



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO



DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA-ALIMENTOS

TESIS

EVALUACIÓN ESTRUCTURAL DE PELÍCULAS COMESTIBLES ADICIONADAS  
CON NANOCOMPUESTOS Y ANTIMICROBIANOS DE ORIGEN NATURAL  
MEDIANTE MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN QUÍMICO  
FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

p.Q.F.B. MORALES BURGOS NOHEMÍ

DIRECTOR DE TESIS

D.C. RAÚL AVILA SOSA SÁNCHEZ

ASESOR DE TESIS

D.C. ROCÍO AGUILAR SÁNCHEZ

Puebla Pue., Junio 2018

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	i
ÍNDICE DE TABLAS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
ÍNDICE DE ANEXOS .....	vi
Resumen	
1. Introducción .....	1
2. Revisión bibliográfica .....	3
2.1 Películas comestibles.....	3
2.2 Agentes antimicrobianos.....	5
2.2.1 Aceites esenciales .....	6
2.2.2 Aceite esencial de orégano.....	7
2.2.3 Carvacrol .....	8
2.2.4 Timol.....	9
2.2.5 Aceite esencial de canela .....	9
2.2.6 Cinamaldehído.....	10
2.3 Nanocompuestos .....	10
2.3.1 Haloisita .....	13
2.3.2 Bentonita.....	13
2.4 Microscopio de fuerza atómica.....	14
3. Justificación .....	18
4. Objetivos.....	19
5. Diagrama de trabajo .....	20
6. Materiales y métodos.....	21
7. Metodología.....	22

7.1 Elaboración de películas comestibles. ....	22
7.2 Caracterización de las películas.....	23
7.2.1 Color .....	23
7.2.2 Espesor.....	23
7.2.3 Análisis estructural de las películas comestibles .....	23
7.3 Análisis estadístico.....	24
8. Resultados y discusión .....	25
8.1 Color .....	25
8.2 Espesor .....	29
8.3 Tamaño de poro.....	31
8.4 Profundidad de poro y rugosidad .....	36
8.5 Densidad de poros, partículas y fibras .....	42
9. Conclusiones .....	48
10. Sugerencias.....	49
11. Bibliografía.....	50
12. Anexos .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes de aceites esenciales que presentan propiedades antimicrobianas .....	6
Tabla 2. Métodos y referencias. ....	21
Tabla 3. Equipos utilizados.....	21
Tabla 4. Combinaciones de películas comestibles.....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de carvacrol.....	8
Figura 2. Estructura química de timol.....	9
Figura 3. Estructura química de cinamaldehído .....	10
Figura 5. Tipos de nanocompuestos poliméricos .....	12
Figura 6. Componentes del Microscopio de Fuerza Atómica. ....	16
Figura 7. Luminosidad de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	27
Figura 8. Chroma de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	28
Figura 9. Espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	30
Figura 10. Tamaño de poro (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	32
Figura 11. Tamaño de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) Almidón, B) Almidón-AE, C) Almidón-Bentonita, D) Almidón-Haloisita.....	33
Figura 12. Tamaño de poro de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) CMC, B) CMC-AE C) CMC-Bentonita, D) CMC-Haloisita. ....	35
Figura 13. Profundidad de poro (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	38
Figura 14. Rugosidad (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	39
Figura 15. Rugosidad y profundidad de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas	

mediante microscopia de fuerza atómica para A) Almidón, B) Almidón-AE C) Almidón-Bentonita, D) Almidón-Haloisita. ....	40
Figura 16. Rugosidad y profundidad de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) CMC, B) CMC-AE C) CMC-Bentonita, D) CMC-Haloisita. ....	41
Figura 17. Densidad de poros (poros/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	45
Figura 18. Densidad de partículas (partículas/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	46
Figura 19. Densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	47

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Tabla de luminosidad de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	58
Anexo 2. Tabla de luminosidad de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	59
Anexo 3. Tabla de chroma de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	60
Anexo 4. Tabla de chroma de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	61
Anexo 5. Tabla de espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	62
Anexo 6. Tabla de espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	63
Anexo 7. Tabla de tamaño de poro (nm) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	64
Anexo 8. Tabla de tamaño de poro (nm) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	65
Anexo 9. Tabla de profundidad de poro (nm) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	66
Anexo 10. Tabla de profundidad de poro (nm) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	67
Anexo 11. Tabla de rugosidad de películas (nm) comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	68
Anexo 12. Tabla de rugosidad de películas (nm) comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	69
Anexo 13. Tabla de densidad de poros (poros/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. .	70

Anexo 14. Tabla de densidad de poros (poros/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	71
Anexo 15. Tabla de densidad de partículas (partículas/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	72
Anexo 16. Tabla de densidad de partículas (partículas/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. ....	73
Anexo 17. Tabla de densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. .	74
Anexo 18. Tabla de densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.....	75

## Lista de abreviaturas

AEC: Aceite esencial de canela

AEO: Aceite esencial de orégano

Alm: Almidón

Bent: Bentonita

CA: Cinamaldehído

CMC: Carboximetilcelulosa

C: Carvacrol

Hal: Haloisita

T: Timol

## Resumen

El uso de películas comestibles es una tecnología prometedora para conservar la calidad y alargar la vida de anaquel de alimentos perecederos y/o mínimamente procesados debido a su capacidad para actuar como barreras a la transferencia de humedad, de gases y servir como acarreador de aditivos alimentarios como antioxidantes y agentes antimicrobianos. La finalidad del uso de películas comestibles se enfoca en retardar el crecimiento de microorganismos deterioradores sobre diversos alimentos, debido a que estas se usan como métodos de conservación, además de que al incorporar antimicrobianos se logra controlar la localización y tasa de liberación de los mismos en el alimento.

El objetivo de este proyecto fue evaluar la estructura de películas comestibles adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural mediante microscopía de fuerza atómica en el modo de contacto, elaborando películas comestibles con el método de vaciado en placa utilizando como polímeros almidón y carboximetilcelulosa, nanocompuestos (bentonita y haloisita) y antimicrobianos de origen natural (aceite esencial de canela y orégano y los compuestos puros timol, carvacrol y cinamaldehído). También se evaluaron el color y espesor de las películas analizadas. Se observó que la incorporación de los nanocompuestos modificaron las propiedades de las películas, como el color, espesor y microestructura (formación de poros, fibras y/o aglomerados). Las micrografías muestran los distintos arreglos morfológicos que ocurren en la película control, al adicionar solamente los aceites esenciales y lo que ocurre al adicionar los nanocompuestos a la formulación. Además, la rugosidad, la distribución de los nanocompuestos en las películas comestibles y la formación de estructuras afecta la disposición y liberación de los antimicrobianos mejorando así la actividad antimicrobiana otorgada por los antimicrobianos de origen natural.

## 1. Introducción

El uso de películas comestibles es una tecnología prometedora para conservar la calidad y alargar la vida de anaquel de alimentos perecederos y/o mínimamente procesados. Estas han sido consideradas para la protección y conservación de diversos productos alimenticios, debido a su capacidad de actuar como barreras de migración de humedad, de gases y servir como acarreador de aditivos alimentarios como antioxidantes y agentes antimicrobianos. Se han desarrollado con el fin de extender la vida útil de los productos alimenticios y/o enriquecerlos (Trujillo *et al.*, 2012). Regulan la transferencia de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aroma y compuestos de sabor en el sistema de un alimento. Además de mejorar la calidad de los alimentos y alargar la vida de anaquel de productos frescos y mínimamente procesados, las películas comestibles se utilizan para protegerlos de los efectos dañinos del medio ambiente. Para su elaboración se pueden utilizar una gran variedad de polímeros, por ejemplo, proteínas, polisacáridos (almidón, pectina, celulosa, alginato) y lípidos y pueden ser utilizados individualmente o de forma combinada (Santiago, 2015).

Los biopolímeros ofrecen una alternativa amigable al ambiente, sin embargo, ciertas propiedades resultan ser un poco útiles para aplicaciones industriales, por ello surge el interés de desarrollar nanocompuestos, con el fin de mejorar alguna o algunas propiedades, de manera que se obtenga un material funcional con propiedades específicas. La aplicación de nanocompuestos de grado alimenticio en las películas comestibles, tiene un futuro promisorio debido a que se ha encontrado que impactan positivamente en las propiedades mecánicas, con el aumento de la resistencia de las películas y también mejorando las propiedades de barrera. También las nanopartículas pueden ser utilizadas como portadores de agentes antimicrobianos y aditivos (Silvera *et al.*, 2012).

