

Resumen

La presente Tesis Doctoral plantea el desarrollo de sistemas antimicrobianos basados en el anclaje covalente reversible de aldehídos de origen natural con actividad antimicrobiana en películas de quitosano para su aplicación en el envasado de alimentos.

En primer lugar, se desarrolló un protocolo para la formación de bases de Schiff o iminas de diferentes aldehídos en películas de quitosano. Estas iminas son producto de la condensación de los grupos amino primarios del quitosano con los grupos carbonilo del aldehído. El anclaje de dichos aldehídos, en su mayoría de elevada volatilidad, permite su estabilización a largo plazo en estructuras poliméricas, facilitando su manejo. Las iminas son hidrolizables, y dicha hidrólisis está favorecida a $\text{pH} < 5$, por lo que la naturaleza reversible del enlace ofrece un mecanismo para controlar la liberación del antimicrobiano. Previamente a la incorporación de estos compuestos en las películas de quitosano, se evaluó la capacidad antimicrobiana de los aldehídos frente a diversos microorganismos patógenos y alterantes de alimentos. Se caracterizó el enlace imina mediante técnicas espectroscópicas y se cuantificó la incorporación del aldehído a la película de quitosano mediante análisis elemental. Adicionalmente otras propiedades funcionales del material fueron evaluadas, como propiedades térmicas, ópticas o de absorción de agua, verificando la modificación del polímero.

En segundo lugar, se evaluó la reversibilidad del enlace imina o base de Schiff por el contacto con soluciones acuosas de diferente acidez. La respuesta al pH de las películas permitió determinar la mayor estabilidad del enlace imina a pH neutros, mientras que a pH ácidos resultó más hidrolizable, permitiendo así una mayor liberación del aldehído anclado.

Las películas activas desarrolladas mostraron una buena respuesta antimicrobiana contra *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*, especialmente al someterlas a una solución de pH ácido. La respuesta antimicrobiana de las películas se debió exclusivamente a la liberación del aldehído al espacio de cabeza tras la hidrólisis de la imina.

La estructura química de los aldehídos tuvo un impacto significativo en la formación de iminas y en las propiedades de la película, así como en su reversibilidad. Así, la presencia del doble enlace ($C^{\alpha}=C^{\beta}$) en aldehídos α,β -insaturados podría generar otro tipo de enlaces como la adición de Michael, permitiendo obtener matrices entrecruzadas y más estables que sus análogos saturados. El grado de entrecruzamiento y propiedades de estas películas puede ser modulado por el pH del medio empleado en su síntesis.

Para la aplicación tecnológica de las películas antimicrobianas de quitosano con los volátiles anclados reversiblemente, se trabajó con productos de postcosecha frescos o mínimamente procesados. Se empleó la respuesta al pH de las películas siguiendo diferentes estrategias. Por una parte, el sistema se incorporó en el envasado de moras frescas, para ello, se diseñó un envase de doble fondo donde depositar las películas junto con el medio activador a pH ácido. La solución se añadió en el momento del envasado de la fruta, y permitió hidrolizar el enlace imina y liberar el aldehído al espacio de cabeza donde ejerció su función. Se redujo satisfactoriamente el crecimiento de hongos sobre la superficie de la fruta, aumentando el tiempo de vida útil de las moras envasadas de 3 a 12 días.

Por otra parte, se envasó piña fresca cortada empleando el mismo diseño del envase, de forma que el jugo ácido exudado por la piña durante su almacenamiento favoreció la hidrólisis de la imina. Las películas activas mejoraron la calidad y redujeron la carga microbiana habitual de la piña, observando una reducción notable respecto al control a partir del día 9.

Por último, la actividad antimicrobiana de las películas activas se evaluó en un alimento líquido refrigerado, concretamente en un zumo de frutas ligeramente ácido e inoculado con *E. coli*. La acidez del zumo provocó la liberación del aldehído al medio inhibiendo el crecimiento del patógeno.

Las películas de quitosano con los aldehídos anclados presentaron respuesta al pH, mostrando una mayor capacidad antimicrobiana al ser sometidas a pH ácido, y pudiendo emplearse en el diseño de envases activos antimicrobianos.