PCL fue efectiva contra *L. plantarum* (utilizado como modelo de bacteria de descomposición de carne procesada) inoculada en jamón rebanado, extendiendo así su vida útil. Las películas mezcla de PHB/PCL y nanocompuestos activados con nisina mostraron potencial para su aplicación en empaques de carne procesada. Narayanan et al. (2013) prepararon películas antimicrobianas basadas en PHB incorporando eugenol. Se evaluó su actividad antimicrobiana contra patógenos transmitidos por los alimentos, bacterias de descomposición y hongos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*). También se investigó la actividad antimicrobiana sinérgica de las películas en presencia de pediocina cruda. El caldo de cultivo con pediocina, así como la película antimicrobiana de PHB, mostraron una fase de retraso prolongada y una reducción significativa del crecimiento de las bacterias a las 24 h. El caldo de cultivo con pediocina y el eugenol incorporados en la película de PHB funcionaron de forma sinérgica.

Sea han obtenido películas activas de PHB con poli [5,5-dimetil-3-(3'-trietoxisililpropil) hidantoína] (PSPH), mediante electrohilado. Tras un tratamiento blanqueante con cloro, las membranas presentaron eficacia biocida contra *Staphylococcus aureus* (92.10% de inhibición) y *Escherichia coli* (85.04%) (Fan et al., 2015)

El **poli (3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato)** abreviado generalmente como PHBV o PHBHV, se origina a partir de la inserción de unidades de 3-hidroxi valerato (HV) en el biopolímero PHB. PHBV es un poliéster alifático, no tóxico, 100% biodegradable, biocompatible con muchos tipos de células. Se caracteriza por su alto grado de cristalinidad y es resistente a la radiación ultravioleta y a cantidades aceptables de alcoholes, grasas y aceites. Sin embargo, es un polímero rígido y bastante frágil, con temperatura de fusión es 153 °C, es inferior a la del PHB y que puede disolverse en disolventes clorados. La temperatura de transición vítrea es de -1°C. El PHBV también tiene excelentes propiedades de barrera contra el oxígeno, inactividad química, alta viscosidad en estado líquido (lo cual es favorable en los procesos de extrusión) y mejores propiedades mecánicas, mayor tensión superficial y mayor flexibilidad que el PHB. A pesar de algunas de las mejoras que ofrece el PHBV sobre el PHB, este polímero continúa exhibiendo alta

fragilidad, baja resistencia al impacto, hidrofobia considerable y poca estabilidad térmica en comparación con los polímeros a base de petróleo (Rivera-Briso and Serrano-Aroca, 2018).

Tabla 6. Algunos estudios sobre películas de PHB con compuestos antimicrobianos.

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PHB	Vainillina	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i> <i>S. flexneri</i> <i>S. aureus</i>	Concentración mínima para reducir la actividad microbiana 80µg/g PHB	Xavier <i>et al.</i> , 2015
PHB/PCL y arcilla orgánica	Nisina	<i>In vitro</i>	<i>L. plantarum</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Correa <i>et al.</i> , 2017
PHB	Eugenol y pediocina	<i>In vitro</i>	<i>S.aureus</i> <i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i> <i>B. cereus</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Narayanan <i>et al.</i> , 2013
PHB/PSPH	Cloro	<i>In vitro</i>	<i>S.aureus</i> <i>E. coli</i>	Inhibición del crecimiento microbiano	Fan <i>et al.</i> , 2015

La tabla 7 resume algunos estudios sobre desarrollos películas de PHBV con compuestos activos. Figueroa-Lopez et al. (2020) desarrollaron films de PHBV mediante la técnica de electrohilado, con aceite de orégano y nanopartículas de óxido de zinc. Ambos antimicrobianos mostraron eficacia contra *E. coli* y *S. aureus* que se redujo a los 15 días. El film que mejores resultados mostró fue el que contenía una mezcla de ambos, ya que su actividad se mantuvo por periodos de tiempo más largos, siendo las bacterias gram-positivas fueron más susceptibles al ataque del antimicrobiano. Requena *et al.* (2016) desarrollaron películas bicapa de PHBV con distintos antimicrobianos y se probaron con *Listeria innocua* y *E. coli*. Para *L. innocua*, el agente antimicrobiano más efectivo fue el carvacrol seguido del aceite esencial de orégano. El aceite de clavo o el eugenol resultaron menos efectivos. Por otra parte, *E. coli* mostró mayor sensibilidad que *Listeria* a todos los tipos de antimicrobianos probados.

