

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 587 005**

51 Int. Cl.:

**C12N 11/08** (2006.01)

**B29B 17/00** (2006.01)

**B29C 43/00** (2006.01)

**B29C 49/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.09.2005 PCT/BE2005/000133**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.03.2006 WO06024115**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.09.2005 E 05783354 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 1784484**

54 Título: **Proceso para la fabricación de polímeros hidrófobos**

30 Prioridad:

**03.09.2004 BE 200400431**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**20.10.2016**

73 Titular/es:

**RESILUX (100.0%)  
Damstraat 4  
B-9230 Wetteren, BE**

72 Inventor/es:

**DE CUYPER, DIRK;  
DIERICKX, WILLIAM;  
DIERICKX, YVAN;  
MERTENS, DIRK;  
MERTENS, JOHAN y  
BELADJAL, LYNDA**

74 Agente/Representante:

**ESPIELL VOLART, Eduardo María**

ES 2 587 005 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN****PROCESO PARA LA FABRICACIÓN DE POLÍMEROS HIDRÓFOBOS**

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un método para producir polímeros incorporando organismos vivos y/o productos celulares.

10

**Técnica anterior**

Este tipo de método es conocido para polímeros hidrófilos biodegradables no permanentes con un punto de fusión bien por debajo de 100 °C, en los que se incorporan células tisulares sensibles a la temperatura y moléculas orgánicas. El polímero se degrada después de un breve periodo de tiempo.

15

La patente de Estados Unidos 5.985.354 a nombre de MATHIOWITZ describe un método del tipo anterior. El problema encontrado en la técnica anterior conocida para la incorporación de materiales vivos es que el punto de fusión de polímeros no biodegradables permanentes está bien por encima de 100 °C en condiciones de presión normales. La implantación de microorganismos u organismos activos vivos a temperaturas de este nivel es imposible sin consecuencias fatales para estos organismos. En consecuencia, debe asumirse que la incorporación de material vivo durante la producción de un objeto útil a partir de un material base, tal como un polímero, no es alcanzable, incluso en caso de que los organismos que se introducen puedan después realizar una actividad útiles a temperaturas ambientales normales. Son actividades posibles a este respecto el consumo o absorción de oxígeno, absorción de energía radiante, incluyendo lo que se conoce como "bloqueo UV", y similares. Por tanto, lo anterior demuestra que actualmente existen considerables restricciones en el intervalo posible de aplicaciones para células vivas en este tipo de polímero.

20

25

El documento JP 2002274521 desvela un recipiente hecho de polímero biodegradable que incluye una capa de recubrimiento de carbono parecido al diamante/dióxido de silicio, con formación de carburo de silicio en el cuerpo principal del recipiente que está dirigido a una permeación preventiva de contenido de gas/agua a la superficie interna de dicho recipiente. Sin embargo, dicho documento no desvela ninguna solución para que se incorporen microorganismos en el polímero. El polímero usado para el recipiente es biodegradable, por lo que puede degradarse mediante microorganismos. Además, el polímero puede ser un polímero microbiano, que es un polímero hecho de microorganismos. Pero no existe ninguna enseñanza de como el experto en la materia podría mejorar las propiedades de barrera incorporando organismos vivos en el polímero.

30

35

El documento EP 1 375 616 A de KIRIN BEER meramente desvela intervalos de temperatura funcionales de 80 °C, sin garantizar ninguna actividad de los microorganismos después de tal tratamiento, con la consecuencia de que falla en proporcionar un intervalo de temperaturas funcional adecuado capaz de resolver el problema indicado anteriormente. Además, los microorganismos están conectados a materiales como glucosa, manosa y otros, que no necesitan altas temperaturas para su producción.

40

Como para el documento US 5 618 412 A de HERDING et. al., este desvela un biorreactor de lecho fijo para purificar fluidos con la ayuda de microorganismos en los que los cuerpos de transporte tienen una estructura porosa con poros adaptados para ser penetrados por el fluido y para tener microorganismos unidos a los mismos. Por tanto, este documento aborda un campo diferente, que da como resultado la estructura propuesta que se presenta con una acción de paso que consiste en un efecto purificador de fluido de paso. Esto está en oposición con la presente invención en que el objetivo es bloquear el paso, de manera que hay un antagonismo funcional entre la enseñanza de dicho documento, destinado a purificar fluidos que pasan a través del dispositivo propuesto, al contrario que la presente invención, objetivo principal de la cual es bloquear el paso de fluidos indeseados, más particularmente gases. Además, en la solución de este documento, los microorganismos están unidos a las partículas de polímero, tanto entre las partículas como en el interior de los poros, pero siempre fuera del material en sí mismo. Por lo tanto no se desvela ninguna enseñanza de cómo incorporar microorganismos en el material de polímero.

