



MODIFICACIÓN QUÍMICA DE PELÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZADAS PARA ENVASES DE ALIMENTOS

Vanina Costamagna
Departamento de Química Orgánica – Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba
Ciudad Universitaria (5000), Córdoba, Argentina.
vanina_costamagna@yahoo.com.ar

RESUMEN

El presente trabajo se enfocó en el desarrollo de envases “activos” capaces de controlar el desarrollo de microorganismos no deseados. En este sentido, se llevó a cabo la modificación química superficial de películas poliméricas comerciales (films). En una primera etapa, películas plásticas de policloruro de vinilo (PVC), polipropileno (PP) y polietileno (PE) fueron funcionalizadas por medio de una reacción de injerto (grafting) con ácido acrílico (AA) sobre su superficie, para luego ser caracterizadas por medio de diferentes técnicas. Los grupos polares pendientes sobre la superficie, resultantes de la reacción de injerto, fueron utilizados como sitios de unión para moléculas con propiedades antifúngicas o antimicrobianas, cuya eficacia fue comprobada mediante la capacidad de las mismas para inhibir el desarrollo de microorganismos en ensayos microbiológicos in vitro.

Para finalizar, sobre las películas poliméricas funcionalizadas superficialmente se realizaron mediciones de: a) transporte de gases en películas de PE modificadas, y b) determinación de propiedades mecánicas en películas de PP modificadas. Estos estudios complementaron la caracterización de las muestras y verificarían si la modificación superficial realizada sobre las películas afecta, en alguna medida, sus propiedades mecánicas o de transporte, esperando siempre que las mismas sean, en este sentido, mejoradas.

ABSTRACT

The aim of our work was the development of a technology that allows the obtaining of “active” packaging, able to control non-desirable microorganism’ growth. With this intention, surface modification of commercial polymeric films was carried out. In a first stage, films of poly (vinyl chloride) (PVC), polypropylene (PP) and polyethylene (PE) were surface functionalized via a grafting reaction of acrylic acid. Films were characterised in order to define and quantify grafting reaction. The polar groups (-COOH) introduced onto the surface of the films, were finally used as “anchorage sites” for compounds with antifungal properties. The ability of the modified films to bind these antifungal compounds was verified through microbiological assays in vitro.

Finally, additional studies onto the polymeric films grafted with acrylic acid were realized: a) gas transport measurements through surface modified PE films, and b) mechanical and fracture characterization of surface modified PP films. These measurements complete the characterisation of the films and corroborate surface modification affect the mechanical properties of the films or the gas transport through them, providing interesting information that allow us to affirm that surface modified films could bring advantageous properties for many applications in food packaging industry.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos son elementos perecederos, por lo tanto existen numerosos factores que alteran su calidad. Por esa razón, el envase cumple funciones muy importantes, ya que previene el deterioro del alimento y extiende su tiempo de vida media. La tendencia actual de la industria del envase es que los beneficios de los avances tecnológicos alcanzados, repercutan directamente en la conservación y preservación del alimento durante su almacenaje y distribución, como así también, en el cuidado y protección del consumidor. Esto implica además, poder impartir a los envases funciones específicas de aplicación que mejoren las propiedades de los mismos en relación a la conservación del alimento. [1-5]

Nuestro interés se enfocó en el desarrollo de una tecnología que permita la obtención de materiales plásticos "activos"[1], que puedan ser utilizados como envase primario (en contacto con el alimento). Estos envases "activos" cumplirían funciones adicionales además de las funciones clásicas de un envase común (Ej.: prevención microbiana, antifúngica, etc.). Con estos nuevos envases, se pretende alcanzar un mayor tiempo de vida media del alimento evitando la introducción de mayores concentraciones de conservantes en el alimento. [6-8]

Nuestro trabajo se fundamentó en el desarrollo de envases "activos" capaces de controlar el desarrollo de microorganismos no deseados.[9-10] En este sentido, se llevó a cabo la modificación química superficial de películas poliméricas comerciales (films) con el objeto de conferirles propiedades antimicrobianas y/o antifúngicas. En una primera etapa, películas plásticas de policloruro de vinilo (PVC), polipropileno (PP) y polietileno (PE) fueron funcionalizadas por medio de una reacción de injerto (grafting) con ácido acrílico (AA) sobre su superficie.[11-12] Estas películas fueron caracterizadas a los fines de definir y cuantificar la extensión de la reacción de injerto. Las técnicas de caracterización utilizadas fueron espectroscopia FT-IR, microscopía óptica y de

fuerza atómica, técnicas gravimétricas, titulación volumétrica, transporte de gases y determinación de propiedades mecánicas, entre otras. [12]

La modificación realizada permitió obtener una superficie que, no solo deja de ser inerte e hidrofóbica, sino que también presenta grupos polares (-COOH) pendientes, los cuales fueron posteriormente utilizados en una segunda etapa como "sitios de anclaje" o sitios de unión para moléculas con propiedades antifúngicas o antimicrobianas, específicamente cristal violeta y natamicina. [13-14]

La unión de estos compuestos antimicrobianos a las películas modificadas fue comprobada mediante la capacidad de las mismas para inhibir el desarrollo de microorganismos en ensayos microbiológicos *in vitro*. [9, 15]

REACCIONES DE INJERTO SUPERFICIAL SOBRE PELÍCULAS POLIOLEFÍNICAS

Estas reacciones se realizaron en un sistema formado por el sustrato polimérico en forma de película o film (PVC, PP y PE), el cual se encuentra en contacto con la solución del iniciador (benzofenona) y del monómero ácido acrílico (AA). Este sistema se colocó en un fotorreactor, bajo atmósfera de nitrógeno, y se irradió usando luz UV como fuente de energía. [16] La Figura 1 muestra el esquema de modificación general para las diferentes películas poliméricas.