Melendez-Rodriguez *et al.* (2019) realizaron estudios sobre la actividad antimicrobiana de films de PHBV con un soporte mesoporoso de sílice y aceite esencial con eugenol. Los films fueron probados para *E. coli* y *S. aureus*. Se logró reducir la actividad microbiana y se obtuvieron mejores resultados en *S.aureus*. Sabharwal et al. (2018) incorporaron triclosán (TCS) a películas

de PHBV obtenidas por casting que fueron muy efectivas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Tabla 7. Algunos estudios sobre películas de PHBV con compuestos antimicrobianos

Polímero biodegradable/compostable	Antimicrobiano	Ensayos microbiológicos	Microorganismos	Resultados	Referencia
PHBV	Nanopartículas de ZnO y aceite esencial de orégano	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición microbiana significativa	Figuroa-Lopez <i>et al.</i> , 2020
PHBV	Nanopartículas de ZnO y aceite esencial de oregano actuando sinérgicamente	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición microbiana mayor que la de los antimicrobianos por separado	Figuroa-Lopez <i>et al.</i> , 2020
PHBV	Aceite esencial de óregano	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>L. innocua</i>	Inhibición microbiana significativa, mayor en <i>E. coli</i>	Requena <i>et al.</i> , 2016
PHBV	carvacrol	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>L. innocua</i>	Inhibición microbiana significativa, mayor en <i>E. coli</i>	Requena <i>et al.</i> , 2016
PHBV	eugenol	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>L. innocua</i>	Inhibición microbiana significativa, mayor en <i>E. coli</i>	Requena <i>et al.</i> , 2016
PHBV/ Soporte mesoporoso de sílice	Aceite esencial de Eugenol	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición microbiana	Melendez-Rodriguez <i>et al.</i> , 2019
PHBV	Triclosán	<i>In vitro</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Inhibición microbiana efectiva	Sabharwal, Chattopadhyay and Singh, 2018

3. BIODEGRADACIÓN EN DISTINTOS MEDIOS. COMPOSTAJE.

La biodegradación de polímeros implica actividad biológica y comprende tres etapas principales:

- 1) el biodeterioro o modificación de las propiedades químicas, físicas y mecánicas del polímero debido al crecimiento de microorganismos sobre o dentro de la superficie del material, 2) la biofragmentación o conversión de los polímeros en oligómeros o monómeros por la acción de los microorganismos y 3) asimilación de los compuestos resultantes por los microorganismos,

como fuente de carbono, energía y nutrientes, y su conversión en CO₂, agua y biomasa (Lucas et al. 2008). Entre los factores importantes que afectan a la biodegradación están la estructura química del polímero, tipo de cadena y complejidad molecular y grado de cristalinidad, ya que las enzimas segregadas por los microorganismos actúan específicamente sobre determinados tipos de enlaces. En general, los polímeros con cadena más corta, más amorfos y con menor complejidad molecular son más sensibles a la acción de los microorganismos. Adicionalmente, las características del entorno donde tiene lugar el proceso afectan también de manera importante a la biodegradación; temperatura, pH, humedad y condiciones de oxigenación son los factores más relevantes para la acción microbiana responsable del proceso.

Se han realizado diversos estudios para investigar la biodegradabilidad de los bioplásticos en diferentes condiciones ambientales, como el suelo, el compost, el medio marino y otros ambientes acuáticos (Anstey et al. 2014). Aunque la mayoría de los desechos plásticos están presentes en los vertederos, la biodegradación de los plásticos en los vertederos no se ha estudiado de forma relevante.

El compostaje y reciclado son los dos procedimientos más ampliamente considerados para la gestión de los residuos plásticos. El compostaje es un proceso en el cual la materia orgánica se convierte en CO₂ y un material similar al suelo (humus) por la actividad de un grupo mixto de microorganismos (Kale *et al.*, 2007). Permite transformar residuos y subproductos orgánicos en materiales con calidad para utilizarse como mejoradores del suelo y/o abonos. De este modo, se elimina el impacto ambiental que estos residuos generan y se posibilita el aprovechamiento de los abundantes recursos que con frecuencia contienen (Tortosa, 2009).

Según lo definido por la Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales (ASTM), un plástico compostable sufre una degradación por procesos biológicos durante el compostaje para producir dióxido de carbono, agua, compuestos inorgánicos y biomasa a una velocidad consistente con la otros materiales compostables conocidos y no deja residuos visualmente distinguibles o tóxicos. Por lo tanto, un plástico compostable es biodegradable, mientras que un plástico biodegradable no siempre es compostable (Kale *et al.*, 2007).

