

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Caracterización Físicoquímica de Películas Biodegradables a
Base de Agar Impregnadas con Extracto Acuoso de Ajo**



TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Paola Iveth Campa Siqueiros

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Dr. Tomás Jesús Madera Santana
Director de Tesis

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo
Secretario

MC Socorro Herrera Carbajal
Vocal

Dra. Maribel Plascencia Jatomea
Suplente

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, agradezco a la Universidad de Sonora, pues el apoyo y enseñanza que me ha brindado ha sido inmensa, sin ella la realización de mis estudios habría sido imposible.

Quisiera agradecer al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, a mis co-directores de tesis, Dra. Irasema Vargas y Dr. Tomás Madera, al laboratorio de Ecología Química, M.C. Socorro Vallejo, M.C. Consuelo Corrales y Sandra Higüera. Al igual que al laboratorio de Envases, al laboratorio de Fisiología Vegetal y al Departamento de Vegetales, en especial a M.C. Jorge Mercado.

A mis sinodales, Dra. Abril Graciano, M.C. Socorro Herrera y Dra. Maribel Plascencia. A todos mis maestros, ya que sin su sabiduría y paciencia no podría haber llegado hasta ahorita, en especial a Ana Irene Ledesma, Virginia Fernández, Carmen Villegas y César Otero, unos de mis mejores maestros que hicieron que con su conocimiento mi carrera me gustara aún más.

A todos mis amigos, sin los cuales mi travesía por la universidad hubiese sido bastante aburrida y a quienes no nombro pues no quiero que se me olvide ninguno.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mis padres, quienes se preguntaban que tanto hacía en la computadora, pues me han ayudado y animado desde siempre.

A mi hermana Jacqueline, a mi tía Concepción y a Chiquita.

A mi novio Daniel Torres, a quien amo con todo mi corazón, por aguantar mis ataques de nerviosismo e histeria a lo largo de mi carrera, alentarme a seguir adelante y sobre todo por su amor incondicional

CONTENIDO

FORMA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIA	4
CONTENIDO	5
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
OBJETIVOS	10
Objetivo General	10
Objetivos Específicos	10
RESUMEN.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
ANTECEDENTES.....	14
Películas Biodegradables	14
Polímeros Biodegradables Sintéticos.....	14
Polímeros Biodegradables Naturales	14
Extractos Naturales	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
Materiales	21
Elaboración de las Películas de Agar	21
Impregnación de las Películas.....	21
Formulaciones realizadas.....	22
Análisis de Propiedades Ópticas	22
Transparencia.....	22
Color.....	23
Análisis de Propiedades Mecánicas	23

Tensión.....	23
Análisis de Propiedades Estructurales	23
Espectroscopía Infrarroja de Transformadas de Fourier (FTIR)	23
Difracción de rayos X.....	24
Análisis de Propiedades Térmicas.....	24
Análisis Termogravimétrico	24
Análisis de Propiedades de Transporte	24
Difusión.....	24
Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua	25
Análisis Estadístico	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
Propiedades Ópticas	26
Color	¡Error! Marcador no definido.
Propiedades Mecánicas	28
Tensión.....	28
Propiedades Estructurales	31
Espectroscopía infrarroja con Transformadas de Fourier (FTIR)	31
Difracción de rayos X.....	33
Propiedades Térmicas.....	35
Análisis Termogravimétrico (TGA)	35
Análisis de Propiedades de Transporte	37
Difusión.....	37
Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua	39
CONCLUSIONES	41
RECOMENDACIONES	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43
ANEXOS.....	48

Análisis de Varianza de las Propiedades Ópticas.....	48
Tratamientos.....	48
Propiedades ópticas en relación a su concentración de extracto	48
Propiedades ópticas en relación a su porcentaje de glicerol.....	51

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Clasificación de los polímeros naturales por su fuente u origen.....	14
2.	Ejemplos de usos de polisacáridos en alimentos.....	15
3.	Propiedades atribuidas al ajo.....	19
4.	Formulaciones realizadas.....	25
5.	Color y transparencia de las películas de agar a diferentes porcentajes de glicerol y concentraciones de extracto.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Estructura química de agarosa.....	17
2.	Estructura química de agarpectina.....	17
3.	Comportamiento del esfuerzo máximo a diferentes concentraciones de glicerol y extracto.....	28
4.	Comportamiento de la elongación a la ruptura a diferentes concentraciones de glicerol y extracto.....	29
5.	Comportamiento del módulo elástico a diferentes concentraciones de glicerol y extracto.....	30
6.	Espectros de FTIR entre 2000 y 800 cm^{-1}	31
7.	Espectro de FTIR entre 3700 y 2400 cm^{-1}	32
8.	Espectro de difracción de rayos x de las películas de agar a diferentes concentraciones de glicerol y extracto.....	33
9.	Termograma de análisis termogravimétrico.....	34
10.	Derivadas de los termogramas de análisis termogravimétrico.....	35
11.	Coefficiente de difusión en función de diferentes concentraciones de extracto y porcentaje de glicerol.....	37
12.	Comportamiento de la velocidad de transmisión de vapor de agua en función de la concentración de extracto y porcentaje de glicerol.....	38

OBJETIVOS

Objetivo General

Desarrollar, impregnar y caracterizar fisicoquímicamente películas biodegradables a partir de agar impregnadas con extracto de ajo, que sirvan de soporte para la liberación de compuestos volátiles.

Objetivos Específicos

1. Elaborar películas a base de agar con diferentes concentraciones de glicerol e impregnadas con extracto de ajo.
2. Determinar las propiedades ópticas, térmicas y mecánicas de las películas de agar con y sin impregnación del extracto de ajo.
3. Caracterizar las propiedades estructurales de las películas con y sin impregnación del extracto de ajo.
4. Caracterizar las propiedades de transporte de las películas de agar con y sin impregnación del extracto de ajo.

RESUMEN

Se desarrollaron películas biodegradables de agar mediante el método de solución-vaciado y se adicionó glicerol como plastificante en porcentaje de 0, 15 y 30% de acuerdo al peso seco del agar. Las películas producidas fueron usadas como matriz de soporte para la liberación de los componentes volátiles del extracto acuoso de ajo a concentraciones de 0, 0.5, 1 and 1.5 $\mu\text{g/ml}$. La adición del glicerol a las películas de agar y la impregnación del extracto de ajo produjeron cambios significativos en las propiedades evaluadas mediante espectroscopía infrarroja de transformadas de Fourier (FTIR), difracción de rayos X y análisis termogravimétrico, así como en las propiedades ópticas, mecánicas y de transporte. La adición del extracto afectó el color y la transparencia, y disminuyó el esfuerzo máximo y la elongación a la ruptura del material.

Los análisis de FTIR y difracción de rayos X mostraron señales características de tanto del glicerol como del extracto de ajo en las películas. Mientras que el análisis termogravimétrico mostró una relativa estabilidad térmica hasta 250°C, donde se presentó la degradación del agar.

En cuanto a las propiedades de transporte, tanto la difusión como la velocidad de transmisión de vapor de agua mostraron un comportamiento similar, pues en ambas se observó que tanto el coeficiente de difusión como la velocidad de transmisión disminuyeron al aumentar la cantidad de glicerol.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día cerca de 150 millones de toneladas de plásticos se producen anualmente alrededor de todo el mundo, con su producción y consumo aun creciendo. El impacto ambiental asociado a la creciente producción y consumo de los plásticos está en función de su origen que es el petróleo crudo, esto significa que continuamente se crean polímeros no degradables (Parra y col., 2004). El uso extenso de los plásticos se debe a que se pueden emplear en varias áreas de la vida cotidiana y por lo tanto los desperdicios plásticos presentan uno de los mayores problemas a en países industrializados, en otras palabras, vivimos en la era de la contaminación plástica (Suvorova, 1999).

En años recientes, la ciencia y tecnología se ha centrado en buscar alternativas que permitan disminuir las cantidades de residuos plásticos y fabricar productos menos agresivos al medio ambiente, ya que dichos residuos presentan una amenaza potencial para diversos ecosistemas (Armelín, 2002). Una alternativa es el uso de plásticos biodegradables, los cuales son cadenas de polímeros que pueden ser descompuestos mediante la acción de enzimas microbianas, degradándose completamente a dióxido de carbono, agua, metabolitos y biomasa (Aleman y col., 2009).

Muchos polisacáridos como alginatos, carrageninas, pectinas y gomas han sido utilizados como estabilizantes y espesantes en la industria alimentaria, sin embargo, también pueden ser utilizados como formadores de películas y envases (Tian y col., 2011). Existen aquellos polisacáridos que son extraídos de algas, los cuales se denominan ficocoloides y es aquí donde se encuentra el agar. De acuerdo a la US pharmacopeia, se puede definir al agar como un coloide hidrofílico extraído de ciertas algas rojas o rodófitas (*Rhodophyceae*). Esta alga es fotosintética y contiene clorofila a y b, además de pigmentos tipo ficobilinas y carotenoides. El agar se caracteriza por la ausencia de almidón, aunque contiene polisacáridos como galactanos estos polisacáridos ocasionan que el agar sea insoluble en agua fría, pero soluble en agua hirviendo (FAO, 1987).

El agar consiste esencialmente en una mezcla de agarosa, agarosa-piruvato y galactanos sulfatados. Su estructura química consiste en la alternación de residuos D y L galactosa β -1,3 y α -1,4 respectivamente (Araki, 1966). Además éstos residuos presentan grupos funcionales sustituyentes, los más frecuentes son los ésteres sulfato y los grupos cetona piruvato. La propiedad gelificante es altamente dependiente de la cantidad y propiedades de los grupos sulfato, así como de la cantidad de la fracción de 3,6-anhidro-galactosa (Marinho-Soriano, 2001).

En el caso de las películas de agar, es recomendable la adición de un plastificante debido que éste permite disminuir las características de fragilidad y limitada elasticidad del polímero. El plastificante más utilizado es el glicerol, el cual es un poliol que se entremezcla e intercala con y entre las cadenas poliméricas interrumpiendo los puentes de hidrógeno y separando las cadenas, lo cual aumenta la flexibilidad y la permeabilidad al vapor de agua y gases (Bourtoom, 2008).

En estudios recientes, se ha analizado la posibilidad de extender las propiedades funcionales de las películas biodegradables mediante la adición de diferentes compuestos con actividad antioxidante o antimicrobiana, con el fin de producir materiales biodegradables que pueden ser utilizados para la elaboración de envases activos. En este contexto debido a las preocupaciones relacionadas con el uso de compuestos activos sintéticos, se han realizado extensos ensayos con el fin de encontrar dichos compuestos en forma natural, esto como una alternativa para no utilizar a los sintéticos. La emisión y/o liberación de éstos compuestos desde matrices poliméricas son principalmente influenciadas por las propiedades tanto del polímero como el compuesto activo y las características del producto alimenticio (Giménez, 2012).

Si bien los envases activos poseen una aplicación directa en alimentos, existen otras aplicaciones de envases o películas activas las cuales están relacionadas con la liberación de ciertos compuestos volátiles para combatir la presencia de plagas en cosechas o bien para inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos en los cultivos. Un ejemplo de compuestos utilizados son los extractos de plantas, que constituyen un reemplazo de los agentes sintéticos (Mayachiew y Davahastin. 2010).

Aquellos alimentos con altos niveles de compuestos fenólicos han captado la atención mundial en cuanto a su eficiencia como agentes antimicrobianos. Por ejemplo, se ha comprobado que el ajo posee comportamiento antimicrobiano, lo cual es atribuido a sus compuestos organosulfurados como la alicina, ajoeno y dialil sulfuro (Lu y col., 2011).

En base a lo anterior, en el presente estudio se caracterizaran fisicoquímicamente películas biodegradables a base de agar, adicionadas con glicerol como plastificante y extracto de ajo acuoso como factor volátil, como una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos.