Las variables estudiadas en las reacciones de injerto fueron: concentración de iniciador, solventes (agua destilada, acetona y etanol) y tiempo de irradiación. Para conocer la influencia de las distintas variables de reacción sobre la eficiencia del injerto, se emplearon Espectrofotometría Infrarroja (FT-IR), técnicas gravimétricas, con el fin de determinar el porcentaje de injerto de la reacción (% de grafting) [17] y titulaciones ácido-base, para cuantificar el número de equivalentes -COOH injertados en el sustrato polimérico. [18]

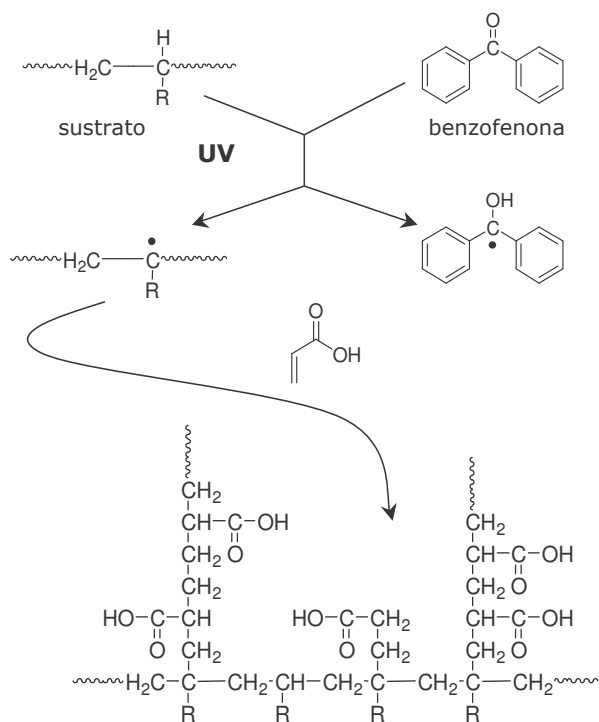


Figura 1 Esquema general para la modificación superficial de poliolefinas con AA (R = Cl, CH₃ ó H)

Se pudo observar que las reacciones de injerto produjeron mejores rendimientos cuando fueron realizadas en presencia de un solvente, al contrario de aquellas realizadas en ausencia de solvente o en masa. Por otro lado, el objetivo de estas reacciones es realizar una modificación química confinada a nivel de la superficies, y además, que la capa de modificación sea lo más delgada posible. Estas características asegurarían que la modificación realizada no altere las propiedades físicas y/o mecánicas de la masa polimérica. Para cumplir con este propósito, los solventes utilizados deben tener interacciones relativamente bajas con el sustrato polimérico. Por este motivo se eligieron solventes polares (acetona, etanol, agua destilada), que por sus características interaccionan débilmente con las películas poliolefinicas. Otro hecho que motivó la elección de estos solventes es que el monómero de injerto (AA) y las cadenas injertadas son solubles en los mismos. Esto es ventajoso porque facilita el crecimiento de las cadenas desde la superficie de las películas. Las mejores condiciones de injerto para las

películas de PVC se encontraron cuando se usó acetona como solvente y cuando el tiempo de irradiación fue superior a los 2 minutos. Para las películas de PP y PE, el injerto de AA fue efectivo cuando se usó agua destilada como solvente y tiempos de reacción superiores a los 7,5 minutos y 5 minutos, respectivamente.

Para los tres sustratos poliméricos (PVC, PP y PE) se observa un incremento en el porcentaje de injerto cuando se produce un incremento en el tiempo de irradiación con luz UV; esta tendencia se encuentra graficada en la Figura 2, donde se encuentra graficado el porcentaje de injerto (% injerto) obtenido por mediciones gravimétricas versus el tiempo de reacción para las tres películas poliméricas utilizadas. La velocidad de injerto para cada una de las películas puede correlacionarse, con la relación de zonas amorfas / cristalinas presentes en los diferentes sustratos poliméricos, debido a que la reacción de fotoinjerto se inicia a diferentes velocidades dependiendo de la estructura del sustrato polimérico, siendo ésta más favorecida en las zonas amorfas del mismo. Para el caso de nuestros sustratos, la película de PVC es la que presenta una mayor cantidad de zonas amorfas, por lo que la reacción de injerto se vería favorecida. Además, las películas de PVC presentan aditivos necesarios para la elaboración de las mismas (por ejemplo plastificantes), que pueden modificar en cierta medida algunas propiedades tales como

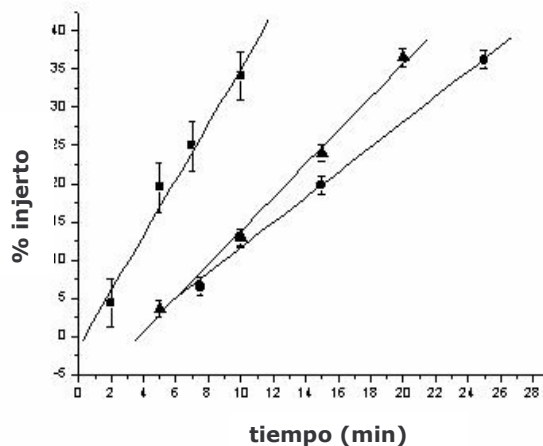


Figura 2 Porcentaje de injerto con AA (determinado por mediciones gravimétricas) versus tiempo de reacción. (■) PVC; (▲) PE; (●) PP.

permeabilidad a gases, absorción de agua, etc., debido a que contribuyen a aumentar la cantidad de zonas amorfas en el material polimérico, favoreciendo así también las reacciones de fotoinjerto de AA en los mismos.

La cuantificación por medio de titulación volumétrica de los grupos $-COOH$ injertados en la superficie de los tres tipos de películas muestran la misma tendencia que las mediciones gravimétricas, por lo que las técnicas resultan de utilidad para corroborar los valores obtenidos en el análisis de los productos modificados.

Por otro lado, en la figura 3 se muestran los espectros FT-IR obtenidos para las películas de PP tanto para los sustratos (películas sin modificar) como los espectros de las películas modificadas a diferentes tiempos de reacción.