Dado que los desechos plásticos también están presentes en entornos de suelo o acuáticos es interesante analizar sus cambios y la influencia de estos medios en particular. El hábitat del suelo contienen también una gran biodiversidad de microorganismos, lo que permite que la biodegradación plástica sea más factible con respecto a otros ambientes, como el agua o el aire (Emadian, Onay and Demirel, 2017). Por otra parte, los desechos plásticos se acumulan en gran

medida de manera uniforme en el medio marino. Debido a su estabilidad semipermanente en los ecosistemas marinos, los desechos plásticos provocan contaminación marina, lo que tiene impacto en los animales marinos (Volova *et al.*, 2010). No obstante, se han realizado menos estudios acerca del potencial biodegradable de los bioplásticos en suelo o medios acuáticos. Además, dada la acumulación a escala mundial de desechos plásticos en ríos, lagos, aguas costeras y sedimentos, aguas polares y aguas profundas, existe la necesidad de más datos experimentales sobre la biodegradación de polímeros en la mayoría de los ecosistemas acuáticos (Harrison *et al.*, 2018).

Los estudios de biodegradación se llevan a cabo, básicamente, desde dos tipos de análisis: estudio de la cantidad de CO₂ generada en el sistema como consecuencia de la biodegradación del plástico o estudio de la desintegración del material a través del control de la pérdida de masa de la muestra controlada en función del tiempo. Para la adecuada comparación del comportamiento de los diferentes materiales se han definido métodos estandarizados para llevar a cabo la experimentación en condiciones controladas (UNE-EN 13432, 2001). La Tabla 8 resume los valores del porcentaje y tiempos de biodegradación de diferentes bioplásticos en diferentes medios y condiciones, tal como resumen Emadian *et al.* (2017) a partir de estudios realizados por diferentes autores.

Tabla 8. Condiciones de biodegradación de algunos bioplásticos en compost, suelo o medios marinos. (Fuente: Emadian, Onay and Demirel (2017)).

Bioplástico	Ambiente	Tipo de ensayo	Biodegradabilidad (%)	Periodo Biodegradación (días)	Condiciones ambientales
PLA	Compost	CO ₂ producido	13	60	58 °C
PLA	Compost	CO ₂ producido	84	58	58 °C, pH-8.5, HR:70%
PLA	Compost	CO ₂ producido	70	28	55 °C HR:70%
PLA	Compost	Pérdida de peso	60	30	Aeróbico, 58 °C HR:60%
PLA	Compost	Pérdida de peso	63.6	90	Aeróbico, 58 °C
PLA	Material sintético con compost	Pérdida de peso	100	28	58 °C

PLA	Suelo	Pérdida de peso	13.8	28	25°C, HR: 60%
PHB	Compost	CO ₂ producido	79.9	110	58°C
PHB	Compost	CO ₂ producido	80	28	55°C, HR:70%
PHB	Suelo	Pérdida de peso	98	300	Condiciones reales, T y HR
PHB	Agua de mar	Pérdida de peso	99	49	Incubación estática, 21°C
PHB	Agua de mar	Pérdida de peso	30	90	Incubación dinámica, 12-22°C, pH:7.9-8.1
PHA	Suelo	Pérdida de peso	35	60	35°C
PHA	Suelo/compost (90/10%)	CO ₂ producido	40-50	15	25°C, H:65%
PHBV	Agua de mar	Pérdida de peso	99	49	Incubación estática, 21°C
PHBV	Agua de mar	Pérdida de peso	30	90	Incubación dinámica, 12-22°C, pH:7.9-8.1
Con base almidón	Compost	Pérdida de peso	85	90	Aeróbico, 58°C
Con base almidón	Suelo	CO ₂ producido	14.2	110	20°C, HR:60%
PCL	Compost	CO ₂ producido	38	6	55°C
PCL	Compost	Pérdida de peso	7.6	28	30°C, Aeróbico