ANTECEDENTES

Películas Biodegradables

El término “material biodegradable” es utilizado para describir aquellos materiales que pueden ser degradados por acción enzimática de organismos vivos tales como bacterias, levaduras y hongos, donde los productos finales de la degradación son CO₂, H₂O y biomasa bajo condiciones aeróbicas e hidrocarburos, metano y biomasa bajo condiciones anaeróbicas. Dentro de algunos biopolímeros propuestos para la formulación de las películas comestibles se encuentran los polisacáridos, proteínas y lípidos, que han sido utilizados de diversas maneras: materiales simples o compuestos o películas con múltiples capas. Los bioplásticos o plásticos orgánicos son derivados de fuentes de biomasa renovable, tales como aceite vegetal, almidón de maíz y microbiota, son una alternativa para suplir a lo plásticos derivados del petróleo (Müller, 2005).

Polímeros Biodegradables Sintéticos

Los polímeros sintéticos completamente biodegradables, tales como el ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL) y polihidroxitirato-valerato (PHBV) han estado disponibles comercialmente desde 1990. Sin embargo, estos polímeros sintéticos son generalmente más costosos que aquellos polímeros derivados del petróleo que también son conocidos como “plásticos commodities”. Los polímeros biodegradables sintéticos pueden ser degradados bajo condiciones particulares (luz solar, composta o en rellenos sanitarios) por lo que, el combinarlos con almidón ha sido el foco de atención de varios investigadores. Algunos estudios han demostrado que la conjugación de almidón y alcohol polivinil-alcohol (PVA) y etilen-alcohol (EVOH) también puede ser utilizada para la producción de películas degradables; asimismo se pueden producir compuestos biodegradables mediante la mezcla de almidón con polihidroxitirato-valerato (PHBV) (Janssen y Moscicki., 2009).

Polímeros Biodegradables Naturales

Existe una gran cantidad de polímeros naturales que pueden ser obtenidos de fuentes renovables, los cuales pueden ser utilizados en distintas aplicaciones. Algunos de estos, como

celulosa o almidón, son polímeros ampliamente utilizados, mientras que otros aún están siendo estudiados para saber si poseen futura utilización. A medida que se avanza en el conocimiento de rutas biosintéticas fundamentales y opciones para modular o reconfigurar estas rutas mediante manipulación genética, se van encontrando mayores oportunidades de uso para éstos polímeros, los cuales son derivados de diversos conjuntos de polisacáridos, proteínas, lípidos, polifenoles y especialmente polímeros producidos por bacterias, hongos, plantas y animales (Tabla 1) (Long, 2009).

Tabla 1. Clasificación de los polímeros naturales por su fuente u origen.

Plantas/algas	Animal	Microorganismos
	Polisacáridos	
Almidón	Ácido hialurónico	Quitina, quitosano
Celulosa		Xantana
Pectina		Dextrano
Alginato		
Carragenina		
Agar		
Gomas		
	Proteínas	
Soya	Albúmina	Colágeno/gelatina
Elastina	Ácidos poliamino	
Glúten		
	Lípidos/surfactantes	
Acetoglicéridos		
Ceras		
	Polímeros	
Lignina		
Caucho		

Fuente: Long, 2009.

Polisacáridos. Los polisacáridos consisten en monosacáridos enlazados entre sí mediante enlaces glucosídicos, donde pueden consistir de un solo tipo de unidad estructural (homoglicanos) o varios tipos de unidades estructurales (heteroglicanos). Los monosacáridos pueden estar enlazados de forma lineal (como la celulosa y la amilosa) o en forma ramificada (amilopectina, glicógeno, guaran). La secuencia de los residuos de monosacáridos puede ser a) periódica, b) un periodo puede tener una o varias unidades estructurales (celulosa, amilosa o ácido hialurónico), c) la secuencia puede contener segmentos más cortos o más largos con residuos periódicamente organizados, separados por segmentos no periódicos (alginato, carragenatos, pectina), o d) la secuencia puede ser no periódica a todo lo largo de la cadena (Belitz y col., 2009). Los diferentes usos de los polisacáridos se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Ejemplos de usos de polisacáridos en alimentos

Área de aplicación/ alimentos	Polisacárido utilizado
Estabilización de helados contra la formación de cristales de hielo, derretimiento, separación de fases; mejoramiento en consistencia	Carragenina, goma arábica, agar, goma xantana, carboximetilcelulosa, metilcelulosa
Retención de agua, estabilización de emulsiones de productos cárnicos	Agar, goma karaya
Jaleas para productos cárnicos, mariscos y vegetales	Alginatos, carragenina agar
Estabilización de espuma proteica en cerveza, crema batida, merengues y malvaviscos de chocolate	Carragenina, agar, goma arábica, goma xantana
Gelación de jaleas y dulces	Pectina, carragenina, agar, goma arábica

Fuente. Belitz y col., 2009

Agar. Historia. El nombre agar es originario de Indonesia, donde a su vez, los indonesios probablemente supieron del agar gracias a mercantes japoneses y chinos quienes trajeron el producto a Indonesia. Los japoneses llaman al agar “kanten” cuyo significado es “agua fría” o “cielo frío”, mientras que los chinos lo llaman “tungfen” que significa “polvo congelado”. Ambos nombres hacen referencia a los procesos utilizados para preparar el agar (Lembi y Waaland, 1989). Sin embargo la palabra agar en sí descende de la palabra en malayo “agar-agar” que significa gelatina (Bart y Pilz, 2011).

La primera referencia a agar purificado fue en el siglo XVII en Japón, donde la historia señala que en 1658 un dueño de una posada tiró unas gelatinas de agar afuera en una noche fría, la mañana siguiente se encontró con los residuos de esas gelatinas, las cuales presuntamente se habían congelado en la noche fría y luego se habían descongelado y secado en forma de hojuelas con el sol. El dueño disolvió las hojuelas en agua caliente y dejando a la solución enfriarse, él notó que las gelatinas de las hojuelas rehidratadas tenían una mejor textura que las gelatinas originales (Lembi y Waaland, 1989).

Irónicamente, durante los siglos el agar ha sido mejor conocido no por su uso como aditivo, sino como un medio de cultivo microbiano. Frau Fanny Eilshemius, la esposa de un médico, descubrió esta aplicación. Su esposo presentó este uso del agar a Robert Koch, el bacteriólogo a quien se le amerita este descubrimiento. El agar era tanpreciado como un medio biológico que la falta de embarques de agar desde Japón en la segunda guerra mundial forzó a los aliados a encontrar fuentes alternativas, donde se descubrieron varias algas portadoras de agar y al desarrollo de industrias comerciales para la producción de agar en Europa, África y América. (Lembi y Waaland, 1989).

Química. El agar es un polisacárido formado por una mezcla de al menos dos polisacáridos llamados agarosa (Figura 1) y agarpectina (Figura 2) (Araki 1966, Philips y Williams, 2000). La agarosa es el componente gelificante y es esencialmente un polisacárido libre de sulfato y neutral mientras que la agarpectina es el polisacárido no gelificante con una cantidad pequeña de sulfato (2%). La unidad básica de la agarosa (la cual es una estructura lineal sin ramificaciones) son la D-galactosa, L-galactosa, 3,6-anhidro-L-galactosa y D-xilosa, mientras que las unidades básicas que la agarpectina son la D-galactosa, L-galactosa, 3,6-anhidro-L-galactosa, D-xilosa, sulfato de galactosa y ácido pirúvico (Nussinovitch, 1997). Actualmente se utiliza el término agarobiosa para hacer referencia a las unidades de agarosa β -D-galactopiranosas y 3,6-anhidro- α -L-galactopiranosas (Lembi y Waaland, 1989).

Características. El agar es extraído de las algas, primariamente encontradas en algas rojas *Rhodophyta*, especialmente en las especies de *Gelidium*, *Gracilaria* y *Pterocladia Hydropuntia*. El agar es casi por completo transparente y casi neutral en reacción (Kaplan, 1998), el cual cuando se enfría en temperaturas debajo de 32 a 29°C, el fluido cambia a un gel que permanece semisólido con temperaturas de entre 85 y 100°C (Kaplan, 1998). Al fundirse permanece líquido a temperaturas por debajo de 32 a 39°C (Kaplan, 1998) y el fluente posee

baja viscosidad (Dagoon, 2005). Una característica importante es que el agar no es digerible para los humanos (Kaplan, 1998).

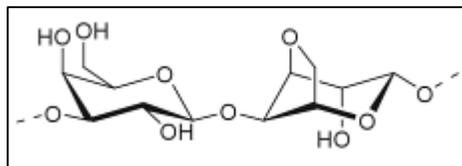


Figura 1. Estructura química de agarosa

Fuente: Bart y Pilz, 2011

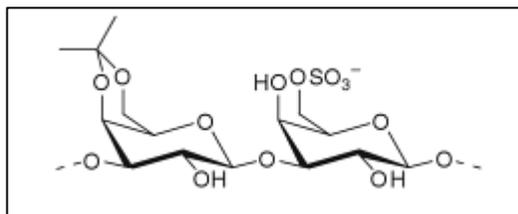


Figura 2. Estructura química de agarpectina

Fuente: Bart y Pilz, 2011

Extractos Naturales

Durante los últimos 50 años, la protección de los alimentos contra agentes degradantes y patógenos ha causado un gran interés y como consecuencia se han ideado varios métodos tanto físicos como químicos (Benkbla, 2005). El uso de antimicrobianos tales como ácidos orgánicos, aceites esenciales y extractos de plantas pueden ser una buena alternativa para asegurar la inocuidad alimentaria. Los productos vegetales también han sido utilizados desde tiempos antiguos para sazonar alimentos y bebidas, y con propósitos medicinales con un gran éxito para curar y prevenir enfermedades. Se estima que existen entre 250,000 a 500,000 especies de plantas en el planeta y sólo una décima parte ha sido estudiada hasta hoy. Los extractos de plantas han mostrado un espectro de aplicación bastante amplio, incluso, varios extractos poseen el estatus GRAS (generalmente reconocidos como seguros por su siglas en inglés) (Negi, 2012). Específicamente hablando, la familia Liliaceae, a la cual pertenece el ajo, es una especie de alimento común, es utilizada en gran parte del mundo. Sus sabores inusuales e intensos junto con sus posibles aplicaciones medicinales han sido de gran fascinación para fisiólogos y químicos (Haciseferoğulları y col., 2005).

Ajo (*Allium sativum*)

Historia. Durante milenios, el ajo ha sido utilizado para varios fines como el culinario, medicinal y espiritual. Ha podido ser cosechado alrededor del mundo, desde el clima mediterráneo hasta Siberia. En Egipto antiguo se utilizaba como moneda y en la edad media se utilizaba como amuleto para el mal de ojo, brujas y vampiros (Kemper, 2000). En Inglaterra, el ajo se popularizó durante la primera guerra mundial donde era utilizado como antiséptico en las heridas (Davidson, 1983).

El nombre "*Allium sativum*" se deriva de la palabra celta "*all*", que significa quemando o punzante y al latín "*stavium*" que significa cosechado o cultivado (Kemper, 2000).

Composición. De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los EUA (USDA), un ajo de tamaño promedio contiene 7 calorías, 31 g de proteínas, 0.01 g de carbohidratos, 75 mg de ácido ascórbico, 0.01 mg de tiamina, 4 mg de riboflavina, 0.02 mg de niacina, 1.4 mg de calcio, 10 mg de fósforo, 0.07 mg de hierro, 0.9 mg de sodio, 26 mg de potasio (Davidson, 1983).

La composición del ajo es compleja. La característica más importante y única es el alto contenido de compuestos organosulfurados, los cuales se clasifican en dos clases, γ -glutamilcisteína y sulfóxidos de cisteína. La γ -glutamilcisteína se hidroliza y oxida a aliina (+S-alil-L-cistein-sulfóxido) la cual se convierte a alicina (tio-2-propano-1-ácido sulfónico ester) mediante una alinasa, que a su vez se libera al cortar, aplastar o masticar el ajo (Farooqui, 2012).