Los espectros de los sustratos PP sin modificar, muestran las bandas características encontradas para estos materiales poliméricos. Entre las principales señales podemos destacar: bandas a 2850 y 1450 cm^{-1} (vibración de tensión CH_2 y CH_3). Los espectros de las películas modificados con AA muestran, además de las bandas características encontradas en los sustratos, una banda adicional a aproximadamente 1718 cm^{-1} , que corresponde a la vibración del enlace $-C=O$ característica del poli(ácido acrílico). En la Figura 3 se evidencia claramente, que la absorción de esta banda aumenta gradualmente a medida que aumenta el tiempo de irradiación, es decir, a medida que el porcentaje de injerto de AA es mayor.

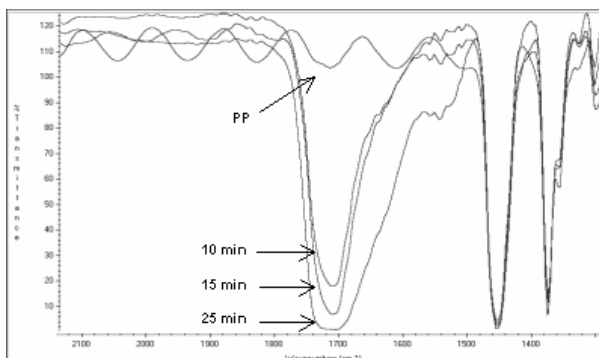


Figura 3 Espectros FT-IR de las películas de PP sin modificar y modificadas con AA a diferentes tiempos de reacción.

Cabe destacar que los espectros FT-IR de PVC y de PE modificados con AA mostraron también la presencia de la banda correspondiente al poli(ácido acrílico), la cual aumenta progresivamente con el tiempo de reacción. [19]

CARACTERIZACION SUPERFICIAL DE LAS PELICULAS POLIMERICAS MODIFICADAS

Existe un gran número de técnicas analíticas para determinar la microestructura química de los polímeros, sin embargo, cuando la caracterización debe ser delimitada a nivel de superficie, las técnicas tradicionales resultan ineficaces. En los últimos años, se ha incrementado la utilización de técnicas que permitan una caracterización restringida a la superficie de materiales poliméricos; entre ellas podemos mencionar SEM (Microscopía electrónica de barrido), AFM (Microscopía de fuerza atómica), entre otras. [12,20]

Se propuso por lo tanto el seguimiento de los cambios producidos en la topografía superficial de las películas poliméricas como consecuencia de la modificación superficial de las mismas. Para ello se utilizaron las técnicas de SEM y AFM. Por otro lado, se realizaron además análisis por Microscopía Óptica (MO) a los fines de comprender el efecto macroscópico que produce el injerto del monómero sobre la superficie polimérica.

De todas las películas modificadas, se seleccionaron las películas de PP modificadas superficialmente con AA (PP-g-AA) para la realización de microfotografías por SEM. Imágenes de SEM obtenidas para películas de PP sin modificar y modificadas con un tiempo de reacción de 10 minutos se muestran en la Figura 4. Se observa que, como consecuencia de la modificación a nivel de superficie, la suave topografía de la película de PP sin modificar cambia, hacia la formación de una superficie rugosa, en la cual se observa la formación de dominios de poli(ácido acrílico).

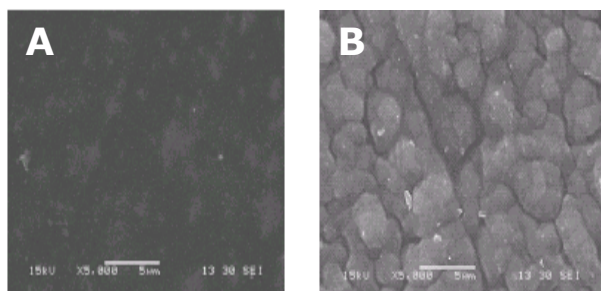


Figura 4. Imágenes de SEM de películas de PP. A - sin modificar; B - PP-g-AA, tiempo de reacción 10 min

Para comprender mejor los efectos macroscópicos que produce el injerto de AA sobre la superficie de las diferentes películas, se llevó a cabo un análisis de las muestras con Microscopía Óptica (MO). A modo de ejemplo, la figura 5 muestra la evolución topográfica de las superficies de películas PE, a diferentes tiempos de reacción. Luego de la modificación, las películas muestran una textura formada por agrupaciones, típica de las cadenas poliméricas parcialmente cristalinas injertadas sobre superficies, por medio de una polimerización iniciada por irradiación. Incluso estas agrupaciones comienzan a crecer a diferentes velocidades sobre la superficie de las películas poliméricas, dependiendo de la presencia de dominios amorfos o cristalinos según las características morfológicas de las películas utilizadas.

En determinadas microfotografías obtenidas por MO, se observaron zonas brillantes, adjudicadas a regiones cristalinas. La presencia de cristales sobre la superficie de las películas modificadas con AA puede ser explicada debido a la utilización de agua como solvente para el desarrollo de estas reacciones de injerto, a diferencia de las reacciones realizadas con PVC, en las cuales debido a la utilización de acetona como solvente, la presencia de dominios cristalinos es mucho menor. Probablemente, al ser agua un solvente más polar que acetona, ésta favorece la interacción entre las cadenas de poli(ácido acrílico) injertadas sobre la superficie, facilitando así a la formación de los dominios cristalinos observados.

Las consecuencias topográficas de la modificación química superficial sobre

películas de PVC, PP y PE fueron investigadas mediante las técnicas de AFM.