Las condiciones ambientales, como el pH medio, los contenidos de humedad y oxígeno, y la temperatura juegan un papel importante en el grado y tiempo de biodegradación de los bioplásticos, como puede observarse en la Tabla 8 para algunos polímeros. La estructura y la composición del biopolímero afectan extremadamente el proceso de biodegradación en sus diferentes etapas (Lambert and Wagner, 2017). El intervalo de valores observado en la Tabla 8 para el PLA es atribuido al efecto que tienen diferentes materiales de relleno sobre el comportamiento de biodegradación (Emadian, et al., 2017). En general se ha observado que aquellos rellenos que potencian la hidrofilia del material compuesto incrementan su capacidad de hidratación y la efectividad de la acción degradativa de los microorganismos. Por el contrario, el incremento en el carácter hidrofóbico disminuye la velocidad de biodegradación. Así mismo, aquellos aditivos o mecanismos que inhiben la cristalización del polímero potencian la facilidad de degradación. En particular para el PHBV, donde la co-polimerización con hidroxivalerato disminuye la cristalinidad del poli-hidroxibutirato, se observa una biodegradación más efectiva que en el PHB (Weng et al. 2011). La mayoría de los estudios de biodegradación se han llevado a cabo sobre los biopolímeros puros o mezclas de ellos, sin tener en cuenta que para fabricar un envase alimentario se añaden diferentes aditivos para potenciar la funcionalidad del material. La adición de plastificantes, muchos de ellos no biodegradables, aumenta la longevidad del bioplástico en el ambiente.

En general, la degradación en medio compost es más efectiva que en suelo o medios acuáticos debido a la riqueza de la población microbiana activa y a la posibilidad de ajustar las condiciones ambientales. En medios marinos, hay que considerar los diferentes hábitats marinos con condiciones muy diferentes para la biodegradación (Tosin et al., 2012). Los estudios en sistemas modelo tratan de reproducir algunas de las condiciones de estos hábitats.

3.1. Efecto de la incorporación de antimicrobianos en la biodegradación/compostaje de los polímeros.

Se han realizado diferentes estudios, analizando la influencia de la presencia de antimicrobianos en los materiales de envase biodegradables en su comportamiento de biodegradación. La acción microbiana del medio puede ser interferida por la liberación de compuestos con actividad antimicrobiana del material de envase, afectando esto al proceso de biodegradación. La Tabla 9 resume los resultados obtenidos para diferentes polímeros y antimicrobianos, según describen diferentes estudios. Sen & Das (2018) observaron un 90% de biodegradación en suelo, en un período de 28 días, para películas de PVA con almidón y propionato de sodio, como antimicrobiano. El antimicrobiano no interfirió con la acción de la microflora del suelo y no

obstaculizó la biodegradación de la película, que simultáneamente aportó un aumento de nutrientes al suelo. Además, el pH se mantuvo en el límite aceptado para el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, los antimicrobianos en la película no impidieron su biodegradación, y las películas aportaron un efecto positivo para el crecimiento de las plantas.

Ulloa et al. (2019) realizaron un ensayo de biodegradabilidad de PLA, con diferentes antimicrobianos de propóleos, en suelo, durante 314 días, observando pérdidas de peso mayores para los films con compuestos activos, con valores de entre 2.5 y 5% para las películas con propóleo crudo en polvo y 9-24% para películas con extracto etanólico de propóleos. La presencia de propóleos supuso un aporte de nutrientes para los microorganismos, potenciando la degradación del film.

Costa et al. (2018) estudiaron la biodegradación del PHBV con nanopartículas de plata en un suelo tropical en condiciones de laboratorio. Como herramienta para acelerar la degradación de los compuestos usaron biochar (carbón vegetal que se obtiene de restos vegetales y residuos de biomasa) de bagazo de caña de azúcar. La adición de 5-10% de biochar en el suelo aumentó la degradación de estos materiales poliméricos de 2 a 3 veces después de 30 días de incubación del suelo. Sin embargo, la presencia de nanopartículas de plata en el PHBV redujo significativamente el potencial de degradabilidad del nanocompuesto por parte de la comunidad microbiana del suelo.

Pavoni et al. (2019) estudiaron la biodegradación de films mezcla de almidón/quitosano, que después de 15 días de incubación mostraron degradación. La incorporación de quitosano antimicrobiano no interfirió en el comportamiento de la biodegradación en las condiciones analizadas en medio compost. Sin embargo, Hasan et al. (2020) llegaron a la conclusión de que la velocidad de biodegradación de las películas almidón/quitosano estaba fuertemente influenciada por el contenido de quitosano; un contenido de quitosano más alto disminuyó velocidad de biodegradación de las películas en los medios de compostaje, reflejándose su efecto antimicrobiano sobre la población del compost.