Al estudiar e investigar la naturaleza, se puede encontrar formas de crear poderosas herramientas tecnológicas, como la microscopía de fuerza atómica (AFM), para comprender las características de la superficie de los polímeros naturales. Debido a las interacciones clave entre los polímeros y el medio

ambiente, esta poderosa herramienta es capaz de investigar las características químicas y morfológicas de los polímeros naturales. La aplicación de esta técnica en la investigación de las propiedades y la estructura de los materiales permite obtener imágenes con resolución del orden de nanómetros y otra ventaja que posee es que proporciona imágenes tridimensionales que permiten cuantificar la profundidad y la morfología de las muestra. Además permite la visualización topográfica, la caracterización y análisis complementarios de las muestras.

## 2. Revisión bibliográfica

### 2.1 Películas comestibles

En tiempos recientes se han incrementado las aplicaciones de películas comestibles ofreciendo ventajas como biocompatibilidad, apariencia estética, propiedades de barrera y de funcionalidad, a través de la incorporación de agentes antioxidantes, antimicrobianos, entre otros aditivos funcionales (Avila-Sosa y López-Malo, 2008).

Las películas comestibles tienen la capacidad de incorporar agentes antimicrobianos para proveer estabilidad microbiológica a los alimentos; ya que sirven como acarreadoras de un amplio número de compuestos los cuales incluyen antimicrobianos de origen natural como los aceites esenciales. Estos compuestos tienen la capacidad de extender la vida de anaquel de un producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en la superficie de los alimentos (Avila-Sosa y López-Malo, 2008).

Las propiedades funcionales, sensoriales y mecánicas de una película comestible también pueden modificarse por la adición de varias sustancias en pequeñas cantidades, denominados aditivos (plastificantes, antimicrobianos, colorantes).

Para la formación de películas comestibles muchas veces es necesario agregar un plastificante para mejorar las propiedades mecánicas de las mismas. Se define como una sustancia estable, no volátil y con alto punto de ebullición, la cual ha sido adicionada a otro material y cambia las propiedades físicas y/o mecánicas de ese material (Santiago, 2015). Los plastificantes usados incluyen glicerol, polietilenglicol, sorbitol y algunos azúcares, entre otros. Debido a que el plastificante reduce los enlaces intermoleculares entre las cadenas de polímeros, los plastificantes modifican las propiedades mecánicas y producen películas más flexibles (Domínguez-Courtney *et al*, 2012). La incorporación de estos aditivos también modifica las propiedades de barrera de estas películas (Romero-Bastida *et al*, 2011).

En la mayoría de los casos, películas y recubrimientos son términos que se utilizan indistintamente para indicar que la superficie de un alimento está recubierto por una capa relativamente delgada de material de cierta composición. Sin embargo hay que diferenciar estos dos conceptos; un “recubrimiento (coating) comestible” es sencillamente una matriz continua y delgada de material comestible que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento, como un revestimiento sobre el alimento mientras que las “películas (films) comestibles” son matrices preformadas y delgadas elaboradas con materiales comestibles e independientes que se añaden sobre el alimento tras su formación (Garde, 2013).

Las películas o recubrimientos comestibles también pueden mejorar la integridad estructural de productos frágiles o las propiedades de manejo mecánico del alimento, es por ello que pueden servir como envase si dichas propiedades son adecuadas y las condiciones de sanidad prevalecen durante su almacenamiento, transportación y comercialización. Además ayudan a mantener la calidad de los alimentos después de que el envase es abierto, pues estas sirven para estabilizar los gradientes de actividad de agua, protegiéndolo contra la pérdida o ganancia de humedad y pérdida de aromas, además de que hacen posible la incorporación de agentes antimicrobianos, saborizantes, antioxidantes y pigmentos.

La funcionalidad de los recubrimientos y películas comestibles se puede mejorar mediante la incorporación de nanopartículas, las cuales pueden tener una mejor distribución en la superficie del producto y lograr interactuar con la membrana celular del fruto o impedir el desarrollo de microorganismos (Garde, 2014).

Las películas y recubrimientos comestibles tienen diferentes funciones entre las cuales se ha encontrado que pueden retardar la migración de humedad, controlar el transporte de gases ( $O_2$ ,  $CO_2$  y etileno), retener componentes volátiles, servir de vehículo de aditivos, mejorar las propiedades mecánicas y el manejo del alimento, además de impartir una mayor integridad a la estructura del mismo, manteniendo las buenas propiedades mecánicas y organolépticas de los alimentos (Muñoz, 2014).

Una de las ventajas que poseen las películas comestibles es que pueden mejorar las propiedades organolépticas, mecánicas, de conservación y nutricionales de los alimentos como lo es en los siguientes casos:

- Pueden ser usados como barreras a gases y al vapor de agua. Para este propósito se aplican sobre la superficie de los alimentos, restringiendo así la pérdida de humedad y disminuyendo la respiración.
- Una aplicación potencial de las películas es la disminución de la migración de lípidos (aceites y grasas).
- Ofrecen protección frente a agentes microbianos, así como frente a agentes externos (agua, O<sub>2</sub>).
- Pueden mejorar las propiedades mecánicas de mantenimiento o la integridad estructural de los productos alimenticios.
- Los aditivos alimentarios (como antimicrobianos, antioxidantes, colorantes, etc.) pueden ser incorporados dentro de las películas comestibles, logrando controlar la localización y la tasa de liberación de los mismos en el alimento.

Los aditivos son componentes de las películas y de los recubrimientos que pueden generar diferentes acciones dentro de los mismos, éstos pueden ser tecnológicos o funcionales. Los primeros son los que le otorgan al recubrimiento una propiedad mecánica, mientras que los funcionales la característica es un comportamiento (Garde, 2014).

## 2.2 Agentes antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos son compuestos químicos presentes o añadidos en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o causan la muerte de los microorganismos (García-García *et al*, 2008).

Entre los antimicrobianos naturales más estudiados se encuentran los presentes en plantas, hierbas y especias, los cuales son utilizados en alimentos tratando de sustituir los antimicrobianos sintéticos, debido a la tendencia de los consumidores por ingerir productos lo más naturales posibles (Holley y Patel, 2005). Se reconoce

que los compuestos activos de plantas, hierbas y especias son compuestos fenólicos. De acuerdo con Holley y Patel (2005), estos compuestos son probablemente los componentes antimicrobianos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de las especias. El mayor componente puede constituir el 85% del aceite esencial, mientras que otros componentes pueden estar presentes sólo en trazas. Los componentes de algunos aceites esenciales con propiedad antimicrobiana se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes de aceites esenciales que presentan propiedades antimicrobianas (García-García y Palou-García, 2008).

Nombre común de la planta	Nombre científico de la planta	Componente	% máximo presente en el aceite esencial
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>	Linalool E-2-decanal	26% 20%
Canela	<i>Cinnamomum zaylandicum</i>	Trans-cinnamaldehido	65%
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol Timol Terpineno Cymeno	80% 64% 2-52% 52%
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Pineno Acetato de bornil Canfor 1,8 Cineolo	2-25% 0-17% 2-14% 3-89%
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol Acetato de eugenil	75-85% 8-15%
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol Carvacrol Terpineno Cimeno	10-64% 2-11% 2-31% 10-56%

### 2.2.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos, aromáticos y volátiles obtenidos de material vegetal y comúnmente se concentran en una región particular como hojas, corteza o frutos (Gutierrez *et al*, 2008). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y sus compuestos ha sido reconocida desde hace tiempo y el interés ha incrementado en años recientes. La industria alimentaria encuentra un

grave problema relacionado con el número creciente de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. La principal causa está determinada por microorganismos. Por lo tanto, el control de patógenos puede reducir significativamente estos brotes. Los aceites esenciales tienen un potencial prometedor como conservadores naturales de alimentos (Wang *et al*, 2015). Estos, han demostrado funciones antimicrobianas significativas contra los patógenos transmitidos por los alimentos y han sido utilizados para prevenir el desperdicio y deterioro de éstos, prolongando así su vida útil.

Estudios recientes que involucran el modo de acción usando compuestos de aceites esenciales contra bacterias patógenas y levaduras han demostrado que su capacidad reside en perturbar la membrana celular (Pasqua *et al.*, 2007).