En tiempos modernos, el ajo se ha popularizado como una planta medicinal en Europa y Estados Unidos. En China la población come alrededor de 20 g de ajo al día, en Alemania la mayoría de los adultos consumen ajo como suplemento para mejorar la salud (Watson y Preedy, 2009), ya que posee propiedades benéficas (Tabla 3).

Tabla 3. Propiedades atribuidas al ajo.

El ajo disminuye	El ajo aumenta
Conteo de bacterias, levaduras y hongos	
Niveles de colesterol	Eliminación de colesterol
Nivel de triglicéridos	Eliminación de triglicéridos
LDL y VLDL	HDL
Lípidos totales de hígado	Excreción de lípidos
Presión sanguínea	Dilatación de vasos sanguíneos
Niveles de azúcar en sangre	Niveles de insulina en sangre
Radicales libres	Niveles de glutatión peroxidasa
Riesgo de cáncer gástrico	Linfocitos anti leucemia

Fuente. Hullquist, 1996.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la elaboración de las películas, se utilizó agar obtenido por AGARMEX, S.A. (México) de *Gelidium robustum* El extracto acuoso de ajo fue proporcionado por el Laboratorio de Ecología Química de CIAD, A.C

Elaboración de las Películas de Agar

Se depositaron 150 mL de agua destilada en un matraz balón de fondo plano. A continuación se pesaron 1.5 g de agar y se colocaron en el matraz, el cual se depositó sobre una placa de agitación y calentamiento. A la boca del matraz se conectó un condensador (sistema de enfriamiento) y el contenido se agitó a revolución baja por 3 h hasta alcanzar la ebullición. Alcanzando este punto se dejó ebullición por 15 min, después se dejó enfriar por 30 min. La solución antes mencionada fue vertida en un contenedor plástico tipo charola de 5 x 5 cm y se colocó en una estufa de convección, con una variación de temperatura de $55 \pm 5^{\circ}\text{C}$. El secado duró alrededor de 24 h. Después la película fue extraída del contenedor plástico, fue etiquetada y almacenada en bolsas de polietileno a temperatura ambiente hasta que éstas fuesen utilizadas para su análisis.

Se realizaron 3 tipos de películas de agar con 0%, 15% y 30% (p/p) de glicerol. La metodología fue la misma, sin embargo, en la elaboración de películas con glicerol, el porcentaje añadido de este compuesto estuvo en función al peso seco del agar.

Impregnación de las Películas

Se manejaron tres concentraciones de extracto de ajo (0.5, 1.0 y 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La impregnación se realizó en la tapa de cajas Petri (de 5.4 cm de diámetro) donde fueron colocados 3 fragmentos de la película de 5 x 2 cm. A continuación con la ayuda de una micropipeta el extracto se depositó en la caja Petri procurando que toda la película permaneciera sumergida en el extracto. Después la parte inferior de la caja de Petri fue colocada inversamente, de forma que presionara a las películas para favorecer la impregnación debido a la gravedad de los vapores generados durante el reposo. Las películas se dejaron en reposo por 24 h a temperatura ambiente.

Formulaciones realizadas

Las formulaciones realizadas a lo largo del trabajo se muestran en la Tabla 4, la cual describe en forma resumida las concentraciones de glicerol y extracto acuoso de ajo en las películas, esto con la intención de facilitar el entendimiento de los resultados y su discusión

Tabla 4. Formulaciones realizadas, representando las cantidades de glicerol y extracto acuoso de ajo de cada formulación

Glicerol (%)/ concentración de extracto de ajo (µg/ml)	0	15	30
0	0 GLY [0]	15 GLY [0]	30 GLY [0]
0.5	0 GLY [0.5]	15 GLY [0.5]	30 GLY [0.5]
1.0	0 GLY [1]	15 GLY [1.0]	30 GLY [1.0]
1.5	0 GLY [1.5]	15 GLY [1.5]	30 GLY [1.5]

Análisis de Propiedades Ópticas

Transparencia

Las películas fueron analizadas de acuerdo con el procedimiento de Zhang y Han (2006) utilizando el aire como referencia. Tanto las películas puras como las impregnadas fueron cortadas de forma rectangular y colocadas directamente en una celda para análisis espectrofotométrico. Los espectros fueron obtenidos en un espectrofotómetro de UV visible Cary 50 Bio. El rango de la longitud de onda utilizada fue de 200 a 800 nm y la transparencia de la película fue calculada con la siguiente ecuación (Han y Floros, 1997).

$$Transparencia = \frac{A_{600}}{x} \quad (1)$$

Donde A_{600} representa la transmitancia a 600 nm y x es el grosor de la película en mm. El análisis se realizó por triplicado.

Color

El color fue analizado con el procedimiento de García-Baldenegro y col. (2013) donde ambos tipos de películas (puras e impregnadas) fueron analizadas con un colorímetro Minolta CR 300 Series calibrado con un estándar ($Y = 92.4$, $x = 0.3161$, $y = 0.3324$). La escala utilizada fue CIE Lab y fueron medidos la luminosidad (L^*) y los parámetros cromáticos a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul). Las mediciones se realizaron colocando la muestra sobre el estándar. Todas las muestras se analizaron por triplicado almacenando seis mediciones por cada muestra. La diferencia del color (ΔE) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (2)$$

Dónde $\Delta L = L^* - L_0$, $\Delta a^* = a^* - a_0$, $\Delta b^* = b^* - b_0$

Y L_0 , a_0 y b_0 representan los valores del parámetro del color del estándar mientras que L , a^* y b^* representan los parámetros del color de la muestra.

Análisis de Propiedades Mecánicas

Tensión

Tanto las películas de agar puras como impregnadas fueron analizadas usando un analizador de textura (texturómetro) TA-XT2 marca Stable Micro System (Inglaterra). Los ensayos fueron realizados de acuerdo al método estándar ASTM D882. Las medidas de las muestras fueron de 6 x 1 cm y la media del espesor de cada película analizada fue usada para calcular sus parámetros mecánicos correspondientes. Las películas fueron colocadas en las mordazas del texturómetro de forma tal que las mordazas se ajustaron a 1.5 cm de profundidad en los bordes superior e inferior, dejando un rango de 3 cm de película (García-Baldenegro y col. 2014).

Análisis de Propiedades Estructurales

Espectroscopía Infrarroja de Transformadas de Fourier (FTIR)

Se siguió el procedimiento de Freile-Pelegrián y col. (2007) donde el espectro de las películas secas (puras e impregnadas) fueron determinados en un instrumento Nicolet Nexus670-FTIR mediante la técnica reflectancia total atenuada con un dispositivo Avatar multi bounce HATR

con un cristal de ZnSe a 45°. Cada espectro fue analizado de 4000 a 650 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ y una velocidad de escaneo de 0.475 cm⁻¹/s sobre 100 escaneos.

Difracción de rayos X

Siguiendo la técnica de Freile-Pelegrín y col. (2007), los espectros de difracción de las películas fueron registrados en un difractómetro Siemens D-5000 cuya fuente es Cu K α a una longitud de onda de 1.5418 Å operado a 35 kV y 25 mA. Las películas fueron posicionadas en el portamuestras del goniómetro en posición cero para realizar el registro a 15 rpm. El soporte del portamuestra permite la eliminación de cualquier interferencia de fondo. Las mediciones fueron realizadas en un rango angular de 5-60° (2 θ), en un paso de tiempo de 8 s y una medida de paso de 0.02° (2 θ).

Análisis de Propiedades Térmicas

Análisis Termogravimétrico

Se siguió la técnica de Madera-Santana y col (2009). La estabilidad térmica fue evaluada usando un analizador termogravimétrico (TGA) del modelo Discovery de TA instruments. Las muestras fueron calentadas de 25 a 600°C, con una velocidad de calentamiento de 10°C/min, en atmósfera de nitrógeno con un flujo de 20mL/min.

Análisis de Propiedades de Transporte

Difusión

Para determinar la difusividad de los compuestos volátiles del extracto de ajo en las películas se utilizó el método de desorción gravimétrica se monitoreo de manera periódica por en un lapso de 96 (Muth y col. 2000). Las muestras estaban almacenadas en un desecador de vidrio a temperatura ambiente y una humedad relativa de 29%. La descripción del comportamiento Fickiano de fluidos volátiles salientes de un polímero se describe por la siguiente ecuación.

$$\frac{Mt}{M\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{i=0}^{\infty} \frac{1}{(2i+1)^2} \exp \frac{-D (2i+1)^2 \pi^2 t}{l^2} \quad (3)$$

Donde M_t = masa de la difusión liberada por la película en un tiempo t ; M_∞ = masa de la difusión liberada por la película en un tiempo infinito; l = grosor de la película; D = coeficiente de difusión. Por otro lado, empleando la relación de $\frac{(m_d - m_0)}{m_0}$ contra la raíz cuadrada del tiempo de desorción (t_d), se determina la difusión Fickiana a través de una película plástica o bioplástica. La ecuación (3) describe la desorción de una película biopolimérica, cuya simplificación para un tiempo corto puede ser expresada por la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{1}{4} \sqrt{\frac{D_d t_d}{\pi}} \quad (4)$$

Es decir:

$$D = \left(\frac{\text{Pendiente} \cdot l}{4} \right)^2 * \pi \quad (5)$$

Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua

La determinación se realizó siguiendo la norma ASTM-E96. Un porta muestras con agua destilada fue sellado con una muestra de la película firmemente colocada en la tapa, los porta muestras fueron colocados en un desecador conteniendo sílica seca. La velocidad de transmisión de vapor de agua fue calculada utilizando la ecuación:

$$WVTR = \frac{w}{t \cdot A} \quad (6)$$

Donde w es el peso en g, t es el tiempo en horas, y A es el área de permeación en cm^2 . Los ensayos fueron realizados por triplicado

Análisis Estadístico

Las variables ópticas estudiadas para cada película fueron ensayadas por normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y sometidas al examen Fisher para determinar su homogeneidad de varianzas. El efecto del extracto de ajo y del glicerol en las propiedades fisicoquímicas de las películas de agar fue determinado mediante análisis de ANOVA ($P < 0.05$). Cada uno de estos procedimientos estadísticos fue determinado por el software estadístico NCSS LLC (Utah, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades Ópticas

Transparencia

Los valores de color y transparencia de las películas de agar con y sin glicerol, adicionadas con diferentes concentraciones de extracto de ajo se muestran en la Tabla 5.

Los mayores valores de transparencia se observaron en las películas de agar sin glicerol, a las diferentes concentraciones de extracto. La adición del glicerol a las películas de agar con extracto, dio como resultado una clara tendencia a disminuir la transparencia. Sin embargo, la excepción de lo anterior fue la película con 15% de glicerol y 1.5 µg/ml de extracto (15 GLY [1.5]), lo que se puede deber a una densificación del material o una mayor interacción de los componentes en esta mezcla en particular.

La presencia de un plastificante, como el glicerol, en un hidrocólide (almidón, quitosano, agar, etc.) ocasiona la disminución de la transparencia, que se atribuye a la teoría del volumen libre la cual describe que la plastificación incrementa el volumen libre de la matriz (Santosa y Pauda, 1999).

De acuerdo a su origen los extractos naturales pueden cambiar significativamente la transparencia y/o opacidad de una matriz biopolimérica, Peng y col (2013) encontraron un incremento de 0.79 a 5.55% de opacidad al añadir 2% de extracto de té verde a una matriz de quitosano. Otros autores como Kanmani y Rhim (2014) reportan una disminución de la transmitancia de películas de agar de 87.77 a 81.35% al añadir 13.3 µg/ml de extracto de semillas de uva en esta matriz. Los resultados del presente trabajo son coincidentes con los reportados por los autores antes mencionados, aunque ninguno de ellos mencionó el efecto del glicerol sobre esta propiedad.