45

50

Un problema adicional encontrado en la técnica anterior es que la difusión lenta de componentes celulares y biomoléculas en un entorno húmedo está basada en una tecnología que está basada en microcápsulas multipared de polímeros hidrófilos, solubles o biodegradables. Sin embargo, actualmente no hay disponible ninguna tecnología que permita la difusión lenta de una gama a biomoléculas a partir de un vehículo polimérico permanente sin que se degraden en un entorno acuoso y/o seco. Esto se aplica en particular a biomoléculas del tipo de ácido graso, tales como lípidos e hidrocarburos. Por tanto, es deseable encontrar una tecnología que permita incorporar microorganismos en polímeros hidrófobos o no biodegradables, para permitir tales aplicaciones.

55

Por lo tanto, la técnica anterior conocida tiene principalmente el siguiente defecto, concretamente que la bio-encapsulación de células en polímeros no es posible en torno a, o por encima de, 100 °C en condiciones de presión convencionales.

60

En el documento US 5284761, se describe un método de encapsulación de células en un extrudato tubular. En este caso, ambos materiales permanecen completamente separados. Sin embargo, esto es completamente diferente de bio-agregados de polímero que deben formarse mediante mezclado completo de un polímero y organismos seleccionados;

en los que se encapsulan células por coextrusión de una dispersión celular líquida con un polímero, en la que el polímero forma un recubrimiento exterior en torno a la dispersión líquida.

El documento XP009125355 describe meramente la supervivencia de esporas de *Bacillus stearothermophilus* durante un proceso de inyección de polietileno. En este artículo de investigación, se hace una relación con la supervivencia potencial de esporas bacterianas durante un proceso de producción de envases, y una posible contaminación de productos alimentarios envasados en tales envases. Sin embargo, no se desvela ninguna nueva función de las esporas mencionadas para la estructura de envase mencionada.

### **Objeto de la invención**

Es un objeto de la presente invención ofrecer una solución a los inconvenientes y/o defectos mencionados anteriormente.

### **Sumario de la invención**

De acuerdo con la presente invención, se propone un método de acuerdo con la reivindicación 1. Esto se hace posible por el hecho de que las células y/o productos celulares y/u organismos vivos se seleccionan entre la categoría de lo que se conoce como los quistes y/o en una fase de etapas inactivas o durmientes. Un número bastante significativo de tipos de organismos o microorganismos puede cambiar desde una forma de vida activa a lo que se conoce como una etapa quiescente o de spora, conocidas como quistes. Dichas esporas son capaces de resistir fluctuaciones ambientales extremas en una forma latente. En este estado de anabiosis, estas son capaces de resistir condiciones extremadamente secas y temperaturas bien por encima de 100 °C.

En condiciones biotecnológicas adecuadas, estos tipos no solo pueden ser cultivadas si no también convertidas, en condiciones de cultivo controladas, conocidas como enquistantes, en esporas útiles para bio-encapsulación en una matriz polimérica.

Durante el proceso de producción de un producto industrial, tal como material de envase, fibras textiles, gránulos o similares, dichas esporas y el polímero se aglomeran en un breve periodo de tiempo durante el cual, el polímero es líquido, concretamente a una temperatura por encima de su punto de fusión. Esto produce lo que se conoce como un bio agregado de polímero, mencionado más adelante como "PBA".

Siempre y cuando el producto no esté en uso, los organismos del bio componente en dicho PBA permanecen inactivos. Sin embargo, tan pronto como las condiciones de vida se vuelven favorables, coincidiendo con el inicio del producto que va a usarse en asociación con un entorno que es adecuado para la vida en términos de temperatura y humedad relativa, las esporas se vuelven activas, metabolizando células en estas condiciones de ambiente favorable. Durante este periodo, la forma biológicamente activa realizará su función pretendida. Tan pronto como las condiciones óptimas vuelven a ser condiciones que son menores de lo óptimo, la forma activa vuelve al estado de spora.

El proceso permanece reversible de acuerdo con un mecanismo de retroalimentación que se controla mediante el entorno de vida del organismo en dicho PBA.

Por tanto, de acuerdo con una realización particularmente preferida de la invención, dichos productos celulares se seleccionan entre la categoría de los denominados metabolitos, es decir, las moléculas que se sintetizan mecánicamente mediante organismos en las condiciones funcionales de temperatura mencionadas anteriormente.