Cano et al., 2016 obtuvieron películas de almidón, PVA y mezclas de ambos (S-PVA) con diferentes concentraciones de aceite de neem, aceite esencial de orégano y nanopartículas de plata, como antimicrobianos. El análisis de su comportamiento de desintegración y biodegradación en medio compost durante 73 y 45 o mostró efecto negativo de la presencia de aceites de neem y orégano, los cuales mejoraron los niveles de desintegración y biodegradación. Sin embargo, la capacidad de biodegradación de las películas con

nanopartículas de plata se vio seriamente disminuida, reflejando la influencia de la plata en la actividad de la población microbiana del compost.

Wang et al. (2015), investigaron el comportamiento de biodegradación de películas antimicrobianas biodegradables de PBAT/almidón termoplástico mediante su análisis antes y después del enterramiento del suelo durante tres meses. Los datos de desintegración (pérdida de peso) mostraron que tanto el PBAT como el almidón podían degradarse, incluso con la presencia de la sustancia antimicrobiana, el clorhidrato de polihexametilen guanidina, aunque, la tasa de biodegradación fue menor.

Norcino et al. (2020) incorporaron aceite de copaiba en forma de nanoemulsión, como antimicrobiano, en films de pectina. Se observó una disminución gradual en la producción de CO₂ a medida que aumentó la concentración del antimicrobiano, lo cual indicó que el este interfirió en la biodegradación de los films de pectina en suelo. Tampau et al., 2020 evaluaron la biodegradación de películas multicapa de almidón termoplástico y PCL, con carvacrol incorporado en la capa de PCL, mediante mediciones de pérdida de peso y dióxido de carbono. Todas las películas libres de carvacrol se biodegradaron completamente después de 25 días de compostaje. Sin embargo, la presencia de carvacrol afectó notablemente la actividad del inóculo del compost, limitando así la biodegradabilidad de las multicapas cargadas de carvacrol a un valor máximo de alrededor del 85% después de 45 días.

Arrieta et al. (2019) obtuvieron diversas formulaciones bicapa de PHBV/PLA con catequina y oligómeros de ácido láctico. Después de 23 días de desintegración en compost, los sistemas bicapa comenzaron a separarse. La incorporación de catequina retrasó ligeramente el proceso de desintegración, mientras que el ácido láctico lo aceleró. Tang et al. (2008) prepararon varias películas de mezcla almidón/PVA/nano-SiO₂ por casting. La prueba de enterramiento en suelo mostró que la adición de nano-SiO₂ no tuvo una influencia significativa en la biodegradabilidad de las películas. Capelezzo et al. (2018) evaluaron la biodegradación en suelo de polímeros de ecoflex con nanopartículas de óxido de zinc, como antimicrobiano. Los resultados mostraron que la adición de compuestos de zinc al polímero biodegradable no afectó su comportamiento de biodegradación.

En general, no se ha observado en la mayoría de los estudios realizados un gran efecto de los antimicrobianos incorporados en la degradación de los films. Los posibles cambios en la biodegradación del polímero con antimicrobianos incorporados, se atribuyen a la influencia del compuesto sobre la población de microorganismos que llevan a cabo el proceso, la cual puede quedar afectada con la liberación del compuesto activo al medio. Por otro lado, la incorporación

de antimicrobianos modifica la estructura de la matriz. Esto puede favorecer su capacidad de desintegración o de humectación, lo que puede favorecer el proceso, así como puede provocar cambios en el carácter hidrofóbico de la matriz y por tanto en su sensibilidad a la acción microbiana. Por tanto, son necesarios estudios particulares en cada caso para conocer la influencia exacta de los compuestos antimicrobianos en el comportamiento de una matriz concreta frente a la biodegradación en diferentes medios.

Tabla 9. Algunos estudios sobre los efectos de la incorporación de compuestos antimicrobianos en la biodegradación/compostaje de películas poliméricas.

Polímero	Antimicrobiano	Tipo de ensayo (compost, suelo, agua)	Resultados obtenidos	Referencia
Almidón/PVA	Propionato de sodio	Suelo	El antimicrobiano no interfirió en la biodegradación. 90% de degradación en 28 días.	Sen & Das, 2018
PLA	Propoleo (crudo y su extracto etanólico)	Suelo	El propoleo promovió la biodegradación	Ulloa et al., 2019
PHBV	Nanopartículas de plata	Suelo	El biochar aceleró la degradación Las nanopartículas de plata redujeron significativamente biodegradabilidad	Costa et al., 2018
Almidón de maíz/quitosano	Quitosano	Compost	-En 15 días el quitosano no afectó negativamente la biodegradación	Pavoni et al., 2019
Almidón de arroz integral/quitosano	Quitosano	Compost	La biodegradación fue más rápida con mayor proporción de almidón.	Hasan et al., 2020
Almidón/PVA	Aceite de neem, aceite esencial de orégano y nanopartículas de plata	Compost	Los aceites mejoraron la biodegradación de la película Las nanopartículas de plata inhibieron la biodegradación.	Cano et al., 2016
PBAT/Almidón termoplástico	Clorhidrato de polihexametileno guanidina (PHPG)	Suelo	El antimicrobiano retrasó la biodegradación.	Wang et al., 2015