Color

Visualmente, las películas control de agar (0 GLY [0]) fueron transparentes con una ligera tonalidad amarilla mientras que las películas con glicerol presentaban una tonalidad amarilla menos intensa. Al impregnar las películas de agar con el extracto se observó una leve intensificación de la tonalidad amarilla.

Tabla 5. Valores de transparencia y color de las películas de agar a diferentes porcentajes de glicerol y concentraciones de extracto.

Extracto de ajo ($\mu\text{g/ml}$)	Transp (%)	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
0 Gly					
0	1.75 \pm 0.004	94.59 \pm 1.081 ^{ac}	-0.32 \pm 0.041 ^{ac}	6.77 \pm 0.259 ^{ac}	5.11 \pm 0.663 ^{ac}
0.5	4.20 \pm 0.096	88.68 \pm 0.216 ^{bc}	0.73 \pm 0.007 ^{bc}	1.23 \pm 0.232 ^{bc}	8.39 \pm 0.108 ^{bc}
1.0	6.37 \pm 0.001	89.02 \pm 0.208 ^{bc}	0.72 \pm 0.005 ^{bc}	0.87 \pm 0.207 ^{bc}	8.11 \pm 0.067 ^{bc}
1.5	5.82 \pm 0.023	89.16 \pm 0.020 ^{bc}	0.73 \pm 0.005 ^{bc}	0.65 \pm 0.007 ^{bc}	8.02 \pm 0.021 ^{bc}
15% Gly					
0	1.80 \pm 0.000	94.73 \pm 0.209 ^{ac}	-0.30 \pm 0.054 ^{ac}	5.37 \pm 0.396 ^{ac}	3.85 \pm 0.362 ^{ac}
0.5	2.35 \pm 0.000	89.15 \pm 0.040 ^{bc}	0.73 \pm 0.004 ^{bc}	0.63 \pm 0.021 ^{bc}	8.03 \pm 0.035 ^{bc}
1.0	2.90 \pm 0.007	89.15 \pm 0.029 ^{bc}	0.72 \pm 0.007 ^{bc}	0.69 \pm 0.031 ^{bc}	8.02 \pm 0.032 ^{bc}
1.5	6.75 \pm 0.014	89.18 \pm 0.005 ^{bd}	0.70 \pm 0.004 ^{bd}	0.748 \pm 0.009 ^{bd}	7.97 \pm 0.007
30% Gly					
0	1.93 \pm 0.009	94.44 \pm 0.430 ^{ac}	-0.13 \pm 0.273 ^{ac}	6.45 \pm 0.318 ^{ac}	4.92 \pm 0.155 ^{ac}
0.5	1.62 \pm 0.020	90.61 \pm 0.657 ^{bc}	0.85 \pm 0.127 ^{bc}	3.05 \pm 0.490 ^{bc}	6.46 \pm 0.133 ^{bc}
1.0	1.17 \pm 0.077	90.82 \pm 0.043 ^{bc}	0.97 \pm 0.042 ^{bc}	2.37 \pm 0.282 ^{bc}	6.22 \pm 0.042 ^{bc}
1.5	5.88 \pm 0.048	90.78 \pm 0.039 ^{bd}	1.04 \pm 0.010 ^{bd}	2.06 \pm 0.012 ^{bd}	6.27 \pm 0.040 ^{bd}

Los valores presentados son la media \pm la desviación estándar. Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Para establecer si las muestras presentan los mismos valores de los parámetros de color, luminosidad, diferencia de color y parámetros cromáticos a^* y b^* , se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA). Sin embargo, los valores analizados presentaron ausencia de una distribución normal, por lo tanto se procedió a realizar una prueba de Fisher con los resultados obtenidos de color y se encontró que éstos resultaron satisfactorios de acuerdo a la distribución F. Esta prueba se realizó analizando los cambios en función de los dos tratamientos, la variación en cuanto al porcentaje de glicerol y la variación en función a la concentración de extracto de ajo.

La variación los parámetros de luminosidad (L), en los cromáticos (a^* y b^*) y en el cambio de color ΔE en función de los distintos porcentajes de glicerol, sólo presentaron diferencia significativa ($P < 0.05$) en las muestras sin extracto acuoso de ajo en comparación

con las películas impregnadas ([0.5], [1.0], [1.5]). Así mismo, en función de la concentración de extracto y mientras éste estuviera ausente, no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, al estar presente, hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) en el caso de contener un 30% de glicerol. Esto se debe probablemente a la saturación de la matriz polimérica, lo cual coincide con los resultados observados por Rhim y col. (2011) quienes reportaron una disminución de L^* y un incremento de ΔE y b^* en las películas basadas en agar con nanocompuestos de arcilla.

Propiedades Mecánicas

Tensión

La medición de las propiedades mecánicas de tensión (esfuerzo máximo, elongación a la ruptura y módulo elástico) realizadas a las películas de agar se presentan en las Figuras 3, 4 y 5. En general los resultados de las propiedades mecánicas de películas a base de agar reportados en la literatura son variables, esto se atribuye a las diferentes concentraciones tanto de polímero como de plastificante usados en la formulación.

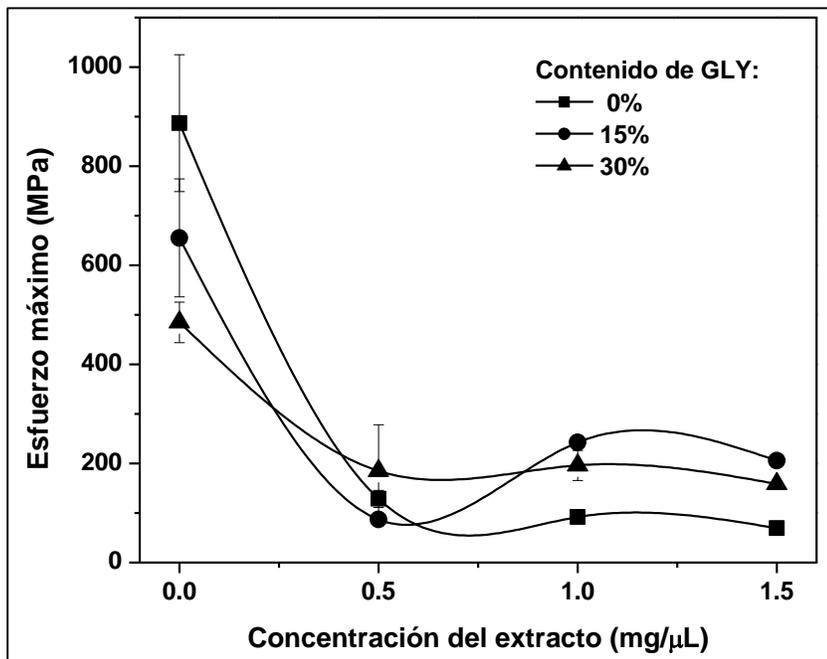


Figura 3. Comportamiento del esfuerzo máximo de películas de agar a diferentes concentraciones de extracto y de glicerol.

Giménez y col (2012) analizaron las propiedades de esfuerzo máximo y elongación a la ruptura de películas de agar y agar con gelatina de pescado impregnadas con extracto de té verde y observaron la variabilidad de estos parámetros en función de los componentes.

La película de control (0 GLY [0]) presentó valores máximos de esfuerzo. Sin embargo, al incorporar el extracto de ajo a una concentración de 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ el esfuerzo disminuyó significativamente, lo cual sugiere que el extracto está reduciendo la transferencia del esfuerzo a las cadenas, similar a lo que ocurre en los materiales formulados con un plastificante. Esta misma tendencia han seguido las películas con diferente contenido de glicerol. Un fenómeno similar ha sido reportado por Lim y col. (2010), quienes describieron que el esfuerzo máximo de películas de agar adicionadas con nano-arcillas disminuye al llevarse a cabo la impregnación de las películas. Al analizar el comportamiento del esfuerzo máximo en la película, se observa que al llegar a la concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la resistencia de las películas con glicerol presenta una estabilización en este parámetro. En el caso de las películas con 0 GLY éste parámetro aumenta significativamente ($P < 0.05$). Lo anterior podría atribuirse a un efecto antiplástico, en las películas con y sin glicerol, término reportado por Loudrin y col. (1997) para reportar las propiedades fisicoquímicas de almidón y plastificante. En los resultados del presente trabajo sugieren que este umbral se encuentra en la concentración de 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto acuoso de ajo.

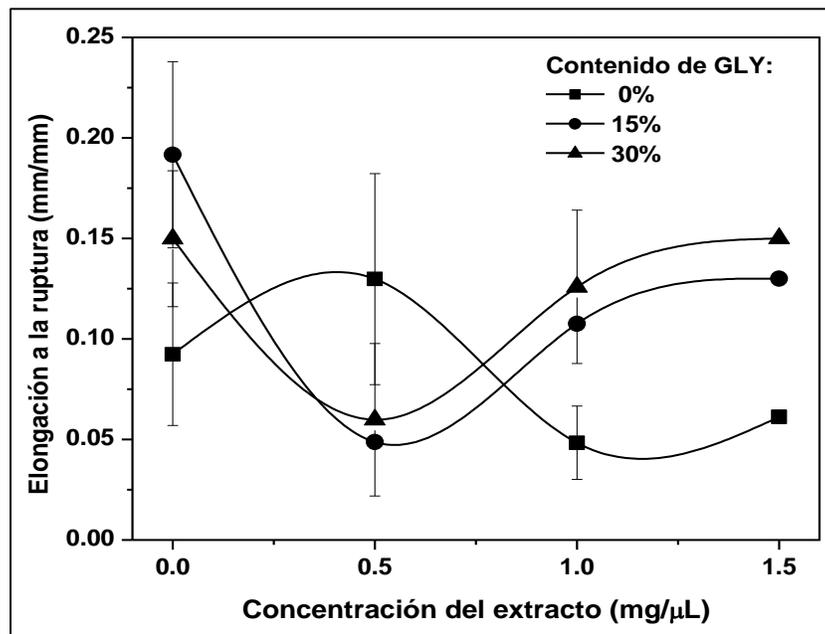


Figura 4. Comportamiento de la elongación a la ruptura de películas de agar a diferentes concentraciones de extracto y

Un efecto similar fue reportado por Caamal y col (2011), donde se observó una disminución de las propiedades mecánicas al incrementar el contenido de los plastificantes (glicerol y sorbitol). Las películas de agar sin glicerol no se recuperan de éste efecto, mientras que las películas con glicerol sí se recuperan.

Las películas con 0 GLY mostraron un aumento de la elongación a la ruptura, la cual disminuyó al incrementar la concentración del extracto ($> [1.0 \mu\text{g/mL}]$). Un comportamiento contrario se observó en las películas con 15 y 30% GLY, cuya elongación disminuyó a la concentración de extracto de ($[0.5 \mu\text{g/mL}]$); no obstante al aumentar esta concentración exhibieron un incremento significativo en este parámetro ($P < 0.05$). El comportamiento anterior puede atribuirse a efecto combinado tanto del GLY como del extracto de ajo, lo que permite mejorar la flexibilidad de las películas, en comparación con las películas con 0 GLY.