De acuerdo con otra realización preferida más de la invención, los polímeros se seleccionan entre polímeros no biodegradables. La difusión fiable, lenta y prolongada de moléculas orgánicas fuera de polímeros en un entorno húmedo o cambiante puede realizarse sin degradación del polímero.

Una ventaja obtenida en virtud del método definido por la presente invención es principalmente que la actividad biológica de los organismos incorporados en el denominado PBA producido de acuerdo con la invención imparte al polímero nuevas propiedades previamente desconocidas. Dicho PBA asegura por la presente el entorno deseado para el cual se fabricó dicho PBA.

Una ventaja adicional consiste en la liberación estandarizada de biomoléculas muy específicas, tales como los denominados repelentes, a partir de una matriz polimérica, tal como gránulos, fibras textiles y similares, sin que se pierda dicha matriz polimérica en un entorno variable como resultado de inestabilidades climatológicas, por ejemplo. En reivindicaciones dependientes adicionales se describen características y propiedades adicionales de la presente invención.

Particularidades y detalles adicionales emergerán de la siguiente descripción de un número de realizaciones ejemplares del método de acuerdo con la presente invención y sus usos.

### **Descripción**

En términos generales, la presente invención se refiere a un método para producir polímeros que incorporan células, organismos vivos y/o productos celulares. A continuación se describe un número de ejemplos de uso específicos.

Un área de aplicación particularmente significativa es en el sector de envases alimentarios que emplea lo que se conoce como una barrera de oxígeno, con una capa de PBA dispuesta como una capa intermedia en material de envase multicapa para productos alimentarios, tales como botellas de PET para bebidas, tales como cervezas o zumos de frutas, por ejemplo. El componente de polímero del PBA es en este caso PET, mientras que el bio componente del PBA es un tipo de levadura con una spora seca, tal como, por ejemplo, *Saccharomyces*, que es capaz de resistir las altas

temperaturas del proceso de producción. El PBA permanece inactivo hasta que se ha rellenado la botella de PET. Cuando el envase se está rellenando con zumos de frutas o cerveza, por ejemplo, el entorno interno del PBA se satura de agua, con el resultado de que las esporas se activan para formar células que respiran, lo que consume todo el oxígeno presente en el interior de la botella. Como resultado, se retira todo el oxígeno de los contenidos bajo la influencia de lo que se conoce como el eliminador de O<sub>2</sub>. También, todo el oxígeno externo que puede difundirse a través de la pared es capturado por las células de levadura durante la respiración, lo que resulta en una barrera de oxígeno eficaz.

Un ejemplo adicional de un uso consiste en la acción como un bloqueador UV, que funciona de una manera similar al ejemplo anterior. En este ejemplo, en lugar de las células de levadura, se incorpora en el PBA un tipo de alga, tal como, por ejemplo, Haematococcus, las esporas del cual bloquean muy intensamente la luz UV. Una capa continua de células de Haematococcus, hematoquistes con una alta concentración de astaxantina, hace al PBA opaco para la luz UV. Este hecho se utiliza en películas y cubiertas poliméricas a prueba de UV resistentes a la humedad.

Un uso adicional más consiste en la aplicación combinada de ambos ejemplos mencionados anteriormente en conexión a envasado alimentario con una barrera de oxígeno y un bloqueador UV que es adecuado para botellas de PET como envase para cervezas y zumos de frutas, y similares. El biocomponente de PBA una mezcla calibrada de Saccharomyces y Haematococcus. Dichos eliminadores de oxígeno, tales como células de levadura, por ejemplo, representan una barrera de oxígeno permanente, mientras que el bloqueador UV, tal como un tipo de alga, por ejemplo, previene la degradación fotoquímica del relleno.

Otra aplicación más consiste en la absorción de energía de la luz solar con un efecto refrigerante que es similar al ejemplo anterior que se refiere al denominado bloqueador UV. En lugar de Haematococcus, el PBA incorpora un tipo de alga, tal como, por ejemplo, Chlorococcus, la forma activa de la cual, en presencia de un grado alto de humedad, participa muy intensamente en la fotosíntesis, consumiendo rayos de alta energía de la luz solar. Una capa continua de células proporcionará el PBA con una función de absorción de energía, dando como resultado un efecto de no calentamiento, en otras palabras refrigeración, en el fondo del polímero. El efecto anterior se utiliza en películas y cubiertas poliméricas resistentes a la humedad para propósitos de protección contra el sol.