Los aceites esenciales han demostrado poseer propiedades antimicrobianas que no sólo se limitan al efecto antibacterial sino que incluyen características antivirales, antimicóticas, antitoxigénicas, antiparasitarias e incluso insecticidas (Alfonso, 2011). Como metabolitos secundarios, los aceites esenciales están a su vez conformados por compuestos de diferente naturaleza, la mayoría comprenden sustancias terpenoides junto con sustancias oxigenadas (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos). Generalmente el efecto antimicrobiano se atribuye a los compuestos fenólicos presentes en el aceite (Burt, 2004).

Diversos estudios han determinado que los aceites procedentes de clavo, canela, orégano, romero y tomillo son los que poseen actividad antimicrobiana más acentuada. Los aceites esenciales contienen un alto porcentaje de compuestos fenólicos como el carvacrol, el timol o el eugenol.

### 2.2.2 Aceite esencial de orégano

El principal producto de la hoja de orégano es el aceite esencial, el cual tiene diversos usos en la industria. En cuanto a su composición se han logrado identificar hasta 56 compuestos, y se han encontrado diferencias cuantitativamente significativas en sólo dos fenoles isoméricos carvacrol (0.1-

56.6%) o fenol no cristalizante y timol (7.9-53.6) o fenol cristalizante; incluyéndose sus precursores biosintéticos. En estudios se ha comprobado que el aceite esencial de orégano presenta actividad antimicrobiana, debido a sus dos principales componentes fenólicos; timol y carvacrol. Esto abre la posibilidad de evaluarlo como aditivo natural para alargar la vida de los alimentos (Dozal, 2010).

### 2.2.3 Carvacrol

El carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil) fenol) está presente en los aceites esenciales de orégano entre 60-70% y tomillo en un 45% (Ultee *et al.*, 2002). Su estructura química está representada por un grupo fenólico como se observa en la Figura 1, con un alto poder hidrofóbico. Su mecanismo de acción consiste en la capacidad de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática (Lambert *et al.*, 2001), provocando con ello la salida del ATP, inhibición de la actividad de las ATPasas y disminución de la fuerza motriz del protón (García y Palou, 2008).

Este compuesto inhibe el crecimiento de varias cepas de bacterias, por ejemplo, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Su baja toxicidad, junto con su agradable sabor y olor sugiere su uso como aditivo alimentario para prevenir la contaminación bacteriana. En *Pseudomonas aeruginosa* ocasiona daños a la membrana celular y a diferencia de otros terpenos, inhibe la proliferación de ésta. La causa de las propiedades antimicrobianas se cree que es la ruptura de la membrana de bacterias.

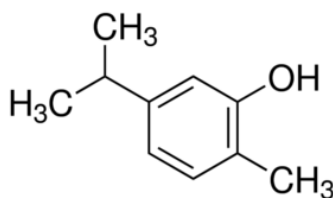


Figura 1. Estructura química de carvacrol (Obtenido de Sigma-Aldrich).

#### 2.2.4 Timol

El timol (o isopropilmetacresol, o 2-isopropil-5-metilfenol) es una sustancia cristalina incolora con un olor característico que está presente en la naturaleza de los aceites esenciales del tomillo o del orégano. Su estructura es similar a la del carvacrol cambiando únicamente la posición del grupo hidroxilo (Figura 2) (García y Palou, 2008) por lo que son isómeros. Ha sido reportado como uno de los agentes antimicrobianos más activo de los constituyentes de los aceites esenciales, encontrándose presente en el aceite esencial de orégano y tomillo. El mecanismo de acción de timol es semejante al de carvacrol, ya que su estructura química es similar. Este es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática.

Diversos estudios han demostrado actividad contra *Salmonella thiphymurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*. Lambert y Pearson (2000) señalaron que el timol cambia la permeabilidad de la membrana de las células microbianas, dejando que se filtren los constituyentes químicos que son esenciales para el metabolismo, tales como iones, ATP, ácidos nucleicos y aminoácidos. Estos efectos causan un incremento de la fase lag, provocando una disminución en la carga celular total.

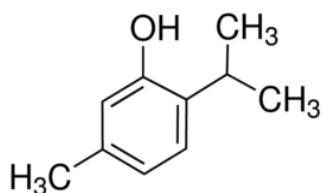


Figura 2. Estructura química de timol (Obtenido de Sigma-Aldrich).

#### 2.2.5 Aceite esencial de canela

El aceite esencial de canela contiene una alta concentración de trans-cinamaldehído, que es el componente en mayor proporción. También presenta linalool, eugenol y otros compuestos fenólicos. La acción antimicrobiana del aceite

esencial de canela es atribuida principalmente al aldehído cinámico (o trans-cinamaldehído) y al eugenol (Gómez y López, 2009).

### 2.2.6 Cinamaldehído

El cinamaldehído (3-fenil-2 propenal) es un compuesto fenólico. Este aldehído posee una estructura caracterizada por la presencia de un anillo bencénico monosustituido, un grupo funcional aldehído y un enlace doble conjugado (Figura 3), que es el responsable de proporcionarle al compuesto una geometría plana (Wang *et al.*, 2015). El cinamaldehído se encuentra presente en la naturaleza como trans-cinamaldehído y está compuesto por un aldehído insaturado unido a un grupo fenilo; por ello, tiene aromaticidad.

Es especialmente eficaz contra ciertos tipos de bacterias inhibiendo el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella* entérica serovar *typhimurium*. Actúa inhibiendo la producción de enzimas intracelulares, tales como amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared y un alto grado de lisis celular (pastrana *et al.*, 2017).

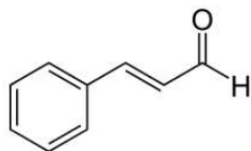


Figura 3. Estructura química de cinamaldehído (Obtenido de Sigma-Aldrich).

Una manera efectiva de incorporar los antimicrobianos a las películas comestibles es mediante la incorporación de nanocompuestos.

### 2.3 Nanocompuestos

Los nanocompuestos son materiales bifásicos, donde al menos uno de ellos se encuentra dentro del rango nanométrico ( $1 \times 10^{-9} \text{m}$ ). Los nanocompuestos poliméricos son en esencia, polímeros reforzados con partículas, las cuales

pueden ser esféricas (3 dimensiones nanométricas), tubulares (2 dimensiones nanométricas) y laminares (1 dimensión nanométrica) (Franco *et al*, 2009).

Las partículas pueden ser arcillas minerales, conocidas como filosilicatos o silicatos laminares. Estos pertenecen fundamentalmente a cuatro grupos principales: caolinita, esmectita, illitas y clorita. La arcilla esmectita del tipo montmorillonita es la arcilla mineral más utilizada como fase reforzante en matrices poliméricas. Las partículas de arcilla no son por sí mismas partículas nanométricas, sino que están conformadas por el apilamiento de láminas, cuyo espesor mide aproximadamente 1 nm, mientras que sus dimensiones laterales pueden variar desde 30 nm hasta varias micras. La estructura cristalina de las arcillas está formada principalmente por dos grupos: grupos de sílice tetraédricos y grupos de alúmina octaédricos. Los grupos del mismo tipo están unidos entre sí hexagonalmente formando capas de tetraedros y octaedros. Si un mineral de arcilla presenta un empaquetamiento de una capa tetraédrica y una octaédrica se denomina de tipo 1:1 o bilaminares y de una octaédrica entre dos tetraédricas, de tipo 2:1 o trilaminares (Brigatti, 2006), las cuales se representan en la Figura 4.

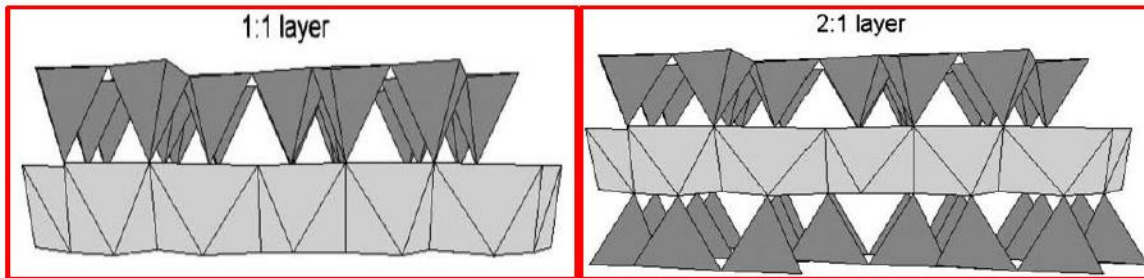


Figura 4. Estructura cristalina de arcillas con empaquetamiento de capas 1:1 y 2:1 (Sáenz, 2014).