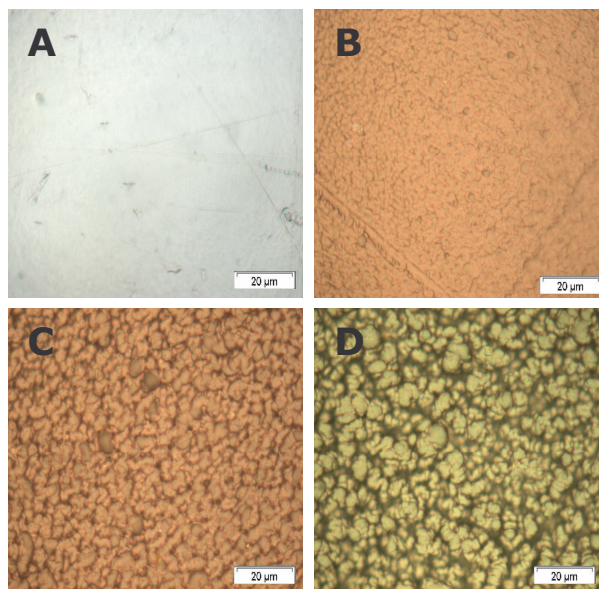


Figura 5. Imágenes de MO de películas de PE. A - sin modificar; B - PE-g-AA, tiempo de reacción 10 min; y C - PE-g-AA, tiempo de reacción 15 min; y D - PE-g-AA, tiempo de reacción 20 min

La figura 6 muestra microfotografías de AFM en 3 dimensiones para películas de PP modificadas con AA.

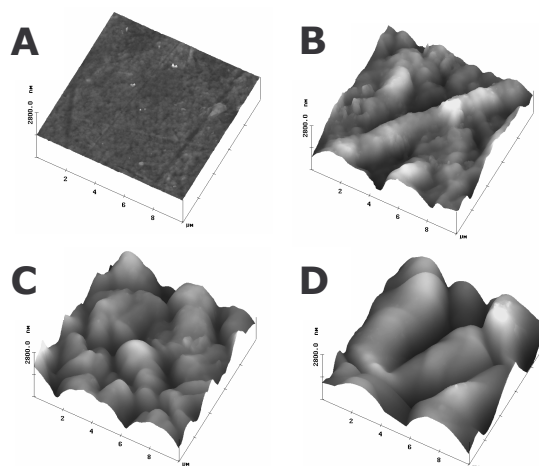


Figura 6. Imágenes de AFM en 3-D de películas de PP. A - sin modificar; B - PP-g-AA, tiempo de reacción 10 min; y C - PP-g-AA, tiempo de reacción 15 min; y D - PP-g-AA, tiempo de reacción 20 min.

Para todos los casos (PVC, PP y PE), tal como se observó con MO, la dimensión de estas agrupaciones se incrementa a medida que aumenta el tiempo de reacción. En las primeras etapas de la reacción, se observa la aparición de pequeños dominios, formados posiblemente por la presencia de varias moléculas de cadenas injertadas sobre la superficie. Luego, a medida que el tiempo de reacción aumenta, estos dominios se unen entre sí, formando una red, sobre la cual ocurren posteriores asociaciones entre los sitios reactivos de dicha red. Como consecuencia se observa que para largos tiempos de reacción, estos dominios heterogéneos crecen hasta alcanzar grandes alturas. [19]

PROPIEDADES MECÁNICAS DE PELÍCULAS SIN MODIFICAR Y MODIFICADAS SUPERFICIALMENTE

Como se explicó anteriormente, el objetivo del presente trabajo consistió en la obtención de superficies poliméricas modificadas y con una aplicación específica en el área de envases para productos alimenticios. Esta modificación superficial tiene como propósito mejorar propiedades superficiales de estos materiales a los fines de ampliar considerablemente las aplicaciones de los mismos. Sin embargo, si bien la funcionalización superficial de un material cambia o altera sustancialmente algunas de las propiedades de éste, sobre todo a nivel de superficie (hidrofilicidad, topografía, conductividad, entre otras), es deseable que ciertas características intrínsecas del material, tales como las propiedades mecánicas, no varíen, o en su defecto, que se vean alteradas lo menos posible, debido a que los mismos presentan excelentes propiedades en su masa polimérica. Para obtener una noción de cómo la modificación realizada mediante reacciones de fotoinjerto influye en las propiedades mecánicas de las mismas, se seleccionaron películas de PP superficialmente modificadas con poli(ácido acrílico) con un tiempo de reacción de 10 minutos, es decir, con un porcentaje de injerto de 13%, para la realización de ensayos que permitan una

caracterización del comportamiento mecánico de las mismas. A los fines comparativos, se realizaron además los ensayos sobre las películas de PP sin modificar.

Debido a que las películas de PP comerciales utilizadas son materiales bi-orientados, las propiedades mecánicas de las mismas son sustancialmente diferentes dependiendo de la dirección en la que se realizan los ensayos respecto de la orientación molecular del material polimérico. Las direcciones de la bi-orientación de las películas fueron evaluadas utilizando luz polarizada, y fueron determinadas como 45° y 135° respectivamente. Los ensayos mecánicos fueron llevados a cabo en cuatro direcciones: 0°, 45°, 90° y 135°.

Las curvas típicas de tensión / deformación obtenidas se muestran en la Figura 7. [21] Se puede evidenciar en las mismas que el comportamiento uniaxial está gobernado por la masa polimérica de las películas de PP, y que el mismo se encuentra muy influenciado por la orientación molecular del polímero. La orientación principal es la de 45°, la cual corresponde probablemente a la dirección del diseño final de la película. Las muestras ensayadas a 0° y 90° exhibieron el mismo comportamiento debido a que estas direcciones corresponden ambas a una desviación de 45° respecto de la dirección de orientación principal. Para cada curva, la tensión se incrementa continuamente con la deformación, mostrando solo un cambio más marcado en las cercanías del límite

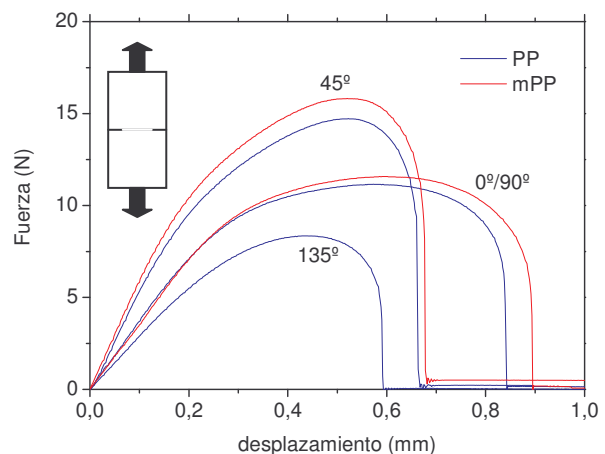


Figura 7. Curvas tensión/ deformación para películas de PP y de PP-g-AA (mPP).

proporcional. Como puede observarse para en las curvas de la figura 7, el comportamiento para las películas de PP modificadas superficialmente con AA es similar que el de las películas de PP sin modificar.