Pectina	Aceite de copaiba	Suelo	Retraso de la biodegradación del polímero	Norcino et al., 2020
Almidón/PCL	Carvacrol	Compost	El carvacrol retardó la biodegradación	Tampau et al., 2020
PHBV/PLA-PHB	Catequina y ácido láctico oligomérico	Compost	La incorporación de catequina retrasó el proceso de desintegración, El ácido láctico lo acelero	Arrieta et al., 2019
Almidón/PVA	Nanopartículas de óxido de silicio	Suelo	Las nanopartículas de óxido de silicio no influyeron en la biodegradación.	Tang et al., 2008
Ecoflex	Nanopartículas de óxido de zinc y microcápsulas con zinc iónico	Suelo	Los compuestos de zinc no afectaron al proceso de biodegradación	Capelezzo et al., 2018

4. CONCLUSIÓN

La disponibilidad de materiales biodegradables para el envasado de alimentos es limitada y pueden clasificarse en provenientes de biomasa (p.e.: almidón y quitosano), sintéticos a partir de monómeros provenientes de fuentes renovables (p.e.: PLA) o del petróleo (p.e.: PCL), y los producidos por fermentación de microorganismos (p.e.: PHA, PHB, PHBV). A partir de estos biopolímeros se han desarrollado materiales antimicrobianos mediante la incorporación de compuestos activos como aceites esenciales de plantas o sus compuestos derivados, o compuestos inorgánicos, como nano partículas de plata o de zinc, que permiten controlar el crecimiento de bacterias patógenas o deteriorativas de los alimentos. Estos materiales tienen alto potencial para el envasado de alimentos ya que permiten alargar su vida útil, sin afectar negativamente al medio ambiente por ser biodegradables o compostables. Son necesarios más estudios de biodegradación en diferentes medios (compost, suelo y medios marinos) para asegurar la inocuidad de estos materiales en los ecosistemas. El compostaje constituye una estrategia sostenible para la gestión de estos materiales activos de envasado basados en biopolímeros, pero es necesario garantizar que el efecto de los antimicrobianos incorporados no representa un obstáculo para el proceso. Por otra parte, la biodegradación de los bioplásticos en los ecosistemas acuáticos y marinos requiere estudios en profundidad, ya que

inevitablemente se puede producir acumulación de bioplásticos en estos entornos y es importante garantizar la inocuidad de los mismos para estos sistemas.

5. BIBLIOGRAFÍA

Ali, A. *et al.* (2019) 'Starch-based antimicrobial films functionalized by pomegranate peel', *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V., 129, pp. 1120–1126. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.068.

Arrieta, M. P. *et al.* (2011) 'Envases alimentarios sostenibles. Biopelículas activas obtenidas a partir de proteínas lácteas', *Seguridad y Medio Ambiente*, 121, pp. 46–56. Available at: <http://hdl.handle.net/10251/30971>.

Basnett, P. *et al.* (2020) 'Antimicrobial materials with lime oil and a poly(3-hydroxyalkanoate) produced via valorisation of sugar cane molasses', *Journal of Functional Biomaterials*, 11(2). doi: 10.3390/jfb11020024.

Cano, A. *et al.* (2016) 'Development and characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles', *Food Packaging and Shelf Life*. Elsevier Ltd, 10, pp. 16–24. doi: 10.1016/j.fpsl.2016.07.002.

Castro-Mayorga, J. L. *et al.* (2017) 'On the use of the electrospinning coating technique to produce antimicrobial polyhydroxyalkanoate materials containing in situ-stabilized silver nanoparticles', *Nanomaterials*, 7(1). doi: 10.3390/nano7010004.

Chen, J. *et al.* (2018) 'Hydrogen-Bond Assembly of Poly(vinyl alcohol) and Polyhexamethylene Guanidine for Nonleaching and Transparent Antimicrobial Films', *ACS Applied Materials and Interfaces*, 10(43), pp. 37535–37543. doi: 10.1021/acsami.8b14238.