En la Figura 5 se presenta el comportamiento del módulo elástico a tensión de las películas de agar. En esta propiedad se observó que al adicionar el extracto existe una disminución de la propiedad de las películas con y sin glicerol. Se notó también que al igual que en los valores de elongación a la ruptura, a una concentración de $0.5 \mu\text{g/mL}$ se observó el efecto antiplástico. A la concentración de extracto de $1.0 \mu\text{g/mL}$, las películas de agar sin glicerol presentan mayores valores de modulo en comparación con las películas de agar con glicerol, es

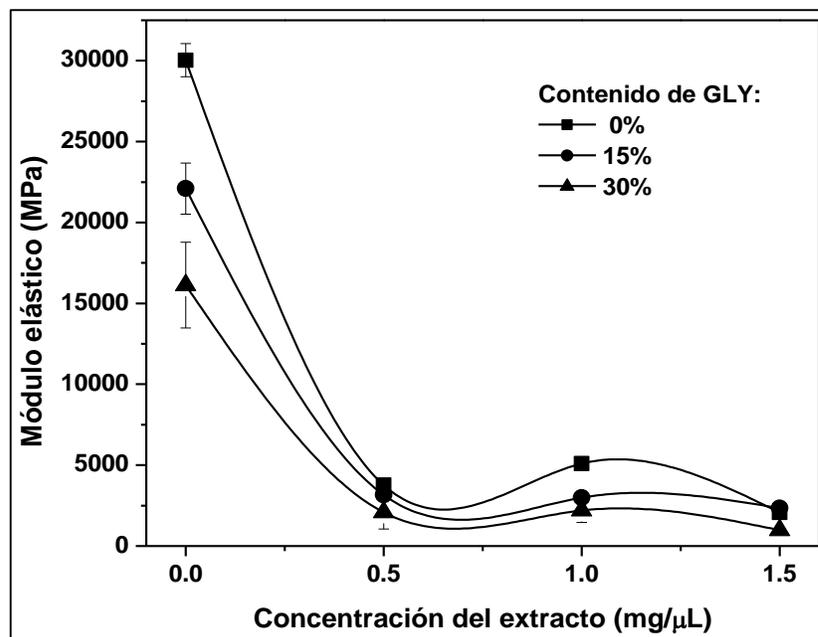


Figura 5. Comportamiento del módulo elástico en películas de agar en función de la concentración de extracto y de glicerol.

decir estas películas son más rígidas. Sin embargo a la concentración de 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ no se observa gran diferencia significativa en las películas en este parámetro.

El hecho de que un extracto se comporte como plastificante (incremento de la elongación) y que presente un efecto antiplástico a concentraciones de extracto $\geq 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ se ha podido comprobar con los valores de elongación a la ruptura (Figura 4) y del módulo elástico (Figura 5), los cuales indican aspectos relacionados con la deformación y el índice de la rigidez del material respectivamente. Aunque las películas presentaron una susceptibilidad a la plastificación y a la antiplastificación, es importante señalar que la resistencia y la elongación no disminuyeron de manera adversa, al punto que hagan un material inoperante, sino por lo contrario, se observó sinergismo de los componentes, en algunas formulaciones como pudo observarse en los resultados

Propiedades Estructurales

Espectroscopía infrarroja con Transformadas de Fourier (FTIR)

Las Figuras 6 y 7 muestran el espectro de FTIR de las películas de agar, con y sin glicerol,7 al igual que con y sin extracto de ajo, en las regiones de 2000 a 800 cm^{-1} y 3700 a 2500 cm^{-1} respectivamente. La banda alrededor de los 1600 cm^{-1} corresponde al estiramiento de los grupos carbonilo y carboxilos, mientras que la banda ubicada a 1400 cm^{-1} está asignada a la señal particular de los carboxilatos (R-COO^-) (Rastogi y Arunachalam, 2011). Estas bandas características presentaron cambios notorios en su intensidad al adicionar el glicerol. El hecho de que las películas de agar plastificadas con el glicerol (B y D) presentaron un aumento de la señal puede atribuirse a la formación de puentes de hidrógeno; esto tiene sentido, pues el glicerol puede interactuar con las cadenas moleculares de los polisacáridos y cambiar los inter e intra puentes de hidrógeno y plastificar el polímero, dando como resultado una fase continua de película plastificada (Mali y col., 2005). Sin embargo, la intensidad de estas bandas se atenúan por su ampliación (ensanchamiento) al incorporar el extracto de ajo (C Y E) a la película de agar a los mismos contenidos de glicerol. Esto sugiere de que la interacción de los puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) y carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de la película de agar y el glicerol entran en una etapa competitiva de interacción con los grupos hidrógeno del extracto.

Aspectos similares han sido reportados recientemente por Kanmani y Rhim (2014) al estudiar el efecto de extracto de semilla de uva en películas de agar donde los autores atribuyen la atenuación de estas bandas a una pobre formación de interacción química entre el biopolímero y el extracto.

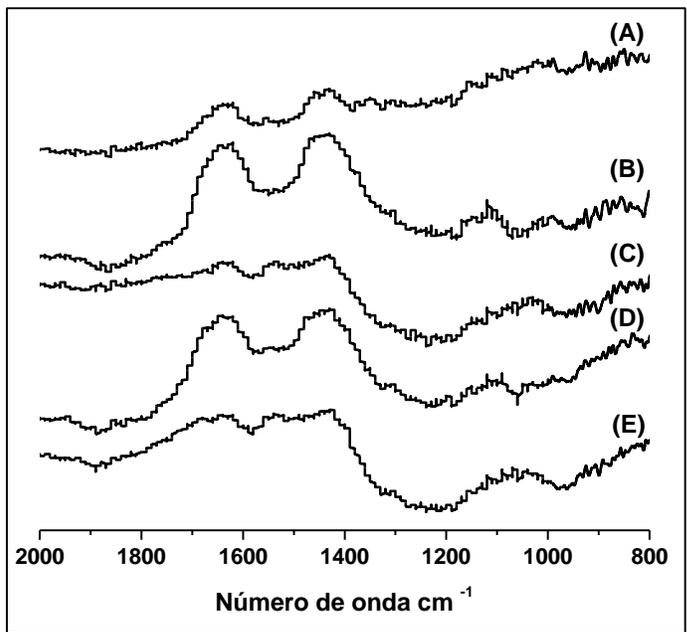


Figura 6. Espectros de FTIR entre 2000 y 800 cm^{-1} . (A) 0 GLY [0], (B) 15% GLY [0], (C) 15% GLY [1.5], (D) 30% GLY [0], (E) 30% GLY [1.5]

Las bandas anchas observadas alrededor de 3400 cm^{-1} son atribuidas a las complejas vibraciones asociadas con los grupos hidroxilos libres (-OH), tanto inter como intra moleculares (Wu y col., 2009). Al igual que estos autores, se observó que la señal de esta banda disminuyó por la presencia de glicerol. Lo anterior, coincide con lo observado en los espectros, ya que existe el mismo comportamiento donde se tiene la presencia de glicerol al igual que extracto (C y E). La disminución de la intensidad de esta banda de absorbancia indica que los grupos funcionales de la película de agar presentan interacciones de tipo puente de hidrógeno entre los grupos OH del glicerol, al igual con el hidrógeno del extracto del ajo, provocando la disminución de la absorbancia.

Está reportado que el carácter hidrofílico del glicerol, así como los enlaces de hidrógeno que forman los grupos hidroxilo tanto de los galactanos y del glicerol, ocasionan una atenuación

en la región $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ (Jamróz y col., 2007). La señal de aproximadamente 2930 cm^{-1} es característica del estiramiento y vibración asimétrica de los grupos alifáticos de C-H (CH_2) (Tian, 2011; Cerqueira y col., 2012). La banda de absorción de 2890 cm^{-1} aproximadamente está asociada con grupos metoxilo (R-OH_2) (Armisen y Galatas, 1987), así como el estiramiento y vibración causada por enlaces C-H (Cerqueira y col., 2012). El incremento del contenido de glicerol aumenta el número de -OH y por consecuencia ocasiona una amplitud del área de estas bandas y ocasionando la reducción del rea correspondiente a la señal de C-H.

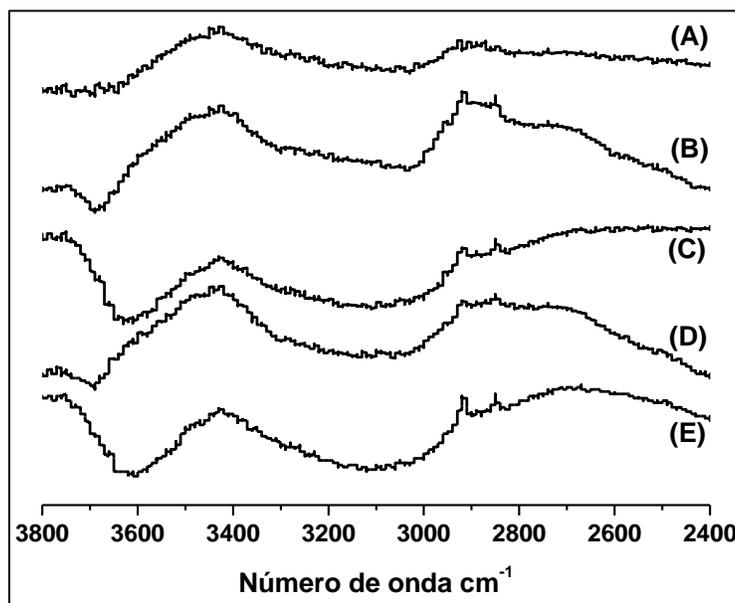


Figura 7. Espectros de FTIR entre de películas de agar 2400 y 3800 cm^{-1} .

(A) 0 GLY [0], (B) 15% GLY [0], (C) 15% GLY [1.5],

Difracción de rayos X

Los resultados de los cambios de la estructura semi-cristalina de las películas de agar ante la presencia del plastificante y a las diferentes concentraciones el extracto de ajo, obtenidos mediante difracción de rayos X (DRX) se muestran en la Figura 8. Los espectros de DRX de la película de agar puro presentaron una señal amplia, difusa y particular alrededor del valor 20° de 2θ , así como un pequeño hombro a $13.9^\circ 2\theta$ que se atribuye al comportamiento de las cadenas de galactanos de la matriz polimérica del agar, lo cual le confiere una estructura cristalina (Friele-Pelegri y col., 2007; Rhim y col, 2013). Sin embargo, la adición tanto del

plastificante como del extracto de ajo, ocasionan que la intensificación de esta señal se vea sensiblemente modificada.

En cuanto a la adición del plastificante sin extracto, en las películas de agar con 0 GLY [0], 15 GLY [0] y 30 GLY [0], se observó que la señal más intensa del espectro fue la correspondiente a la película de 15 GLY [0], seguida por 30 GLY [0] y 0 GLY [0]. Esto significa que la película con 15% de glicerol tiene mayor cristalinidad, es decir, el arreglo de las cadenas han permitido la formación de las fases cristalinas, en particular para este contenido de plastificante. No obstante, al aumentar el contenido de plastificante, se observó una disminución de la cristalinidad lo cual se puede atribuir al volumen libre creado por el glicerol y a la mayor movilidad de las cadenas de galactanos, ocasionando que la fase amorfa se incremente.

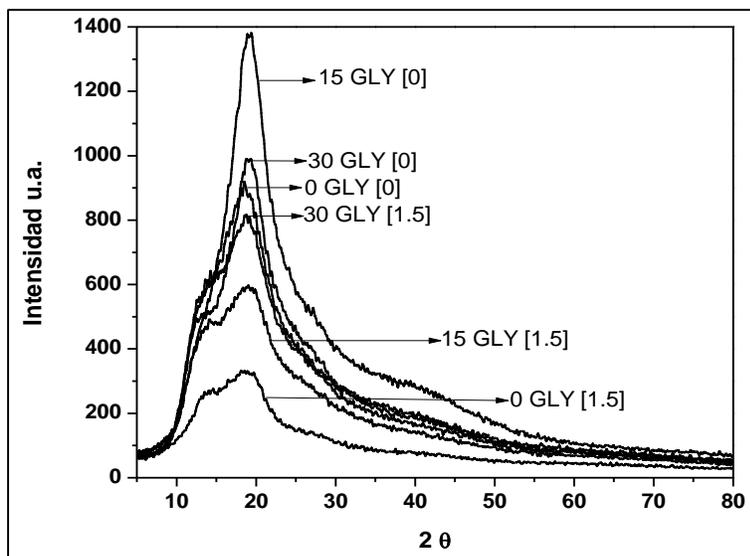


Figura 8. Espectro de difracción de rayos x de las películas de agar a diferentes concentraciones de glicerol y de extracto: 0 GLY [0], 0 GLY [1.5], 15 GLY [0], 15 GLY [1.5], 30 GLY [0], 30 GLY [1.5].