Los trazos o curvas de fuerza /desplazamiento obtenidas en los ensayos de fractura para muestras con dobles entallas laterales se observan en la figura 8. Todas las muestras exhibieron una propagación de fisuras inicial estable (o lenta), seguida de un crecimiento en la fisura inestable (o falla catastrófica), hasta la fractura final del material polimérico. Al igual que en los ensayos de tensión / deformación, los ensayos de fractura muestran un comportamiento mecánico similar para las películas de PP modificadas y sin modificar, el cual sólo se encuentra influenciado por la dirección en la que realizaron los ensayos respecto de la orientación molecular del polímero. [22]

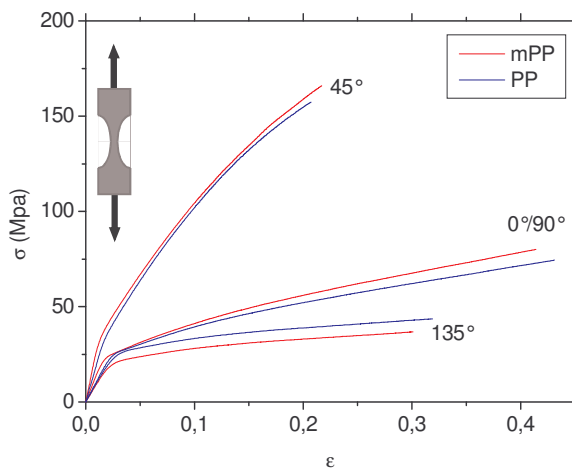


Figura 8. Curvas fuerza / desplazamiento obtenidas para los ensayos de fractura para las películas de PP sin modificar y modificadas con AA (mPP)

MEDICIONES DE TRANSPORTE DE GASES EN PELÍCULAS MODIFICADAS SUPERFICIALMENTE

Las mediciones en el transporte de gases fueron llevadas a cabo en un equipo compuesto por 2 compartimentos, los cuales se encuentran separados por la película polimérica de interés. Estos compartimentos son llevados a vacío, y posteriormente se introduce en uno de los 2 compartimentos o

cámaras un gas a una presión determinada. El gas fluye desde una cámara hacia la otra, atravesando la película a estudiar. Este flujo es monitoreado en función del tiempo. Por último se calculan los coeficientes de permeación, de difusión y de solubilidad, cuyos valores son analizados a los fines comparativos.

A modo de ejemplo, en la Tabla 1 se muestran los valores de la variación en los coeficientes de difusión y permeabilidad de gas propano a través de películas de PE en función del tiempo. Como puede observarse en la tabla, a tiempos de reacción menores de 3 minutos, las propiedades de transporte son similares a las encontradas para las películas de PE sin modificar. Sin embargo, el coeficiente de permeabilidad sufre una brusca disminución a medida que el tiempo de reacción se incrementa. Los valores de P disminuyen desde 7,54 hasta 0,99 barrer cuando el tiempo se incrementa desde 2 a 5 minutos. Sin embargo, en este rango de tiempos de reacción estudiados el coeficiente de difusión solo disminuye desde 3.1×10^{-8} a 1.3×10^{-8} cm²/s. Para tiempos de reacción mayores a 10 minutos, los valores de P son nulos, por lo tanto la película se vuelve impermeable al paso del gas.

TABLA 1. Variación en las propiedades de transporte de propano, a 30°C, y % de injerto de poli(ácido acrílico) sobre PE en función del tiempo de reacción.

Tiempo, min	% injerto*	P, barrer	$10^7 \times D$, cm ² /s
0	-	7.35	0.31
2	-	7.54	0.31
3	-	6.85	0.25
4	1.1	3.13	0.16
5	3.7	0.99	0.13

* determinado por mediciones gravimétricas

Para estudiar la influencia del tipo de gas sobre las propiedades de transporte, se seleccionaron aquellas películas de PE modificadas con AA con un porcentaje de injerto de 3,7%, es decir, un tiempo de

irradiación de 5 minutos. En la tabla 2 se muestran los valores de los coeficientes de permeabilidad a 30°C y 1 bar para oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono, argón, monóxido de carbono, metano, etano, etileno y propano. A los fines comparativos, se muestran además los coeficientes de permeabilidad de los diferentes gases obtenidos para películas de PE sin modificar. Como se puede observar, hay una marcada disminución en los valores de P y en los valores de β [$\beta = P(\text{film sin modificar})/P(\text{films modificado})$], llegando a un máximo para propano ($\beta=7,4$) y un mínimo para dióxido de carbono ($\beta=5,0$). Los valores de β encontrados son cercanos a 6 para la mayoría de los

gases; de hecho, el promedio de los valores de β para los gases investigados es de $6,5 \pm 0,7$. Los valores de los coeficientes de difusión se encuentran también en la Tabla 2. La disminución en los valores experimentada por los coeficientes de difusión debido a la modificación superficial de las películas es menor que la observada para los coeficientes de permeabilidad. La relación γ [$\gamma = D(\text{película sin modificar})/D(\text{película modificada})$] es de aproximadamente 2 para la mayoría de los gases, alcanzando un mínimo de 1,6 para monóxido de carbono y un máximo de 2,9 para dióxido de carbono. El valor promedio de γ es de $2,3 \pm 0,4$ para los gases investigados.[23]

TABLA 2. Valores a 30° C para los coeficientes de permeación y difusión de diferentes gases, para películas de PE sin modificar y modificadas con % de injerto de 3,7%, a 1 bar.