Las arcillas reducen la permeabilidad a los gases y aumentan las propiedades mecánicas y las propiedades ópticas. Dependiendo de la naturaleza de los componentes, se pueden obtener tres tipos básicos de nanocompuestos, los cuales se presentan en la Figura 5.

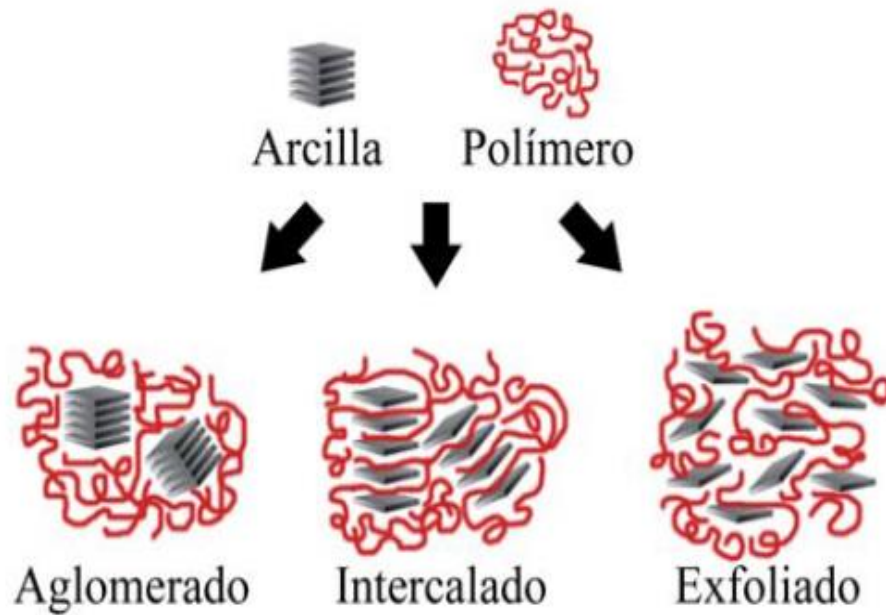


Figura 5. Tipos de nanocompuestos poliméricos (Franco y Maspoch, 2009).

Los nanocompuestos aglomerados ocurren cuando el polímero es incapaz de intercalarse entre las láminas de la arcilla, obteniéndose una fase separada. En los nanocompuestos intercalados, la difusión del polímero promueve el desarrollo de una morfología de multiláminas muy ordenadas. Mientras que la tercera clasificación corresponde a los nanocompuestos exfoliados, donde las láminas de la arcilla se encuentran totalmente dispersas y desordenadas dentro de la matriz polimérica, la mayor parte de las cadenas del polímero están entre las capas de la arcilla, por lo que no se muestra ninguna periodicidad en su arreglo (Franco y Maspoch, 2009).

La aplicación de nanocompuestos de grado alimenticio en las películas comestibles, tiene un futuro promisorio debido a que se ha encontrado que impactan positivamente en las propiedades mecánicas, con el aumento de la resistencia de las películas y también mejorando las propiedades de barrera. Los nanocompuestos pueden ser utilizados para obtener nanorredes que impidan la contaminación o dificulten el crecimiento microbiano (Silvera *et al.*, 2012).

### 2.3.1 Haloisita

La haloisita es un mineral de arcilla tipo 1:1 dioctaédrico y se considera como una fase hidratada de la caolinita con láminas curvadas que es capaz de ubicar moléculas de agua en el espacio interlaminar, dando un fórmula general de  $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , considerada un polimorfo hidratado de la caolinita (Joussein *et al.*, 2005).

Las partículas de haloisita pueden adoptar diferentes morfologías como esferas, tubos, placas o listones (Brigatti *et al.*, 2006). La forma tubular alargada está relativamente mejor cristalizada, por lo que es la morfología más comúnmente encontrada (Brigatti *et al.*, 2006; Joussein *et al.*, 2005) generando una estructura con cavidad nanotubular en el alcance submicroscópico (Carrillo, 2013).

Las fibras de haloisitas tubulares varían en dimensiones, sin embargo todas presentan una relación típica de menos de 3.0  $\mu\text{m}$  de largo x 0.3  $\mu\text{m}$  de diámetro exterior, aunque en algunas muestras se pueden encontrar túbulos de hasta 20  $\mu\text{m}$ . Se ha demostrado que la presencia de hierro en minerales tipo haloisita se asocia fuertemente a su morfología y que bajos contenidos de este favorecen estructuras principalmente nanotubulares, aunque morfologías esféricas también han sido encontradas (Joussein *et al.*, 2005).

Los nanotubos de haloisita han sido estudiados a lo largo del tiempo y se ha comprobado su compatibilidad con el cuerpo humano. Además de ser compuestos ecológicos, naturales, abundantes, biocompatibles, de bajo precio y presentan buenas propiedades mecánicas (Quintanilla *et al.*, 2017).

### 2.3.2 Bentonita

La bentonita es un material natural cuyo constituyente mayoritario es la montmorillonita, un mineral de arcilla tipo 2:1 (Carriazo *et al.*, 2007). Los criterios de clasificación utilizados se basan en su comportamiento y propiedades fisicoquímicas; así la clasificación más aceptada establece bentonitas en función de su capacidad de hinchamiento en agua (Bradanovic, 2007):

- a) Bentonitas altamente hinchables o sódicas.
- b) Bentonitas poco hinchables o cálcicas.
- c) Bentonitas moderadamente hinchables o intermedias.

También puede ser clasificada en sódica y cálcica, en base al catión predominante entre las capas y a la habilidad para dilatarse. La bentonita sódica ( $\text{Na}^+$ ) exhibe una alta capacidad de dilatación en agua, mientras que la bentonita cálcica ( $\text{Ca}^+$ ) tiene mucho menos capacidad de dilatación. Las propiedades de la bentonita no dependen sólo del mineral esmectítico predominante sino también de su grado de cristalinidad y del tamaño de los cristales, entre otros aspectos, por lo tanto las propiedades pueden variar enormemente. Por lo anterior, las aplicaciones son amplias y las especificaciones para cada caso son muy particulares (Coordinación General de Minería, 2013). La bentonita es un material cuya superficie es fundamentalmente externa, lo cual es resultante de su estructura de láminas cerradas y sin acceso al interior del espacio interlamina de la arcilla.

Puesto que la mejora en las propiedades de barrera (transmisión de gases y agua), mecánicas y antimicrobianas de los nanocompuestos depende de sus características estructurales, se han usado técnicas de caracterización de superficies para el estudio de la estructura y arreglo morfológico de nanocompuestos dispersados en matrices poliméricas comestibles. Entre estas técnicas se encuentran la microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés) y la microscopía de fuerza atómica (AFM, siglas en inglés) (Binnig *et al.*, 1986). Debido a la posibilidad de investigar superficies no conductoras (como las aquí estudiadas), la técnica de AFM es mucho más versátil que las técnicas de microscopía electrónica.

#### 2.4 Microscopio de fuerza atómica

El Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) es un equipo importante para la elucidación de la microestructura de materiales. En esta técnica, una punta muy

aguda (de silicio) unida a una ménsula flexible, es barrida a lo largo y ancho de la superficie de la muestra. Conforme la punta se aproxima a la muestra, las fuerzas de atracción de corto alcance entre la punta y la muestra, causa que la micropalanca se doble hacia la superficie. Sin embargo, conforme la palanca esta aún más cerca de la muestra, que incluso haga contacto, las fuerzas de repulsión causan que la ménsula se doble hacia fuera de la muestra. El AFM tiene un escáner Z que mueve la palanca hacia arriba y hacia abajo y un escáner x-y que mueve la muestra hacia atrás y hacia adelante por debajo de la punta. La interacción local entre la punta y la muestra causa una deflexión de la ménsula, la cual es monitoreada y traducida a una imagen tridimensional en escalas de micro- y nanómetros a través de un sensor (foto-diodo) de posición. Este sensor rastrea un haz de láser que es reflejado desde la parte superior de la punta. Cualquier flexión de la palanca hacia la muestra o lejos de esta, causa cambios en la dirección del haz reflejado los cuales son registrados por el detector. Entonces, sí la punta del AFM pasa por una característica elevada de la superficie, la flexión (doblamiento) de la palanca, y el subsecuente cambio en la dirección del haz reflejado, se registra por el sensor de posición (Binnig, 1986).