En relación con el extracto, se observó que independientemente de la presencia de glicerol en la película, la intensidad disminuyó, aunque esta disminución fue proporcional al porcentaje de glicerol, siendo la película menos cristalina la elaborada con formulación de 0 GLY [1.5]. Ésta disminución de la señal se puede deber a que la incorporación del extracto conduce a la formación de interacciones con las cadenas de galactanos del agar y del glicerol, provocando un desorden en la estructura de la cadena, disminuyendo su arreglo y por ende, su cristalinidad. Esta atenuación de la señal del espectro ha sido reportada recientemente por Kanmani y Rhim (2014) al incorporar extracto de semilla de uva en películas de agar. En el

presente trabajo además se observó la formación de un hombro cristalino a 18° de 2θ , el cual aumentó con el porcentaje de glicerol. Esto sin duda es un efecto combinado de 30 GLY [1.5] similar al control 0 GLY [0], lo cual valida que no hay un cambio en la estructura cristalina.

Propiedades Térmicas

Análisis Termogravimétrico (TGA)

La estabilidad térmica de las películas de agar con y sin plastificante, al igual que el extracto de ajo fueron estudiados mediante análisis termogravimétrico, y los termogramas resultantes se muestran en las Figura 9 y 10.

El termograma mostró el comportamiento de la pérdida de masa del material en función de la temperatura. La disminución de la masa en el material se relaciona con la descomposición térmica tanto de las películas, como de los componentes presentes en ésta, es decir, a plastificantes como el extracto de ajo.

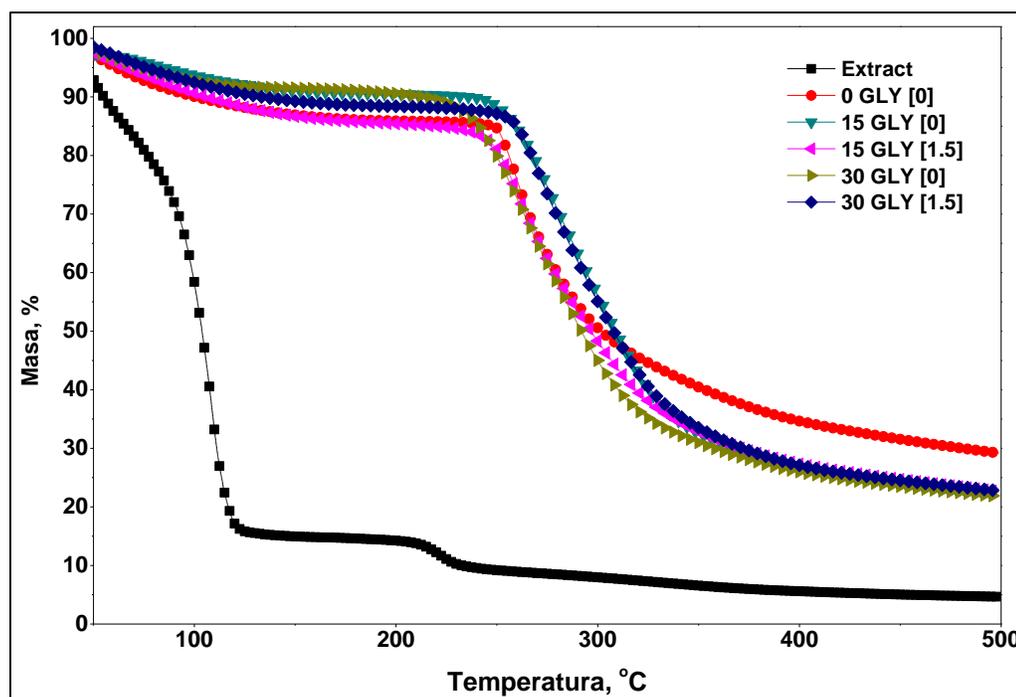
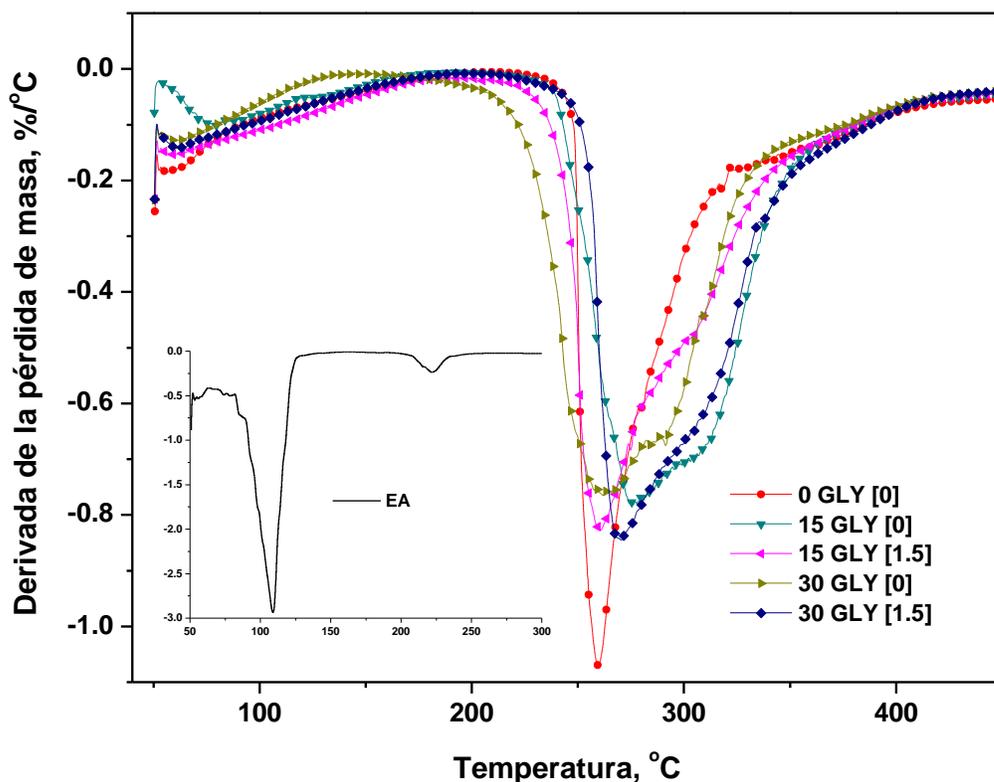


Figura 9. Curvas de análisis termogravimétrico de películas de agar. Glicerol (GLY) y extracto acuoso de ajo [EA]: 0 GLY [0], 15 GLY [0], 15 GLY [1.5], 30 GLY [0], 30 GLY [1.5].

Como se muestra en los termogramas la descomposición ocurrió en un rango de temperaturas, y no tuvo lugar a una temperatura específica como ocurre con los compuestos puros. Por lo anterior, el uso de herramientas matemáticas como la primera derivada, permiten establecer el valor máximo de la temperatura en la que ocurre la descomposición de un material (Wunderlich, 2005).

En la Figura. 10 se presenta la primera derivada de los termogramas presentados en la Figura 9. El extracto de ajo presentó una temperatura máxima de descomposición a 109°C (ver inserto de la Figura 10), mientras que las películas de agar la presentaron a 260°C y se acompañó de un pequeño hombro de descomposición a mayores temperaturas. Esta inflexión se atribuye a la descomposición del anillo de galactosa del agar (Madera-Santana y col., 2009).



Derivadas de análisis termogravimétrico de películas de agar. Glicerol (GLY) y extracto acuoso de ajo [EA]: 0 GLY [0], 15 GLY [0], 15 GLY [1.5], 30 GLY [0], 30 GLY [1.5].

En el mismo rango de temperatura tuvo lugar la descomposición del glicerol (volatilización), por lo que esta inflexión se observa con claridad en estas muestras. En el termograma de la película de agar sin impregnar muestra que la primera degradación térmica ocurrió alrededor de los 109°C y se pueden atribuir a la evaporación del agua de la película

(Kanmani y Rhim, 2014), mientras que la segunda degradación térmica se atribuye a la descomposición del agar (Rhim y col., 2006). Por otro lado, con respecto a la película de agar impregnada, se observó que las películas presentaron dos fases de degradación térmica comparando con los otros dos termogramas la primera inflexión se puede deber a la fase de degradación térmica correspondiente al extracto de ajo aunado a una liberación de la humedad presente en la película la cual ocurre antes de los 120 C, por su parte la segunda inflexión se puede atribuir a la degradación del agar.

Análisis de Propiedades de Transporte

Difusión

En la Figura 11 se pueden observar los coeficientes de difusión de diferentes concentraciones de extracto de ajo de las películas de agar con y sin glicerol.

El coeficiente de difusión es una medida de la rapidez con que las moléculas penetrantes avanzan a través de una película (Giacin y Hernandez, 1998). El rango del coeficiente de difusión calculado ronda entre 10^{-10} y 10^{-11} , lo cual de acuerdo con Cayot y col. (2008), corresponde a una difusividad registrada para los polisacáridos. Los resultados de este trabajo son coincidentes en el rango tratándose de agar como material base de las películas.

En la Figura 11 se pueden observar dos comportamientos correlacionados en este parámetro, el primero es que al incrementar el contenido de glicerol el coeficiente de difusión disminuye. El segundo comportamiento es que al contener la película glicerol, el incremento de la concentración del extracto provoca una disminución en el coeficiente de difusión.

El efecto de la concentración del difusante se asocia con su comportamiento en un polímero (matriz de transporte/soporte) específico. La velocidad de transferencia del difusante no depende sólo del número de partículas móviles efectivas (concentración del difusante), sino también en la velocidad de generación de vacantes (cavidades), las cuales a su vez dependen en la movilidad de los segmentos del polímero (Rogers, 1968).

Al menos dos procesos pueden generar espacios libres en la cadena polimérica que promueven el aumento de la velocidad de cambio de la conformación de los segmentos; una de ellos es la ruptura de los puentes de hidrógeno mediante las moléculas del difusante, y la otra es el efecto de la adición del plastificante, el cual aumenta el volumen libre de las cadenas poliméricas en el cual se incorporan (Dorfman y col., 2001). Sin embargo, la Figura 11 muestra

un comportamiento contrario, cuando hay un aumento del porcentaje de glicerol, el coeficiente de difusión disminuyó

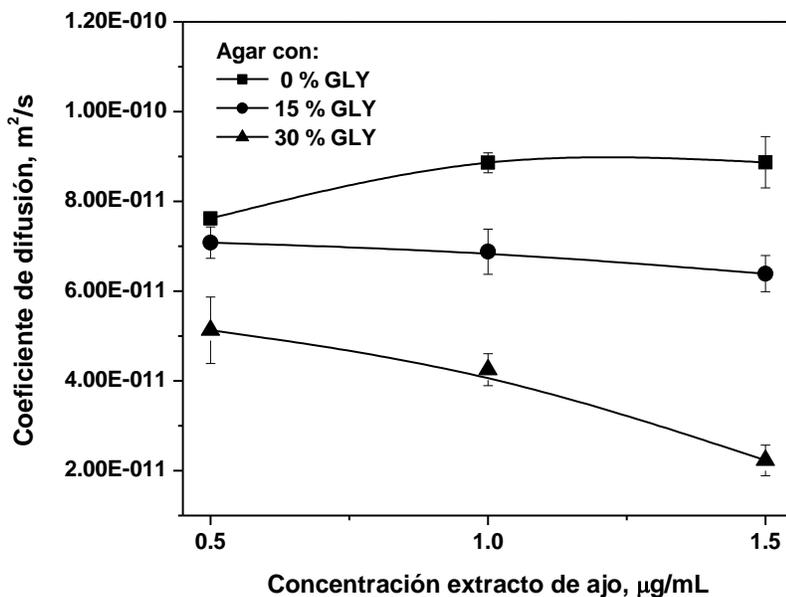


Figura 11. Coeficiente de difusión en función de diferentes concentraciones de extracto y porcentajes de glicerol

Esto nos lleva a argumentar, si bien la adición de plastificante da pie a la formación de cavidades o espacio libre, la adición del extracto acuoso de ajo, el cual es hidrofílico, podría estar formando diferentes interacciones fisicoquímicas (electrostáticas, puentes de hidrógeno, etc.) con los grupos -OH disponibles del glicerol en estos espacios libres, promoviendo que el extracto interactúe aún más con el plastificante y por consiguiente, se observó una disminución del coeficiente de difusión.