Gas	Película de PE sin modificar			Película de PE modificada		
	P, barrer	$10^7 \times D$, cm^2/s	$10^3 \times S^*$	P, barrer	$10^7 \times D$, cm^2/s	$10^3 \times S^*$
O ₂	2,60	5,60	0,46	0,45	2,09	0,22
N ₂	0,88	4,21	0,21	0,15	1,62	0,09
CO ₂	9,76	3,33	2,93	1,95	1,15	1,70
CH ₄	2,62	2,28	1,15	0,38	1,17	0,33
C ₂ H ₆	5,32	0,66	8,05	0,75	0,29	2,59
C ₂ H ₄	5,26	1,01	5,20	0,79	0,43	1,85
C ₃ H ₈	7,35	0,31	24,15	0,99	0,13	7,85
Ar	2,56	3,69	0,69	0,37	2,02	0,18
CO	1,37	3,09	0,44	0,20	1,98	0,10

*S en unidades de $\text{cm}^3 \text{ (STP)}/(\text{cm}^3 \text{ cm Hg})$

PELÍCULAS MODIFICADAS CON ANTIMICROBIANAS POLIMÉRICAS CON PROPIEDADES

Se planteó en el presente trabajo la incorporación de agentes antifúngicos a las películas poliméricas de PVC, PP y PE superficialmente funcionalizadas. La unión de estos compuestos será mediada por una interacción electrostática de los mismos a los

grupos funcionales presentes en la superficie de las películas modificadas con AA. [15] Para ello se seleccionaron dos agentes antifúngicos: el "cristal violeta" (CV), el cual es un colorante soluble en agua, y la natamicina, también conocida como pimamicina, la cual es un potente antibiótico producido por *Streptomyces natalensis*. El mismo está aprobado para ser usado como aditivo

alimentario en la cáscara de quesos para inhibir el desarrollo de hongos. Las películas de PVC, PP y PE modificadas superficialmente seleccionadas para la unión de los compuestos antimicrobianos, fueron aquellas en las cuales se obtuvieron los mejores porcentajes de injerto del monómero AA sobre la superficie de las mismas. Para el caso del PVC se utilizaron las películas en las que se usó acetona como solvente, y tiempos de reacción igual o mayores que 2 minutos. Para las películas de PP y PE, se utilizaron aquellas en las que se usó agua como solvente y tiempos de reacción igual o mayores a 5 minutos. Los grupos carboxílicos pendientes introducidos a partir de la reacción

de injerto, actuarían como “sitio de anclaje” para los agentes antifúngicos; esta unión química es de especial interés para la natamicina, debido a la restricción para la directa incorporación de la misma en los alimentos, por lo que su unión en películas comerciales puede ser una interesante opción para su aplicación en envases para alimentos.

Un esquema general de todo el proceso se ilustra en la figura 9. En una primera instancia, se realizó el fotoinjerto del monómero AA sobre la superficie de las películas; luego los grupos funcionales injertados fueron utilizados para la unión de los compuestos de interés.

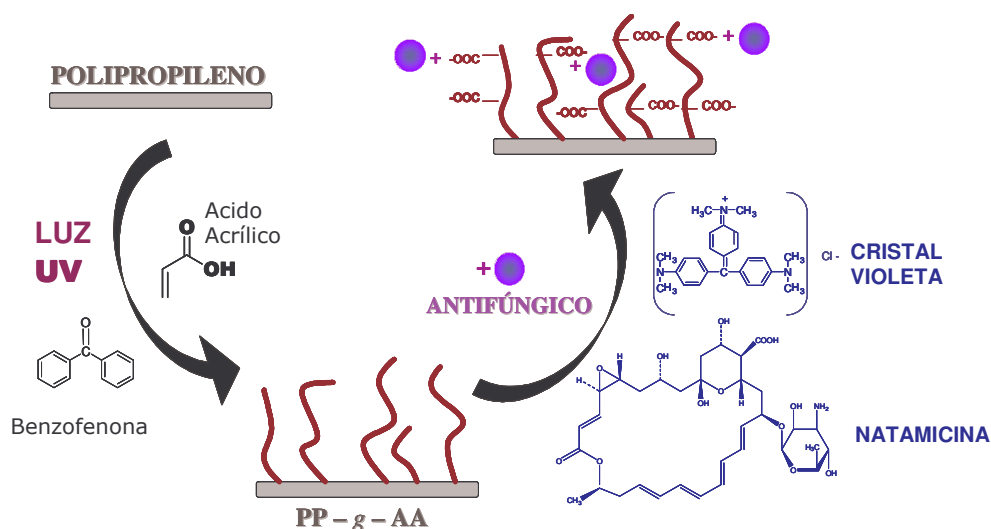


Figura 9. Esquema de reacción para películas poliolefinicas, en este ejemplo, para películas de PP.

La absorción de CV se realizó sumergiendo las películas de PVC, PP y PE modificados con AA en una solución acuosa de CV, las cuales fueron removidas de la misma después de 24 horas. Estas fueron lavadas exhaustivamente a los fines de eliminar el CV que no se encuentre iónicamente unido a las películas. La absorción de natamicina fue llevada a cabo poniendo en contacto las películas modificadas con una dispersión acuosa de una mezcla comercial de natamicina/lactosa 50/50 por 24 horas. Posteriormente estas fueron lavadas con el objeto de remover la natamicina no unida a las mismas. Por último, todas las películas fueron secadas hasta peso constante.

La unión de estos agentes antifúngicos a las películas poliméricas modificadas fue comprobada mediante la eficiencia de las mismas para inhibir el desarrollo de levaduras en ensayos microbiológicos *in vitro*. Los ensayos microbiológicos fueron realizados colocando discos de las películas modificadas en contacto con una superficie de agar nutritivo, el cual había sido previamente inoculado con una suspensión de levaduras. Estos sistemas se incubaron durante 5 días en oscuridad, a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se advertía la presencia o ausencia de crecimiento de colonias de levaduras por debajo de los discos.