El AFM capta imágenes de la topografía de la superficie de la muestra escaneando la ménsula sobre la región de interés. Las características elevadas y hendiduras de la muestra influyen la deflexión de la palanca. Usando un serpentín de retroalimentación para controlar la altura de la punta sobre la superficie –manteniendo constante la posición del láser- el AFM puede generar un mapa topográfico exacto de la superficie. Debido a esto, el AFM es utilizado en la caracterización de materiales para determinar sus propiedades físicas y conocer su morfología. En la figura 6, se muestra un esquema del funcionamiento del AFM, con la función de cada componente y la imagen traducida por la computadora.

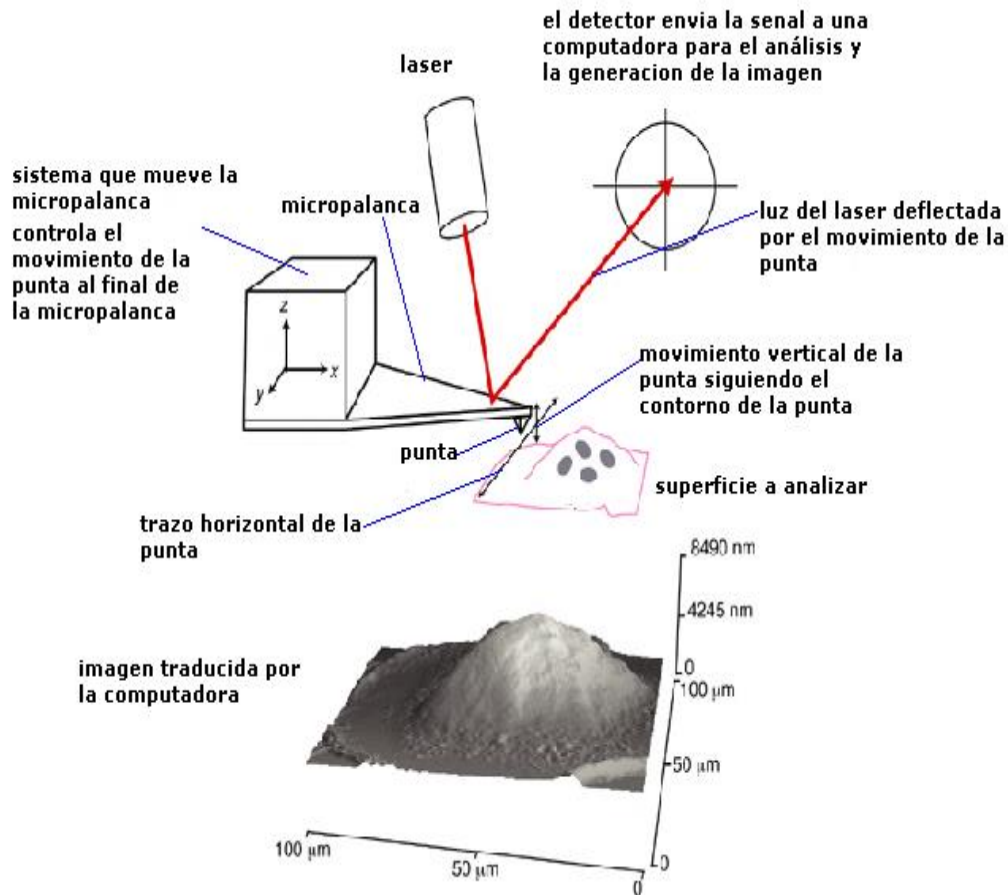


Figura 6. Componentes del Microscopio de Fuerza Atómica (Cruz, 2009).

El AFM trabaja en diferentes modos de operación como *tapping*, *contacto* y *no-contacto* para obtener la topografía de la superficie de la muestra. También determina las propiedades físicas de los materiales como: viscoelasticidad, fuerza eléctrica y fuerza magnética (Reséndiz *et al*, 2005).

Dentro de la utilización del microscopio, se pueden emplear diferentes métodos de aplicación para la toma de topografía o medición de propiedades de los materiales deseados, hay veces que es el material el que determina qué método debe de emplearse debido a su delicadeza. A continuación se presentan los tres principales métodos de empleo del AFM.

De contacto: mide la topografía de la muestra deslizando la punta sobre su superficie.

Tapping: también llamado contacto intermitente, mide la topografía de la muestra tocando intermitentemente su superficie.

De no contacto: mide la topografía de acuerdo a las fuerzas de Van der Waals que existen entre la superficie de la muestra y la punta. Se utiliza cuando no se desea dañar por ningún motivo la muestra (Cruz, 2009).

### 3. Justificación

Actualmente la aplicación de películas comestibles está ganando importancia por su funcionalidad y capacidad de ser portadoras de diferentes compuestos bioactivos, como lo son los antimicrobianos, mejorando así la calidad de diferentes productos en fresco como frutas y/u hortalizas. La finalidad del uso de películas comestibles se enfoca en retardar el crecimiento de microorganismos deterioradores sobre diversos alimentos, debido a que estas se usan como métodos de conservación, además de que al incorporar antimicrobianos se logra controlar la localización y tasa de liberación de los mismos en el alimento.

A partir de la implementación de películas comestibles adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural, para la elaboración y conservación de alimentos, se tiene la necesidad de conocer las propiedades de transporte y de barrera de diversas sustancias y cómo éstas influyen en la liberación de los compuestos antimicrobianos.

Por lo que en este estudio se propone estudiar la microestructura de las películas comestibles compositas en las que los nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural interactúan. El estudio se realizará empleando un microscopio de fuerza atómica que permitirá investigar la microestructura y la morfología de los aditivos funcionales antes mencionados.

## 4. Objetivos

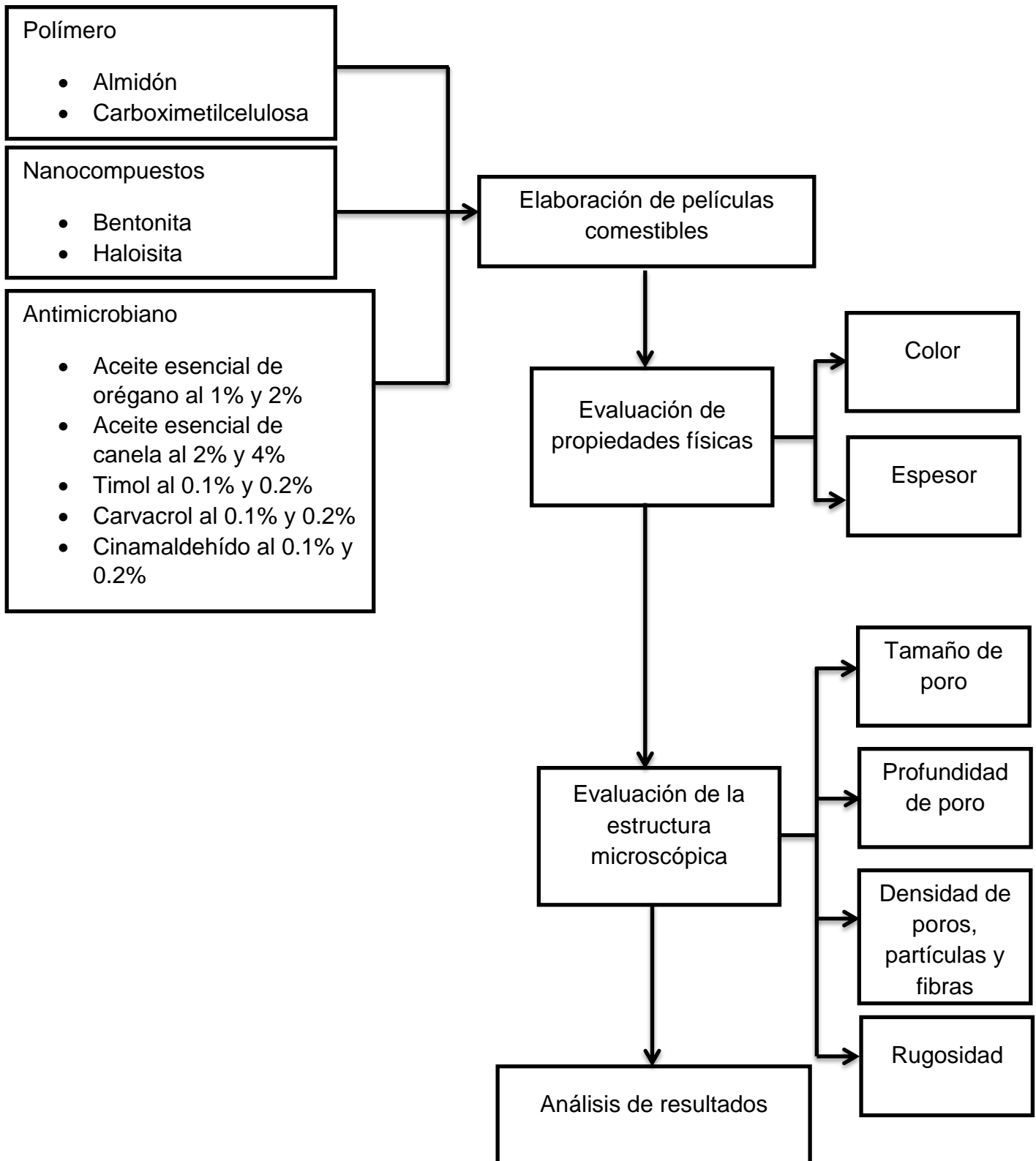
### 4.1 Objetivo general

- Evaluar la estructura de películas comestibles adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural mediante microscopía de fuerza atómica en el modo de contacto.