La interacción de extractos acuosos y glicerol en una matriz biopolimérica, no se encuentra ampliamente reportada en la literatura. Karbowski y col. (2006) reportaron la difusión de pequeñas moléculas de fluoresceína en películas comestibles de iota-carragenato conteniendo glicerol. Los autores observaron que la fluoresceína se inmoviliza (no se libera) de la película plastificada de carragenato con una actividad de agua (a_w) del 0.98, pero a bajos valores de a_w la difusión es mayor. Por lo anterior, el argumento que hemos presentado puede explicar los resultados mostrados en la Figura 11.

Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua

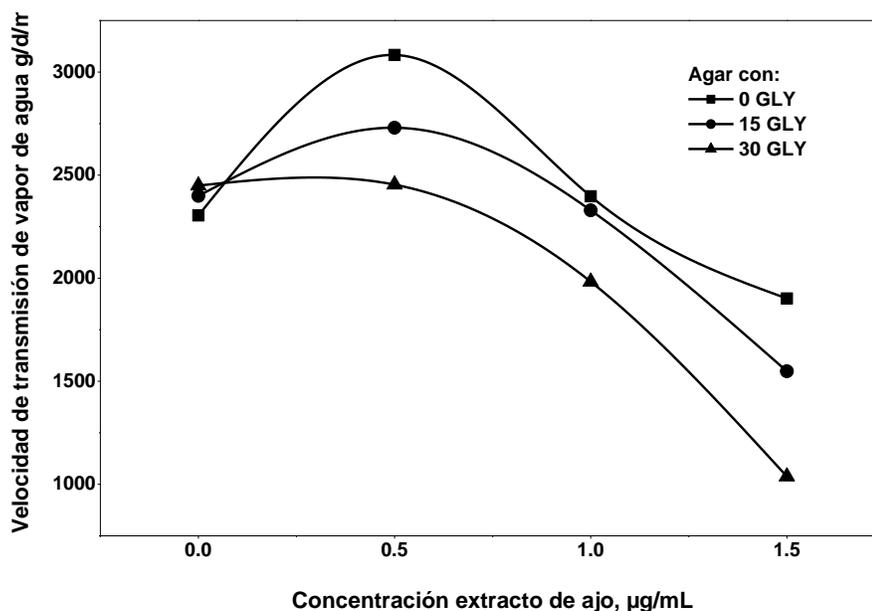


Figura 12 Comportamiento de la velocidad de transmisión de vapor de agua en función de la concentración de extracto y

En la Figura 12 se presentan los resultados de la velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) de las películas, cuyos valores fueron calculados con la Ecuación (6).

El comportamiento de las curvas de WVTR nos indica que al aumentar la cantidad de glicerol, los valores de WVTR disminuyeron. Esto concuerda con lo reportado por Parra y col (2004), quienes midieron esta propiedad en películas de almidón de Cassava plastificada con glicerol. Comparando estos resultados con los obtenidos en la prueba de difusión, se puede observar que los resultados de WVTR mostraron la misma tendencia.

Se observó una disminución de los valores de WVTR al incrementar el contenido del plastificante y la concentración de extracto. Esto se atribuye a que los grupos funcionales del extracto interactúan con los de la matriz (agar) y el glicerol (formación de puentes de hidrógeno), lo que limita la disponibilidad de grupos hidrógeno para formar enlaces hidrofílicos con el agua y a partir de este mecanismo permitir el transporte del agua. Los resultados coinciden con lo observado por Spencer y col., (1998) en complejos de polifenoles en matriz de proteínas, así como por Siripatrawan y Harte (2010) en películas de quitosano con extracto de té verde. La difusión y la WVTR son parámetros de las propiedades de transporte de los materiales, si bien su evaluación es diferente, conllevan el mismo principio que es el transporte de masa a través de la matriz polimérica (Cayot, 2008). Los resultados aparentemente pueden

contradecir lo reportado en la literatura, en donde a mayor porcentaje de glicerol, los valores de WVTR son mayores (Gennadios, 2002). No obstante es preciso recordar que el extracto está impregnado sobre la película de agar, por lo que puede actuar como una barrera al paso de las moléculas de agua durante la prueba de WVTR.

Se observó que a medida que se aumentó el contenido de glicerol y extracto de ajo, la película es menos permeable al vapor de agua por lo que incrementa la propiedad barrera, siendo la formulación de 30 GLY la que mostró el valor de WVTR más bajo en comparación con las otras formulaciones.

CONCLUSIONES

Se desarrollaron películas biodegradables de agar mediante el método de solución-vaciado, adicionando glicerol como plastificante e impregnadas con extracto acuoso de ajo a diferentes concentraciones (0, 0.5, 1.0, 1.5 $\mu\text{g/mL}$).

En cuanto las propiedades ópticas, las películas con glicerol presentaron mejores propiedades ópticas que las películas control. La variación de los parámetros de color varió significativamente solamente en las películas sin extracto de ajo.

En el análisis termogravimétrico se encontraron dos inflexiones, la primera debido a la vaporización del agua y la degradación del extracto alrededor de los 100°C . Todas las películas presentaron una relativa estabilidad térmica hasta 250°C donde se presentó la degradación del agar. Estos resultados se corroboraron con el cálculo de la primera derivada de los termogramas.

En las propiedades mecánicas, aquellas películas adicionadas con glicerol fueron más flexibles debido a la acción del plastificante; sin embargo, la impregnación con el extracto de ajo afecta negativamente la flexibilidad, debido a la pérdida del espacio libre proporcionado por el plastificante.

Estructuralmente, se denota la presencia tanto del glicerol como del extracto en la espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier, ya que se observó un aumento en la señal de los espectros en las bandas de 1400 y 3400cm^{-1} de los grupos OH al haber presencia de glicerol. Asimismo se observó una disminución en la misma banda al haber presencia de extracto de ajo. En la difracción de rayos X, se observó que la cristalinidad aumentó en la presencia de glicerol y disminuyó en la presencia de extracto.

La difusión y la velocidad de transmisión de agua fueron medidas con éxito, presentando comportamientos semejantes en las dos técnicas, ambas muestran la relación de que a mayor porcentaje de glicerol, hay una menor difusión del extracto y una menor velocidad de transmisión de vapor de agua en la película.

Finalmente a base de los resultados de las películas biodegradables a base de agar impregnadas con extracto de ajo, éstas tienen el potencial de servir como soporte para la liberación de compuestos volátiles para el control de plagas en la agricultura.

RECOMENDACIONES

Realizar ensayos con otros plastificantes, revisando la literatura, una alternativa viable sería el polietilenglicol (PEG) dado a que al poseer una estructura de mayor peso molecular que el glicerol, lo cual podría propiciar un espacio libre mayor entre las cadenas del polímero.

Modificar el método de elaboración de las películas al igual que su impregnación para su realización a una mayor escala. Una opción sería un proceso industrial de forma continua, donde la solución pasaría por un túnel de secado para obtener al final la película.

Es muy importante que las películas hayan sido elaboradas recientemente antes de su caracterización, pues de lo contrario el análisis de sus propiedades físicoquímicas y mecánicas se verá afectadas por el envejecimiento natural de la película. Una alternativa de solución es el uso de otras matrices biopoliméricas que presenten mayor vida útil.

BIBLIOGRAFÍA

- Alemán ME, Morales LH, De Luna EJ, Salazar RY, Arevalo NK. 2009. Estudio de las Propiedades Físicas de las Películas Biodegradables y su Posible Aplicación como Sistema de Mulching (acolchonado). Universidad Autónoma del Estado de México. 1-2 p.
- Araki C. 1966. Some Recent Studies on the Polysaccharides of Agarophytes. Proc. Int. Seaweed Symp. 5-3,19 p.
- Armelín EA. 2002. Síntesis y Caracterización de Nuevas Poliestamidas: Estudio de sus Propiedades. Ed. Universidad Politécnica de Cataluña. España. 9 p.
- Armisen R, Galatas F. 1987. Production, Properties and Uses of Agar in: McHugh DJ. Ed. FAO Fish Tech Papers. 17p.
- Bart HJ, Pilz S. 2011. Industrial Scale Natural Product Extraction. Ed John Wiley and Son's. 227- 228 p.
- Benkbla N. 2005. Antimicrobial Activity of Essential Oil Extracts of Various Onions (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium Sativum*). Lebensm-Wiss U Technol 37 (2) 263-268 p.
- Belitz HD, Grusxh W, Schieberle P. 2009. Food Chemistry. 4 ed. Ed Springer. 229 p.
- Bourtoom T. 2008. Plasticizer Effect on the Properties of Biodegradable Blend Film from Rice Starch-Chitosan. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 30 (3): 150 p.
- Caamal IO, Pereira FE, Madera TJ. 2011. Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a Base de Mezclas Binarias de Almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 12(1) 101-109 p.
- Cayot N, Dury-Brun C, Karbowski T, Savary G, Volley A. 2008. Measurement of Transport Phenomena of Volatile Compounds, a Review. Food Research International. 41(4):351-352
- Cerqueira MA, Souza BWS, Teixeira JA, Vicente AA. 2012. Effect of Glycerol and Corn Oil on Physicochemical Properties of Polysaccharide Films- A Comparative Study. Food Hydrocolloids. 27(1): 175-184
- Dagoon J. 2005. Agriculture and Fishery Technology. Ed Rex Boostorinc. 15 p.
- Davidson A. 1983. Food in motion: the migration of Food Stuffs and Cookery Techniques Proceedings. Oxford Symposium. Ed. Oxford University Press. 147 p.
- Dorfman AM, Zolotavitskii YM, Lyakhovich AM, Chalyth AE, Reshetnikov SM. 2001. The Desorption of a Volatile Corrosion Inhibitor from Polyethylene. Protection of Metals. 37(1): 9-21