Finalmente, existe un ejemplo de aplicación que abarca desde tejidos que absorben energía hasta prendas deportivas sensibles a la transpiración, que se deriva del ejemplo anterior. Un PBA con un componente polimérico de polipropileno y un biocomponente de organismos fotosintetizadores, tales como una cianobacteria o un tipo de alga unicelular, se extruyen para formar una fibra textil. Las esporas de las algas resistentes a la temperatura, después de haberse extruído para formar una fibra, se procesan para producir un producto textil. El uso de fibras de este tipo en productos textiles abarca desde tejidos de cobertura, tales como lonas, hasta prendas deportivas. Para la absorción de humedad, por ejemplo sudor, las células incorporadas convertirán la energía incidente de la luz solar en metabolitos fotosintéticos. Como resultado, la radiación solar incidente no se convierte en calor, si no que se extrae de la fibra textil, dando como resultado la acción de refrigeración deseada. Cuando se secan, cuando ya no se produce más sudor, las células vuelven a su estado inactivo latente. Esto se debe a que el proceso es reversible.

A continuación se describen ejemplos de aplicación relacionados con la difusión lenta de componentes celulares y al menos parcialmente biomoléculas en un ambiente húmedo.

En una variante en el bloqueador UV del ejemplo anterior, el metabolito activo, astaxantina, que bloquea muy intensamente la luz UV, se incorpora en el PBA en lugar de las células de Haematococcus. Como una alternativa al caro componente astaxatina, puede ser posible utilizar bloqueadores UV menos caros. La tasa de difusión del bloqueador UV del PBA en la capa intermedia de la película polilamerar hacia la periferia se regula a una tasa de difusión de baja a muy baja, dependiendo de la calidad y requerimientos. Este hecho se explota en películas y cubiertas poliméricas repelentes de UV resistentes a la humedad, así como para material de envasado para productos alimentarios. En este caso el polímero debe ser duradero y no debe deteriorarse en condiciones de humedad.

En este contexto, un ejemplo adicional de aplicación consiste en películas, fibras tejidos y microgránulos repelentes de insectos. Esto representa una variante sobre el ejemplo anterior. En este caso, el bio componente del PBA es una molécula o una mezcla de moléculas orgánicas bioactivas, preferentemente sustancias, tales como lípidos, ácidos grasos, derivados de isopreno e hidrocarburos. Además de una película o laminado, el producto procesado también puede ser un PBA que se procesa para formar una fibra textil o microgránulo, en el que el biocomponente se libera en el ambiente a una tasa determinada. Este componente tiene una acción repelente específica para insectos. Los ejemplos que se han ensayado incluyen:

PBA con derivados de isopreno y/o hidrocarburos ramificados con una actividad repelente para los ácaros del polvo domésticos. El PBA se extruye para formar una fibra textil para para tejer una alfombra fija y otros productos que tienen que ser resistentes a los ácaros del polvo domésticos; y

PBA con componentes de ácido graso que son repelentes para dípteros, concretamente moscas y mosquitos, y piojos que pican y chupan la sangre, Mallophaga, Anoplura, respectivamente, así como los piojos de la cabeza humana y piojos de aves, cucarachas, hormigas y avispas. El PBA se granula o extruye para formar una fibra textil. Los gránulos cargados se mezclan en el pelaje del animal, para protegerlo frente a miasis, tábanos y similares, o se diseminan en el sitio de anidación del huésped del parásito en cuestión. Las fibras cargadas se procesan para formar una tela protectora, como un gorro de dormir para matar piojos, o lo que se conoce como un tejido con el que puede frotarse un objeto para protegerlo frente a hormigas, cucarachas, moscas y similares.

Además del ejemplo anterior, otra importante aplicación es el uso de los PBA como un agente de protección de cultivos, en particular como un herbicida o incluso como un fungicida.

La actividad biológica de los organismos incorporados en el PBA confiere al polímero nuevas propiedades que no se

conocían previamente. El PBA asegura el ambiente deseado para el cual se hizo el PBA, tal como, por ejemplo, un ambiente anaeróbico, una barrera de oxígeno completa, absorción de energía de la radiación solar, liberación controlada de metabolitos, y similares.

5 La interacción e intercambio de diversos tipos de organismos o microorganismos y/o moléculas en el bio componente del PBA también puede producir un gran número de aplicaciones posibles.