### 4.2 Objetivos particulares

- Elaborar películas comestibles de almidón y carboximetilcelulosa adicionadas con nanocompuestos (bentonita y haloisita) y antimicrobianos de origen natural (aceites esenciales de canela y orégano, timol, carvacrol y cinamaldehído).
- Evaluar las propiedades físicas de las películas elaboradas (color y espesor).
- Evaluar el efecto estructural de los nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural de las películas elaboradas mediante microscopía de fuerza atómica.

## 5. Diagrama de trabajo



## 6. Materiales y métodos

Material de vidrio: el necesario para cada determinación.

Reactivos: los necesarios para cada determinación en grado analítico.

Tabla 2. Métodos y referencias.

Determinación	Técnica	Referencia
Elaboración de películas	Vaciado en placa	Bertuzzi <i>et al.</i> 2007
Perfil estructural y morfológico de las películas	Microscopía de fuerza atómica	Binnig <i>et al.</i> , 1986
Color de películas	Reflectancia	Umaña <i>et al.</i> , 2011
Espesor de películas	Instrumental	López-Quezada, 2007

Tabla 3. Equipos utilizados.

Equipo	Marca	Modelo
Estufa de vacío	LMIM	
Agitador	Hamilton Beach	727W-MX
Agitador	IKA	RW11
Balanza de precisión	Ohaus Pioneer	PA313
Micrómetro milimétrico	METROMEX	111-B
Colorímetro	TIME BEIJING Time High Technology Ltd.	TCR200
Microscopio de fuerza atómica	Nanosurf	Naio AFM
Software: Naio Control Versión 3.1	Nanosurf	3048

## 7. Metodología

### 7.1 Elaboración de películas comestibles.

Se elaboraron películas comestibles utilizando como polímeros almidón y carboximetilcelulosa, y nanocompuestos (haloisita y bentonita) al 2%, adicionando aceite esencial de canela en concentraciones de 2% y 4% y aceite esencial de orégano al 1% y 2%, así también se utilizaron compuestos puros de timol, carvacrol y cinamaldehído en concentraciones de 0.1% y 0.2% (Tabla 4). La preparación de películas se realizó siguiendo el método de vaciado en placa, el cual consiste en la preparación de la solución formadora de película, mezclando el polímero con el plastificante, adicionando el nanocompuesto y el antimicrobiano en cuestión. Posteriormente se vertieron 15 mL de solución formadora de películas en placas Petri de vidrio y se secaron a una temperatura de 32°C.

Tabla 4. Combinaciones de películas comestibles.

	Nanocompuesto	Antimicrobiano		Nanocompuesto	Antimicrobiano
	Almidón	Bentonita		A.E. de canela	Carboximetilcelulosa
A.E. de orégano			A.E. de orégano		
Timol			Timol		
Carvacrol			Carvacrol		
Cinamaldehído			Cinamaldehído		
Haloisita			A.E. de canela	A.E. de canela	
		A.E. de orégano	A.E. de orégano		
		Timol	Timol		
		Carvacrol	Carvacrol		
			Cinamaldehído		

## 7.2 Caracterización de las películas

A las películas se les determinó sus propiedades físicas tales como: color, espesor y estructura.

### 7.2.1 Color

Para determinar el color de las películas comestibles adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural se utilizó un colorímetro portátil midiendo 5 puntos diferentes de la película comestible en cuestión. El colorímetro se calibró con un fondo blanco y con un fondo negro, la película se puso sobre un fondo blanco y se midió la superficie de la película cuantificándose L (luminosidad blanco-negro), a y b luminosidad, rango de rojo a verde y de amarillo a azul respectivamente, Hue y Chroma fueron calculados con las ecuaciones descritas abajo.

$$1) Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right)$$

$$2) Chroma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

Donde a y b son parámetros de color.

### 7.2.2 Espesor

Para determinar el espesor de las películas comestibles se utilizó un micrómetro milimétrico dónde se midieron 5 puntos diferentes de las películas. En cada medición, las películas se pusieron entre el tope y la espiga del micrómetro ajustando el tambor móvil hasta determinar el espesor.

### 7.2.3 Análisis estructural de las películas comestibles

Se evaluó la estructura de las películas comestibles utilizando un microscopio de fuerza atómica equipado con una punta de silicio y una constante de fuerza de 20nN en el modo de contacto. Para poder realizarlo, por cada película obtenida se tomarán 5 muestras de diferentes puntos y posteriormente se analizaron 4 zonas

distintas por cada muestra. En cada medición, las muestras se colocaron entre el soporte y la punta de la aguja, abarcando un área de  $50 \mu\text{m}^2$ . Con las imágenes obtenidas se analizaron las características estructurales como: rugosidad, tamaño de poro, profundidad de poro y densidad de poros, partículas y fibras mediante el software Naio Control Versión 3.1.

Con ayuda del AFM se analizó la rugosidad superficial de las muestras, midiendo la altura local de la muestra, obteniendo de esta manera mapas tridimensionales de la topografía de la superficie representando la altura local de la muestra frente la posición horizontal y vertical de la punta. Para la densidad de poros, partículas y fibras se analizaron 20 imágenes de  $50 \mu\text{m}^2$  y se contabilizaron los poros, partículas y fibras encontradas en un total de  $1000 \mu\text{m}^2$ , posteriormente el total se dividió entre 1000 para obtener el número de poro, partícula o fibra por  $\mu\text{m}^2$ .

### 7.3 Análisis estadístico

Se reportó el promedio así como las desviaciones estándar de todas las determinaciones. Para determinar si había diferencias significativas entre los grupos analizados, se realizó la comparación por un análisis de varianza (ANOVA) con un análisis de medidas por el método de Tukey con un nivel de confianza de 95%. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Minitab 16.

## 8. Resultados y discusión

Los datos representados en las diferentes figuras (6, 7, 8, 9, 12, 13, 16, 17 y 18) se agrupan por diferentes colores. El color negro es la película control (elaboradas sólo con polímeros), el color blanco son películas adicionadas con aceites esenciales, el color gris oscuro son películas adicionadas con bentonita y los antimicrobianos, por último el color gris claro son películas adicionadas con haloisita y los diferentes antimicrobianos.