- [FAO] Food and Agriculture Organization. 1987. Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds. Italia.
- Farooqui AA. 2012. Phytochemicals Signal Transduction and Neurological Disorders. Ed Springer. 271 p.
- Freile-Pelegrín Y, Madera-Santana T, Robledo D, Velva L, Quintana P, Azamar JA. 2007. Degradation of Agar Films in the Humid Tropical Climate: Thermal, Mechanical, Morphological and Structural Changes. *Polymer Degradation and Stability*. 92 (2): 244-252
- García-Baldenegro V, Vargas-Arispuro I, Azamar J, Madera-Santana TJ. 2014. Biodegradable Agar Films with Natural Semiochemical Extracts: Effect of Extract Concentration on Physiochemical and release properties. *Sometido y aceptado para publicación (13-362) Journal of Biobased Materials and Bioenergy*.
- Gennadios A. 2002. Protein Based Films and Coatings. Ed .CRC Press. 557 p.
- Giacin JR, Hernandez RJ. 1998. Factors Affecting Permeation, Sorption and Migration process in Package-Product Systems. Ed. CRC Press LLC. 269 p.
- Giménez B, López de Lacey A, Pérez-Santín E, López-Caballero ME, Montero P. 2013. Release of Active Compounds from Agar and Agar-Gelatin Films with Green Tea Extract. *Food Hydrocolloids*. 30(1): 264-271
- Haciseferoğulları H, Ozcan M, Demir F, Çalışır S. 2005. Some Nutritional and Technological Properties of Garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering* 68(4): 463-469
- Han JH, Floros JD. 1997. Casting Antimicrobial Packaging Films and Measuring their Physical Properties and Antimicrobial Activity. *Journal of Plastic Film and Sheet*. 13(4) 287-298
- Hullquist CG. 1996. Garlic: Nature's Perfect Prescription. Ed Teach Services Inc. 4 p.
- Jamróz MH, Dobrowolski J, Kolos R, Rode JE, Sadlej J. Theoretical Prediction and the First IR-Matrix Observation Several L-Cysteine Molecule Conformers. *ChemPhysChem* 8(7): 1085-1094
- Janssen L, Moscicki L. 2009. Thermoplastic Starch. A Green Material for Various Industries. Ed Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. 2 p.
- Kanmani P, Rhim JW. 2014. Antimicrobial and Physical-Mechanical Properties of Agar-Based Films Incorporated with Grapefruit Seed Extract. *Carbohydrate Polymers*. 102(2) 708-716.
- Kaplan DL. 1998. Biopolymers from Renewable Resources. Ed. Springer. 39 p.
- Karbowiak T, Hervet H, Léger L, Champion D, Debeaufort F, Volley A. 2006. Effect of

- Plasticizers (Water and Glycerol) on the Diffusion of a Small Molecule in Iota-Carrageenan Biopolymer Films for Edible Coating Application. *Biomacromolecules*. 7(6): 2011-2019
- Kemper KJ. 2000. Garlic (*Allium Sativum*). Revisado Marzo. Acceso de URL. www.mep.edu/herbal/default.htm.
- Lembi CA, Waaland JR. 1988. *Algae and Human Affairs*. Ed Cambridge University Press. 229 p.
- Lim GO, Jang SA, Song KB. 2010. Physical and Antimicrobial Properties of *Gelidium correum* /Nano-Clay Composite Film Containing Grapefruit Seed Extract and Thymel. *Journal of Food Engineering*. 98(4): 415-420
- Long Y. 2009. *Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources*. Ed. John Wiley & Sons. 3 p.
- Lourdin D, Bizot H, Colonna P. 1997. Antiplasticization in starch-glycerol films. *Applied Polymer Science*.63(8): 1047-1053
- Lu X, Rasco BA, Jabal JMF, Aston DE, Lin M, K ME. 2011. Investigating Antibacterial Effects of Garlic (*Allium sativum*) Concentrate and Garlic-Derived Organosulfur Compounds on *Campylobacter jejuni* by Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Raman Spectroscopy, and Electron Microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*. 77(15): 5257-5269
- Madera-Santana T, MisraM, Drzra L, Robledo D, Freile-Pelegrin Y. 2009. Preparation and Characterization of Biodegradable Agar/Poly(butylene Adiptate-co.Terephthalate) Composites. *Polymer Engineering and Science (Impact Factor: 1.24)*. 49(6):1117–1126
- Mali S, Sakanka ES, Yamachita F, Grossmann MVE. 2005. Water Sorption and Mechanical Properties of Cassava Starch Films and their Relation to Plasticizing Effect. *Carbohydrate Polymers*. 60(3): 283-289
- Marinho-Soriano E, Silva TS, Moreira WSC. 2001. Seasonal Variation in the Biomass and Agar Yield from *Gracilaria Cervicornis* and *Hydropuntia Cornea* from Brazil. *Bioresource Technology* 77(2): 115-120
- Mayachiew P, Devahastin S. 2010. Effects of drying methods and conditions on release characteristics of Edible Chitosan Films Enriched with Indian Gooseberry Extract. *Food Chemistry*.118(3): 594-601
- Müller RJ. 2005. Biodegradability of polymers: Regulations and Methods for Testing In *Biopolymers* 10. Ed. A. Steinbucherl. 367p.
- Muth O, Hith T, Vogel H. 2001. Investigation of Sorption and Diffusion of Supercritical Carbon Dioxide into Poly(Vinyl Chloride). *Journal of Supercritical Fluids*. 19(3): 299-306

- Negi PS. 2012. Plant Extracts for the Control of Bacterial Growth Efficacy, Stability and Safety Issues for Food Application. *International Journal of Food Microbiology*. 156(1): 7-17
- Nussinovitch A. 1997. *Hydrocolloid Applications: Gum Technology in the Food and other Industries*. Ed. Springer. 6-7 p.
- Parra DF, Tadini CC, Ponce P, Lugao AB. 2004. Mechanical Properties and Water Vapor Transmission in some Blends of Cassava Starch Edible Films. *Carbohydrate polymers* 58(4): 475-481
- Peng S, Zeng Q, Guo Y, Niu B, Zhang X, Hong S. Defluorination from Aqueous Solution by Chitosan Modified Natural Zeolite. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 88(9): 1707-1714
- Philips GO, Williams PA. 2000. *Handbook of Hydrocolloids*. Ed Woodhead Publishing. 26 p
- Rastogi L, Arunachalam J. 2011. Sunlight Based Irradiation Strategy for Rapid Green Synthesis of Highly Stable Silver Nanoparticles Using Aqueous Garlic (*Allium sativum*) Extract and their Antibacterial Potential. *Materials Chemistry and Physics*. 129(1): 558-563
- Rhim JW, Lee SB, Hong SI. 2011. Preparation and Characterization of Agar/Clay Nanocomposite Films: the Effect of Clay Type. *Journal of Food Science*. 76 (3): 40-48
- Rhim JW, Hong SI, Park HM, Perry KW. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(16): 5814-5822
- Rhim JW, Wang LF, Lee Y, Hong SI. 2013. Preparation and Characterization of Bio Nanocomposite Films of Agar and Silver Nanoparticles. *Laser Ablation Method. Carbohydrate Polymers* 103(15): 156-165
- Rogers C. 1968. *Physics and Chemistry of the Organic Solid State*. Ed. Fox D New York: Interscience. 1-3 p.
- Santosa FX, Padua GW. 1999. Tensile properties and Water Absorption of Zein Sheets Plasticized with Oleic and Linoleic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(5): 2070-2074
- Siripatrawan U, Harte BR. 2010. Physical Properties and Antioxidant Activity of an Active Film from Chitosan Incorporated with Green Tea Extract. *Food Hydrocolloids*. 24(8): 770-775
- Spencer CM, Cai y, Martin R, Gaffney SH, Goulding PN, Magnolato D. 1998. Polyphenol Complexation some Thoughts and Observations. *Phytochemistry*, 27(8): 2397-2409.
- Suvorova AI, Thukova IS, Trufanova EI. 1999. Thermodynamic and Diffusion Properties of Biodegradable Systems Based on Starch and Cellulose Derivate. *Journal of Environmental Polymer Degradation*. 7(1): 35-39

- Tian H, Xu G, Yang B, Guo G. 2011. Microstructure and Mechanical Properties of Soy Protein/Agar Blend Films: Effect of Composition and Processing Methods. *Journal of Food Engineering*. 107(1): 21-26
- Watson RR, Preedy VR. 2009. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. Ed Academic Press. 223-224 p.
- Wu Y, Geng F, Chang PR, YU J, Ma X. 2009. Effect of Agar on the Microstructure and Performance of Potato Starch Film. *Carbohydrate polymers*. 76(2): 299-304
- Wunderlich B- 2005. *Thermal Analysis of Polymeric Materials*. Ed. Springer. 441 p.
- Zhang Y, Han J.H. 2006. Plasticization of Pea Starch Films with Monosaccharides and Polyols *Journal of Food Science*. 71(6): E253-E261

ANEXOS

Análisis de Varianza de las Propiedades Ópticas

Tratamientos

1	0 GLY [0]	5	15 GLY [0]	9	30 GLY [0]
2	0 GLY [0.5]	6	15 GLY [0.5]	10	30 GLY [0.5]
3	0 GLY [1]	7	15 GLY [1]	11	30 GLY [1]
4	0 GLY [1.5]	8	15 GLY [1.5]	12	30 GLY [1.5]

Propiedades ópticas en relación a su concentración de extracto

Luminosidad

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
0 GLY [x]			
1	6	94.59	2, 3, 4
2	6	88.86	1
3	6	89.02	1
4	6	89.16	1
15 GLY {x}			
5	6	89.80	6, 7, 8
6	6	89.15	5
7	6	89.15	5
8	6	89.18	5
30 GLY [x]			
9	6	94.44	10, 11, 12
10	6	90.61	9
11	6	90.82	9
12	6	90.78	9

Parámetro cromático a*

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
0 GLY [x]			
1	6	-0.32	2, 3, 4
2	6	0.73	1
3	6	0.72	1
4	6	0.73	1
15 GLY {x}			
5	6	-0.32	6, 7, 8
6	6	0.73	5
7	6	0.72	5
8	6	0.70	5
30 GLY [x]			
9	6	-0.13	10, 11, 12
10	6	0.85	9
11	6	0.97	9
12	6	1.04	9

Parámetro cromático b*

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
0 GLY [x]			
1	6	6.77	2, 3, 4
2	6	0.93	1
3	6	0.87	1
4	6	0.85	1
15 GLY {x}			
5	6	6.44	6, 7, 8
6	6	0.74	5
7	6	0.69	5
8	6	0.63	5
30 GLY [x]			
9	6	6.45	10, 11, 12
10	6	3.05	9
11	6	2.87	9
12	6	2.96	9

Diferencia del color

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
0 GLY [x]			
1	6	5.17	2, 3, 4
2	6	8.40	1
3	6	8.11	1
4	6	8.02	1
15 GLY {x}			
5	6	9.32	6, 7, 8
6	6	8.03	5
7	6	8.02	5
8	6	7.99	5
30 GLY [x]			
9	6	4.91	10, 11, 12
10	6	6.48	9
11	6	6.22	9
12	6	6.27	9

Propiedades ópticas en relación a su porcentaje de glicerol

Luminosidad

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
		x GLY [0]	
1	6	94.59	
5	6	94.73	
9	6	94.34	
		x GLY [0.5]	
2	6	89.68	
6	6	89.15	
10	6	90.61	
		x GLY [1]	
3	6	89.02	
7	6	89.15	
11	6	90.82	
		X GLY [1.5]	
4	6	89.16	
8	6	89.18	
12	6	90.07	

Parámetro cromático a*

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
x GLY [0]			
1	6	-0.32	
5	6	-0.36	
9	6	-0.31	
x GLY [0.5]			
2	6	0.73	10
6	6	0.73	10
10	6	0.85	2, 6
x GLY [1]			
3	6	0.72	11
7	6	0.72	11
11	6	0.97	3, 7
X GLY [1.5]			
4	6	0.73	12
8	6	0.70	12
12	6	1.04	4, 8

Parámetro cromático b*

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
x GLY [0]			
1	6	6.77	
5	6	6.45	
9	6	6.55	
x GLY [0.5]			
2	6	1.23	10
6	6	1.63	10
10	6	3.05	2, 6
x GLY [1]			
3	6	0.87	11
7	6	0.69	11
11	6	2.37	3, 7
X GLY [1.5]			
4	6	0.75	12
8	6	0.74	12
12	6	2.06	4, 8

Cambio del color

Grupo	Cantidad	Media	Diferente a los grupos
x GLY [0]			
1	6	5.17	
5	6	4.77	
9	6	5.06	
x GLY [0.5]			
2	6	8.40	10
6	6	8.03	10
10	6	6.22	2, 6
x GLY [1]			
3	6	8.11	11
7	6	8.02	11
11	6	2.37	3, 7
X GLY [1.5]			
4	6	8.02	12
8	6	7.97	12
12	6	6.27	4, 8