Algunos de los resultados obtenidos con las películas modificadas con CV, se observan en las fotografías de las Figura 10. Como puede observarse para el caso del PVC, las películas sin modificar colocadas sobre el agar inoculado con levaduras, no fueron efectivas *per se* para impedir el desarrollo de las colonias de levaduras, debido a que las mismas fueron capaces de crecer por debajo de los discos de PVC. El mismo resultado se observa para PVC injertados con las cadenas de poli(ácido acrílico) sobre su superficie, es decir, ésta funcionalización superficial no aporta ninguna actividad

antimicrobiana adicional. Las películas de PVC funcionalizadas con AA que fueron puestas en contacto con la solución de CV, presentan actividad antifúngica, ya que se pudo observar ausencia de colonias de levadura por debajo de los discos. Debido a que el colorante CV se une fuertemente a las películas modificadas, las mismas dejan de ser transparentes y se colorean intensamente de violeta. Por este motivo, para examinar la presencia o ausencia de crecimiento por debajo de los discos utilizados en los ensayos microbiológicos, fue necesaria la remoción de los mismos del sistema.

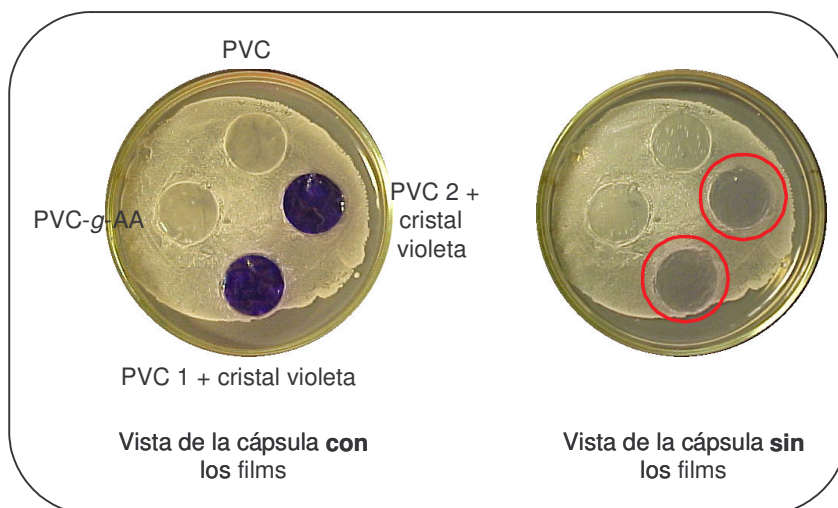


Figura 10. Ensayos microbiológicos *in vitro* con películas de PVC. PVC; virgen; PVC modificado con AA (PVC-g-AA); PVC modificado con AA; PVC 1 y PVC 2: PVC modificado con AA + cristal violeta (PVC 1 presenta un % de injerto de 19,5 % y PVC 2 un % de injerto de 34,1%)

Todas las películas modificadas con CV (PVC, PP o PE) presentaron acción antifúngica, la cual fue evidenciada mediante los ensayos microbiológicos realizados. La inhibición resultó ser independiente del porcentaje de funcionalización de las mismas. Esto implica que altos porcentajes de injerto no son necesarios, ya que las películas con bajo porcentaje de injerto son capaces de unir la cantidad de agente antifúngico necesaria para lograr el efecto antifúngico deseado. Por otro lado, se debe destacar la ausencia de halos de inhibición alrededor de los discos conteniendo CV, lo que estaría indicando la ausencia de CV libre o no unido a los grupos funcionales injertados.

Las películas de PVC, PP y PE funcionalizadas con AA y modificadas con natamicina, demostraron ser también efectivas

contra el desarrollo de levaduras. Los ensayos microbiológicos indicaron ausencia en el crecimiento de las levaduras por debajo de las mismas. Como la natamicina no colorea las películas poliméricas, no es necesaria la remoción de los discos del sistema a los fines de evidenciar el desarrollo de levaduras por debajo de los mismos. Un ejemplo de los resultados obtenidos para las películas modificadas con natamicina puede observarse en la Figura 11, donde se muestra un ensayo microbiológico para una película de PP sin modificar y para una película con natamicina unida a su superficie, donde puede evidenciarse que la película que contiene al agente antimicrobiano no presenta desarrollo de colonias de levaduras por debajo del disco. Del mismo modo que las películas modificadas con CV, los discos con natamicina mostraron

la ausencia de halo de inhibición; esto implicaría la inexistencia de agente antifúngico disponible para migrar hacia el medio de cultivo e impedir el desarrollo de colonias más allá de los límites del disco. Las películas plásticas modificadas con natamicina fueron capaces de mantener su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de levaduras por más de 35 días, resultando esto altamente beneficiosos para posibles aplicaciones de estos materiales en la industria del envasado de alimentos. [19]



Figura 11. A la izquierda de la figura, PP sin modificar (línea continua); a la derecha, PP modificado con ácido acrílico (12,9% de injerto) conteniendo natamicina (línea discontinua), en el cual se evidencia una clara zona de inhibición en el crecimiento de levaduras por debajo del mismo.

Por último se debe mencionar que se realizaron ensayos con simulantes para materiales en contacto con los alimentos (según protocolo descrito en el Código Alimentario Argentino) para algunas de las películas de PP funcionalizadas con AA y posteriormente modificadas con natamicina, con el objeto de cuantificar la migración de la misma desde la película plástica hacia el alimento. Se observó, en las condiciones ensayadas, liberación de natamicina en las películas con mayores porcentajes de injerto, lo que puede deberse a la presencia de la droga físicamente unida a las cadenas de polímero injertadas. Por el contrario, las películas con bajos porcentajes de injerto no presentaron migración hacia los medios simulantes utilizados. Este último punto tiene

connotaciones importantes para el uso del nuevo producto en alimentos, ya que las películas modificadas presentan actividad antifúngica notable sin transferencia del principio activo al alimento. Esto no solamente es beneficioso para el consumidor que dejaría de consumir el conservante junto con el alimento, sino que también abre la posibilidad de usar nuevos conservantes actualmente no autorizados en alimentos por no contarse con suficiente información sobre su toxicidad. [24]

CONCLUSIONES

Una metodología sencilla de modificación química superficial condujo a la obtención de películas con grupos reactivos en la superficie que fueron sitios activos de anclaje de moléculas orgánicas antifúngicas (cristal violeta y natamicina). Sus propiedades antifúngicas fueron comprobadas a través de ensayos microbiológicos *in vitro*. Por otro lado, no se observó en estos ensayos la formación de un halo de inhibición, lo cual implica que el antifúngico “anclado” a la película no migró hacia el medio.