**REIVINDICACIONES**

1. Método para producir polímeros hidrófobos que incorporan material vivo, en los que  
5       - se selecciona un polímero,  
      - un conjunto de organismos se selecciona entre células, organismos vivos y/o productos celulares,  
      - se forman agregados implantando dichas células, organismos vivos y/o productos celulares en dichos  
      polímeros, dando como resultado la formación de un denominado bio agregado de polímero, **caracterizado  
      porque** se realiza el implante en el rango de temperatura operativo tomado del intervalo de temperatura del  
10       cual el límite inferior se establece a sustancialmente 100 °C en condiciones de presión sustancialmente  
      convencionales, en particular a sustancialmente una atmósfera, en el que dichas células y/o productos  
      celulares, y/u organismos vivos se seleccionan entre la categoría de los denominados quistes y/o en una  
      fase de etapas inactivas o durmientes.
- 15   2. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** las células se seleccionan entre los  
      procariotas, en particular bacterias, y/o eucariotas.
3. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** las células se seleccionan entre  
      protocistas, hongos, plantas y/o animales.
- 20   4. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** dichos productos  
      celulares se seleccionan entre la categoría de los denominados metabolitos, que son las moléculas que se  
      sintetizan bioquímicamente mediante organismos.
5. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** dichos organismos son  
25       unicelulares.
6. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** dichos organismos son  
      multicelulares.
- 30   7. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los polímeros se  
      seleccionan entre polímeros no biodegradables.
8. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los polímeros se  
35       seleccionan entre la familia de las polioliéfinas.
9. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** los polímeros se seleccionan entre la  
      familia de los polietilenos.
- 40   10. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** PET se selecciona entre los  
      polímeros.
11. Método de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado porque** los polímeros se seleccionan entre la familia  
      de los polipropileno.
- 45   12. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** los polímeros se seleccionan  
      entre la familia de los poliésteres.
13. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** dichas células y/o  
50       productos celulares están incrustados en dicho polímero.
14. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** dicho biopolímero se  
      obtiene criando las células y/o productos celulares mientras se produce el propio polímero, en el que dicho  
      biopolímero se obtiene de una síntesis de dichos productos base.
- 55   15. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, **caracterizado porque** dichas células y/o productos  
      celulares se mezclan en un polímero existente, en el que dicho mezclado se realiza térmicamente.
16. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, **caracterizado porque** dichas células y/o productos  
60       celulares se mezclan en un polímero existente, en el que dicho mezclado se realiza en caliente como capa  
      intermedia.
17. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los quistes y el polímero

se aglomeran en un periodo breve de tiempo, durante el cual el polímero es líquido, es decir, con su temperatura por encima de su punto de fusión.

- 5 18. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, **caracterizado porque** dichas células y/o productos celulares se mezclan en un polímero existente, en el que dicho mezclado se realiza en frío como capa intermedia.
- 10 19. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** una denominada capa PBA está dispuesta como una capa intermedia en un material de envase multicapa para productos alimentarios, en particular botellas de PET para bebidas.
- 15 20. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** el componente de polímero del denominado PBA está compuesto de PET, mientras que el denominado componente de PBA es un tipo de levadura con una espora seca, que es capaz de resistir las altas temperaturas del proceso de producción.
- 20 21. Método de acuerdo con la reivindicación anterior, **caracterizado porque** en lugar de y/o posiblemente en combinación con las células de levadura, hay incorporado un tipo de alga en el PBA, las esporas de la cual bloquean muy intensamente la luz UV.
- 25 22. Uso del bio agregado de polímero obtenido de acuerdo con un proceso como se ha definido en una de las reivindicaciones anteriores, como barrera.
23. Uso del bio agregado de polímero obtenido de acuerdo con un proceso como se define en una de las reivindicaciones 1 a 18, como un agente repelente de insectos.
- 25 24. Uso del bio agregado de polímero obtenido de acuerdo con un proceso como se define en una de las reivindicaciones 1 a 18, como un agente de protección de cultivos, en particular como un herbicida.
- 30 25. Uso del bio agregado de polímero obtenido de acuerdo con un proceso como se ha definido en una de las reivindicaciones 1 a 18, como fungicida.

**DOCUMENTOS INDICADOS EN LA DESCRIPCIÓN**

En la lista de documentos indicados por el solicitante se ha recogido exclusivamente para información del lector, y no es parte constituyente del documento de patente europeo. Ha sido recopilada con el mayor cuidado; sin embargo, la EPO no asume ninguna responsabilidad por posibles errores u omisiones.

**Documentos de patente indicados en la descripción**

- US 5985354 A [0003]
- JP 2002274521 B [0004]
- EP 1375616 A [0005]
- US 5618412 A, HERDING [0006]
- US 5284761 A [0009]