Correa, J. P. *et al.* (2017) 'Improving ham shelf life with a polyhydroxybutyrate/polycaprolactone biodegradable film activated with nisin', *Food Packaging and Shelf Life*. Elsevier Ltd, 11, pp. 31–39. doi: 10.1016/j.fpsl.2016.11.004.

Dhumal, C. V. *et al.* (2019) 'Improvement of antimicrobial activity of sago starch/guar gum bi-phasic edible films by incorporating carvacrol and citral', *Food Packaging and Shelf Life*. Elsevier, 21(April), p. 100380. doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100380.

- Emadian, S. M., Onay, T. T. and Demirel, B. (2017) 'Biodegradation of bioplastics in natural environments', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 59, pp. 526–536. doi: 10.1016/j.wasman.2016.10.006.
- Fan, X. *et al.* (2015) 'Preparation and characterization of electrospun antimicrobial fibrous membranes based on polyhydroxybutyrate (PHB)', *Fibers and Polymers*, 16(8), pp. 1751–1758. doi: 10.1007/s12221-015-5108-1.
- Figuerola-Lopez, K. J. *et al.* (2020) 'Electrospun active biopapers of food waste derived poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with short-term and long-term antimicrobial performance', *Nanomaterials*, 10(3). doi: 10.3390/nano10030506.
- González García, Y. *et al.* (2013) 'Síntesis y biodegradación de polihidroxialcanoatos: Plásticos de origen microbiano', *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29(1), pp. 77–115.
- Haghighi, H. *et al.* (2020) 'Development of antimicrobial films based on chitosan-polyvinyl alcohol blend enriched with ethyl lauroyl arginate (LAE) for food packaging applications', *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 100(July 2019), p. 105419. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105419.
- Hajji, S. *et al.* (2016) 'Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films', *Environmental Science and Pollution Research*. Environmental Science and Pollution Research, 23(15), pp. 15310–15320. doi: 10.1007/s11356-016-6699-9.
- Hasan, M. *et al.* (2020) 'Evaluation of the thermomechanical properties and biodegradation of brown rice starch-based chitosan biodegradable composite films', *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, pp. 896–905. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.039.
- Kale, G. *et al.* (2007) 'Compostability of bioplastic packaging materials: An overview', *Macromolecular Bioscience*, 7(3), pp. 255–277. doi: 10.1002/mabi.200600168.
- Khalid, S. *et al.* (2018) 'Development and characterization of biodegradable antimicrobial packaging films based on polycaprolactone, starch and pomegranate rind hybrids', *Food Packaging and Shelf Life*. Elsevier, 18(September), pp. 71–79. doi: 10.1016/j.fpsl.2018.08.008.
- Khodayari, M. *et al.* (2019) 'Effect of poly(lactic acid) films incorporated with different concentrations of Tanacetum balsamita essential oil, propolis ethanolic extract and cellulose nanocrystals on shelf life extension of vacuum-packed cooked sausages', *Food Packaging and Shelf Life*. Elsevier, 19(October 2018), pp. 200–209. doi: 10.1016/j.fpsl.2018.11.009.

Lambert, S. and Wagner, M. (2017) 'Environmental performance of bio-based and biodegradable plastics: The road ahead', *Chemical Society Reviews*. Royal Society of Chemistry, 46(22), pp. 6855–6871. doi: 10.1039/c7cs00149e.

Li, Z. *et al.* (2018) 'Antimicrobial eugenol-loaded electrospun membranes of poly(ϵ -caprolactone)/gelatin incorporated with REDV for vascular graft applications', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Elsevier B.V., 162, pp. 335–344. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.12.004.

Lyu, J. S., Lee, J. S. and Han, J. (2019) 'Development of a biodegradable polycaprolactone film incorporated with an antimicrobial agent via an extrusion process', *Scientific Reports*. Springer US, 9(1), pp. 1–11. doi: 10.1038/s41598-019-56757-5.

Melendez-Rodriguez, B. *et al.* (2019) 'Electrospun antimicrobial films of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) containing eugenol essential oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles', *Nanomaterials*, 9(2). doi: 10.3390/nano9020227.

Narayanan, A. *et al.* (2013) 'Synergized antimicrobial activity of eugenol incorporated polyhydroxybutyrate films against food spoilage microorganisms in conjunction with pediocin', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(6), pp. 1379–1388. doi: 10.1007/s12010-013-0267-2.