### 8.1 Color

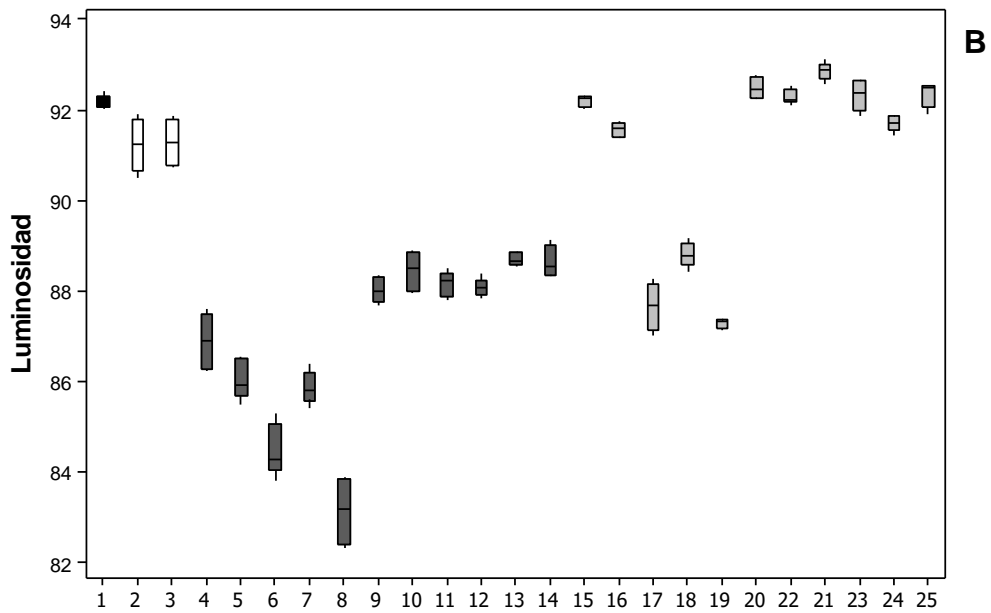
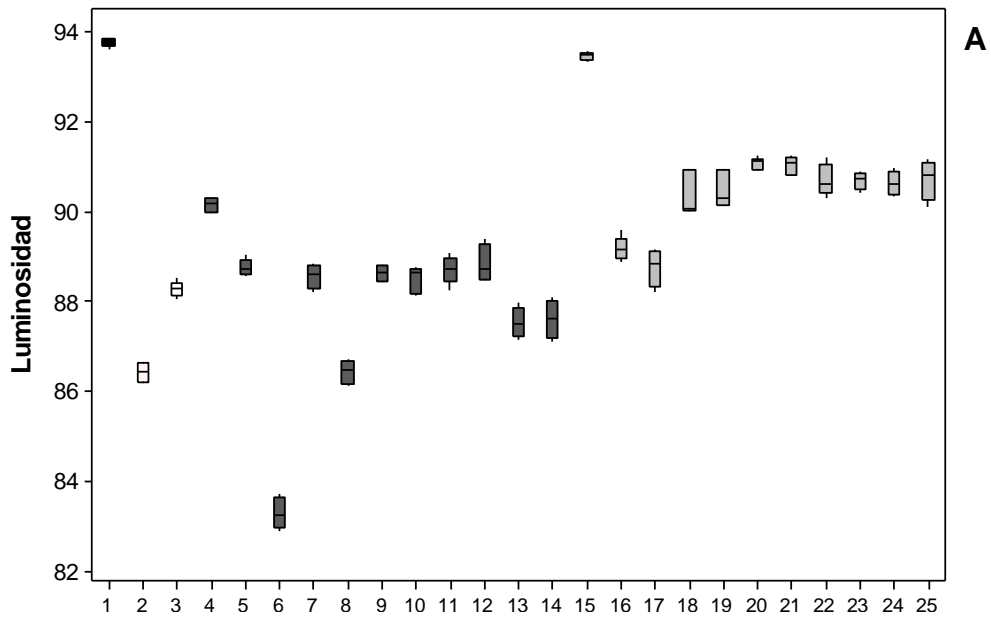
En las figuras 7 y 8 se observan los diferentes análisis de color realizados a las diferentes películas comestibles elaboradas, las gráficas se realizaron para luminosidad y chroma (intensidad de color de la película). En la figura 7A se observa la luminosidad de cada una de las películas comestibles elaboradas de almidón analizadas, la película control es la que presenta mayor luminosidad, una vez adicionados los aceites esenciales la luminosidad disminuye de manera significativa haciendo las películas más opacas. Al adicionar los nanocompuestos y los agentes antimicrobianos se altera el valor de la luminosidad, en el caso del grupo de las películas elaboradas con bentonita la luminosidad es menor que con el grupo de las películas elaboradas con haloisita, esto se puede deber a la estructura propia de los nanocompuestos, debido a que la estructura de la bentonita es tipo 2:1 y la de haloisita es tipo 1:1, al ser la estructura menos compacta las películas con haloisita dan paso a la luz y tienen mayor valor de luminosidad (Brigatti, 2006).

En el caso de las películas elaboradas con CMC (Figura 7B) la película control y el grupo de las adicionadas con haloisita tienen valores de luminosidad muy similares. Al adicionar sólo los aceites esenciales la luminosidad disminuye ligeramente, caso contrario al adicionar la bentonita a la formulación de las películas, en este caso la luminosidad es mucho menor siendo más opacas. En ambos polímeros, la haloisita da mayor luminosidad y la bentonita hace las películas más opacas.

En las figuras 8A y 8B se pueden observar las diferencias de color en cada una de las películas analizadas debido al tipo y concentración del agente antimicrobiano, ya sea, los aceites esenciales o los compuestos puros, utilizados en la formulación de las películas. De igual manera, estas diferencias se atribuyen al tipo de nanocompuesto empleado. Se realizó una comparación entre las películas encontrando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), lo que indica que todas las películas son diferentes ópticamente en relación al color.

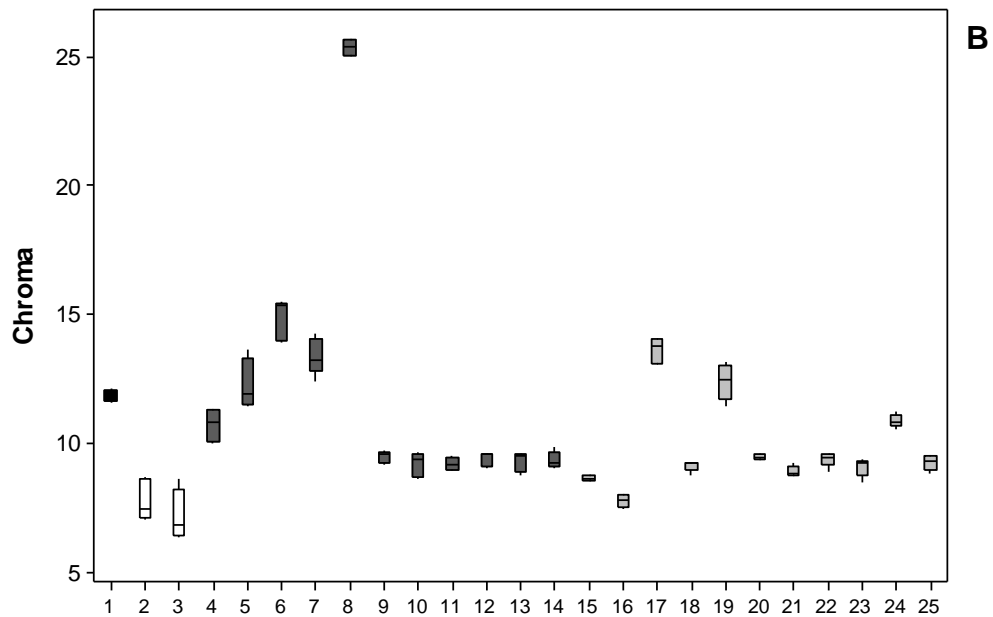
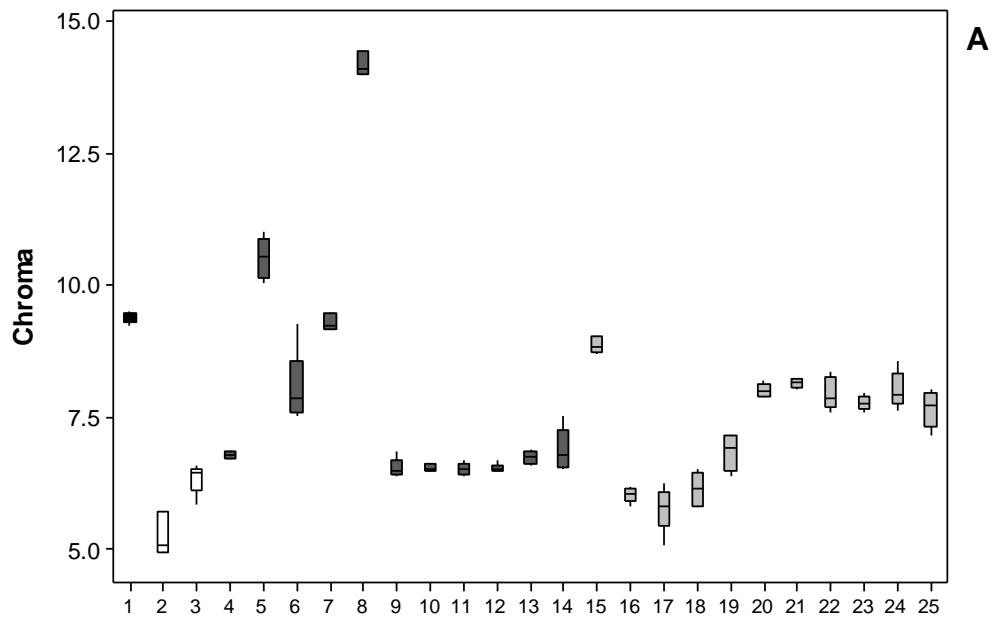
Las películas adquirieron el color propio de los antimicrobianos y de los distintos nanocompuestos, especialmente con estos últimos, debido a que la haloisita tiene un color característico blanco y la bentonita es de color café, dando diferentes tonalidades para cada una de las películas analizadas. Con ambos polímeros, las películas elaboradas con bent+AEO 2% el color se intensificó debido a la concentración del aceite esencial.