El seguimiento de la topografía superficial de las películas modificadas mediante técnicas microscópicas permitió observar un cambio importante en la topografía superficial de las mismas, debido a que la textura suave y lisa observada para la superficie de las películas sin modificar cambia hasta llegar a una superficie heterogénea y rugosa a largos tiempos de reacción.

Los estudios de permeabilidad demostraron una marcada disminución para el transporte de gases para las películas de PP modificadas superficialmente, confiriéndole a este material interesantes propiedades de barrera para su aplicación como envases de alimentos. Además, estudios de propiedades mecánicas comprobaron que la modificación química superficial no altera las propiedades mecánicas del polímero base (PP).

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a la directora de mi Tesis de Maestría, Dra. Miriam Strumia, por la oportunidad y el espacio que me brindó, y a los Dres. Daniel Wunderlin, Iñaki Mondragón, Evaristo Riande y Patricia Frontini, por enriquecer mi trabajo de Tesis con sus invaluable aportes.

REFERENCIAS

- [1] From the passive protection to the active defense of the packed foods. Catalá, R.; Gavara, R. *New packages*. Arbor CLXVIII. 661, (2001) 109-127.
- [2] Directiva 94/62/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 1994, relativa a los envases y residuos de envases. Diario Oficial n° L 365 de 31/12/1994 p. 0010 – 0023.
- [3] La importancia del envasado en la comercialización de frutas y hortalizas. Catalá, R.
URL:
http://www.horticom.com/fitech2/ponencia/rca_tala.html (1997)
- [4] "Procesado térmico y envasado de los alimentos". Rees J. A. G. Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA (España). Capítulo 1. (1994)
- [5] Revisión: Envasado activo de los alimentos. Fernández, M. *Food Science and Technology International*. 6(2) (2000) 97-108.
- [6] Envases activos para frutas y hortalizas frescas y de IV gama. Cerdán de la Fuente T. *et al.* URL:
<http://www.poscosecha.com/4gama/gama.html> (2001)
- [7] Current and future trends in active packaging. Hotchkiss, J. H. II *Food Packaging International Congress RISEA-2000*: 43. (2000)
- [8] Active packaging in polymer films. Rooney, M. L. En Rooney, M. L. (Ed.): *Active Food Packaging*. Londres: Blackie Academic & Professional, (1995) 215-234.
- [9] Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications. Suppakul, P., Miltz, J. Sonneveld, K., Bigger, S. W. *Journal of Food Science*. 68(2) (2003) 408-420.
- [10] Review of antimicrobial food packaging. Appendini, P. and Hotchkiss, J. H. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 3 (2002) 113-126.
- [11] Polymer surface with graft chains. Kato, K.; Uchida, E.; Kang, E-T.; Uyama, Y.; Ikada, Y. *Prog Polym Sci*. 28 (2003) 209-259.
- [12] Polymer Surface modification and Characterization. Chan, C-M. Hanser/Gardner Publications, Inc., USA. Capítulos 1-7. (1994)
- [13] Fungal inhibition by a fungicide coupled to an ionomeric film. Halek, G. W.; Garg, A. *J Food Safety*. 9(3) (1989) 215-222.
- [14] Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. Appendini, P.; Hotchkiss, J. H. *Packag Technol Sci*. 10(5) (1997) 271-279.
- [15] Antimicrobial Food Packaging. Han, J. H. *Food Technology*. 54 (2000) 56-65.
- [16] Modification of Polymer Surfaces by Photoinduced Graft Copolymerization in Chemical Reactions on Polymers. Rånby B.; Gao Z. M.; Hult A.; Zhang P.Y., Ed. J. L. Benham and J. F. Kinstle, ACS. Symposium Series, Vol. 364, Washington, DC, (1988) 168-186.
- [17] Graft Copolymerization to Cellulose by Mutual Irradiation. Guthrie, J. T.; Huglin, M. B.; Phillips, G. O. *Journal of Polymer Science. Part C*. 37 (1972) 205-219.
- [18] Investigation of synergism during radiation graft copolymerization of binary mixtures of vinyl monomers onto different textile fabrics by a dyeing method. El Salmawi, K.; El Naggat, A.M.; Attia, S.E. *Polymer International*. 44(2) (1999) 181-190.
- [19] Surface Functionalization of Polyolefin Films Via UV-Induced Photografting of Acrylic Acid. Topographical Characterization and Ability for Binding Antifungal Agents. Costamagna V.; Wunderlin, D.; Larrañaga, M.; Mondragón, I.; Strumia, M. *Journal of Applied Polymer Science*. 102(3) (2006) 2254-2263.
- [20] Aplicaciones de la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) como método de caracterización de polímeros. Díaz Marcos, J. (2004) URL:
http://biblioteca.upc.es/pfc/mostrar_dades_PFC.asp?id=34095
- [21] Medición del comportamiento mecánico de materiales con técnicas de video. Gemin, W.; Pettarin, V.; Fasce, L.; Tami, A.; Frontini, P. 1 Taller Nacional sobre Propiedades Mecánicas, Tandil, Argentina (2005).
- [22] Poly(acrylic acid) surface grafted polypropylene films: Near surface and bulk mechanical response. Fasce L. A., Costamagna V., Pettarin V., Strumia M., and Frontini P. M. *eXPRESS Polymer Letters*. 2(11) (2008) 779-790.
- [23] Gas Transport in Surface Modified LDPE Films with Acrylic Acid as Grafting Agent. Costamagna, V.; Strumia, M.; López-González, M.; Riande, E. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 44(19) (2006) 2828-2840.
- [24] Código Alimentario Argentino, Capítulo IV.