Olewnik-Kruszkowska, E. *et al.* (2019) 'Antibacterial films based on PVA and PVA-chitosan modified with poly(hexamethylene guanidine)', *Polymers*, 11(12). doi: 10.3390/polym11122093.

Perveen, R., Inamuddin and Nasar, A. (2018) *Multiwalled carbon nanotube-based nanocomposites for artificial bone grafting, Applications of Nanocomposite Materials in Orthopedics*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-813740-6.00006-5.

Requena, R. *et al.* (2016) 'Poly[(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalerate)] active bilayer films obtained by compression moulding and applying essential oils at the interface', *Polymer International*, 65(8), pp. 883–891. doi: 10.1002/pi.5091.

Rivas, C. F. (2012) 'Envases Activos E Inteligentes : Control De La Calidad Y Seguridad Del Producto', *Instituto Tecnológico de Embalaje y Logística*, p. 34.

Rivera-Briso, A. L. and Serrano-Aroca, Á. (2018) 'Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate): Enhancement strategies for advanced applications', *Polymers*, 10(7), pp. 1–28. doi: 10.3390/polym10070732.

- Sabharwal, P. K., Chattopadhyay, S. and Singh, H. (2018) 'Preparation and characterization of antimicrobial, biodegradable, triclosan-incorporated polyhydroxybutyrate-co-valerate films for packaging applications', *Journal of Applied Polymer Science*, 135(44), pp. 1–10. doi: 10.1002/app.46862.
- Salević, A. *et al.* (2019) 'Physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of electrospun poly(ϵ -caprolactone) films containing a solid dispersion of sage (*Salvia officinalis* L.) extract', *Nanomaterials*, 9(2), pp. 1–18. doi: 10.3390/nano9020270.
- Segura, D. (2015) 'Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables', (January 2007), pp. 361–372.
- Silveira, M. P. *et al.* (2020) 'Development of active cassava starch cellulose nanofiber-based films incorporated with natural antimicrobial tea tree essential oil', *Journal of Applied Polymer Science*, 137(21), pp. 1–11. doi: 10.1002/app.48726.
- Souza, A. C. *et al.* (2013) 'Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties', *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 54(2), pp. 346–352. doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.017.
- Suganthi, S. *et al.* (2020) 'Fabrication of PVA polymer films with improved antibacterial activity by fine-tuning via organic acids for food packaging applications', *Applied Water Science*. Springer International Publishing, 10(4), pp. 1–11. doi: 10.1007/s13201-020-1162-y.
- Takala, P. N. *et al.* (2013) 'Antimicrobial effect and physicochemical properties of bioactive trilayer polycaprolactone/methylcellulose-based films on the growth of foodborne pathogens and total microbiota in fresh broccoli', *Journal of Food Engineering*, 116(3), pp. 648–655. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.005.
- Tripathi, S., Mehrotra, G. K. and Dutta, P. K. (2009) 'Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications', *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(4), pp. 372–376. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2009.07.006.
- Uzunlu, S. and Niranjana, K. (2017) 'Laboratory antimicrobial activity of cinnamaldehyde and pomegranate-based polycaprolactone films', *Journal of Applied Polymer Science*, 134(39), pp. 1–9. doi: 10.1002/app.45347.
- Volova, T. G. *et al.* (2010) 'Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria', *Polymer Degradation and Stability*, 95(12), pp. 2350–2359. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.08.023.

Waddell, J. M. (1979) 'Achieving Quality and Reliability in Memories.', *New Electron*, 12(5), pp. 57–67.

Xavier, J. R. *et al.* (2015) 'Material Properties and Antimicrobial Activity of Polyhydroxybutyrate (PHB) Films Incorporated with Vanillin', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(5), pp. 1498–1510. doi: 10.1007/s12010-015-1660-9.

Xu, P. *et al.* (2020) 'Multifunctional and robust polyhydroxyalkanoate nanocomposites with superior gas barrier, heat resistant and inherent antibacterial performances', *Chemical Engineering Journal*. Elsevier, 382(September 2019), p. 122864. doi: 10.1016/j.cej.2019.122864.

Yan, Q. *et al.* (2013) 'Properties and antimicrobial activities of starch-sodium alginate composite films incorporated with sodium dehydroacetate or rosemary extract', *Journal of Applied Polymer Science*, 127(3), pp. 1951–1958. doi: 10.1002/app.37570.

Yang, Z. *et al.* (2010) 'Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites', *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), pp. 2658–2667. doi: 10.1002/app.