En general, dependiendo de la cantidad de nanopartículas añadidas, las películas exhibieron cambios en el brillo y diferentes valores de color, siendo las películas adicionadas con haloisita las más luminosas concordando con los estudios realizados por Ching *et al.* en 2012. Con la adición de la haloisita los valores de luminosidad incrementan al contrario que con bentonita, siendo estos últimos menores.



- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |

Figura 7. Luminosidad de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.



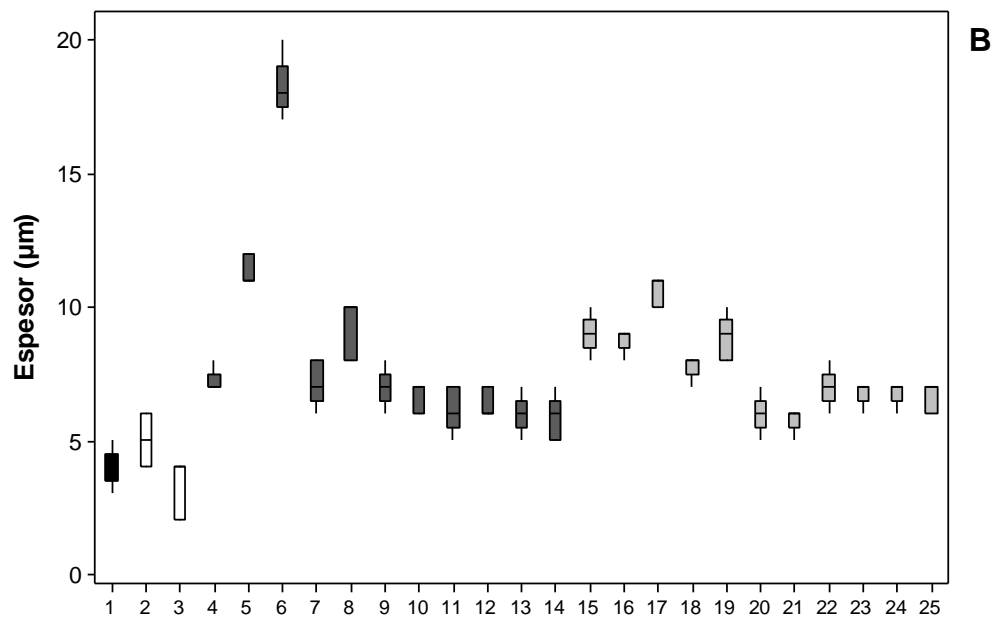
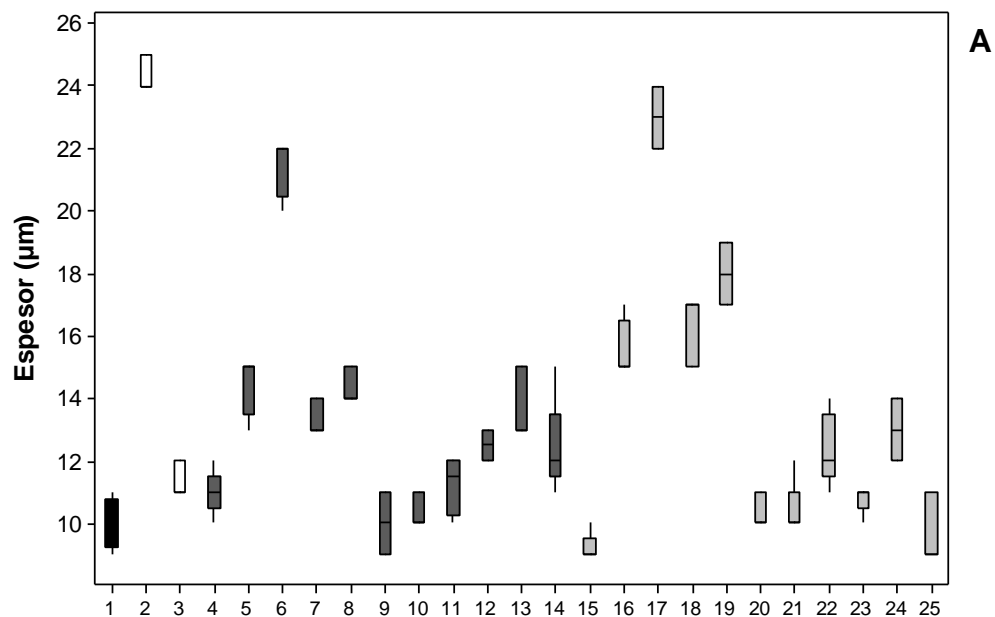
- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |

Figura 8. Chroma de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

## 8.2 Espesor

En ambos casos, las películas control (elaboradas sólo con el polímero) son las de menor espesor, este se ve afectado al adicionar los aceites esenciales debido a que se alojan las moléculas carvacrol, timol o cinamaldehído en las matrices poliméricas. Los espesores de las diferentes películas analizadas aumentan al adicionar los nanocompuestos y los antimicrobianos, excepto en el caso de la película de alm+hal, alm+hal+CA 0.2% y CMC+AEO2%, donde el espesor disminuye más que la película control. Las películas con mayor espesor son las de alm+AEC 4%, alm+bent+AEC 4%, alm+hal+AEC 4% y CMC+bent+AEC 4%, en ambos polímeros se nota como la influencia del AEC en concentración de 4% aumenta el espesor de dichas películas.

En la figura 9B, las películas de CMC con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural tienen valores similares en ambos grupos (bentonita y haloisita). Esto puede deberse a que la mezcla del polímero y los nanocompuestos facilitó la intercalación o exfoliación en las películas analizadas y hubo una distribución de manera homogénea por toda la matriz del polímero. La variación de las películas con respecto al espesor se puede ver afectada por la adición de los diferentes antimicrobianos, debido a que los aceites esenciales están conformados por diversos compuestos a diferencia de los compuestos puros, de igual manera la variación del espesor se debe a la afinidad de los nanocompuestos con el polímero. Cisneros-Zeballos y Krochta (2003), mencionan que el espesor de las películas varía con el contenido en sólidos de las formulaciones, la viscosidad y velocidad de secado.



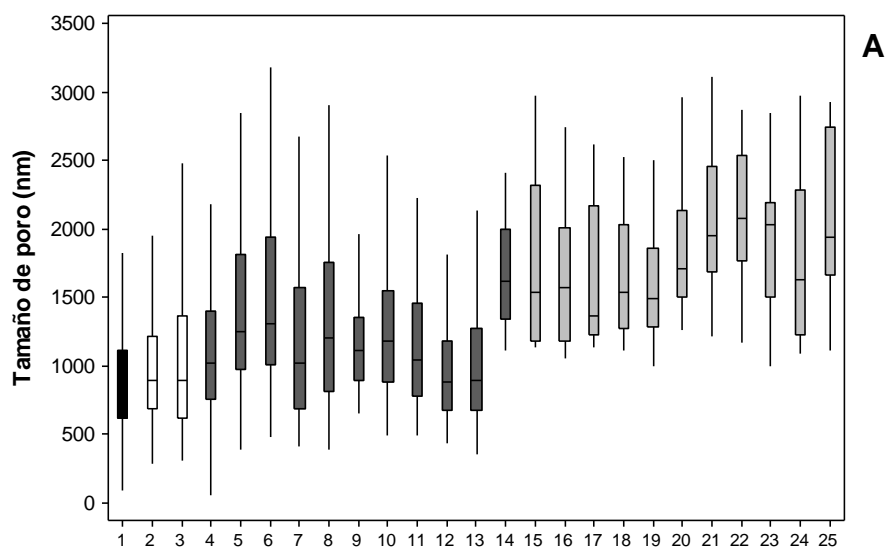
- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |

Figura 9. Espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

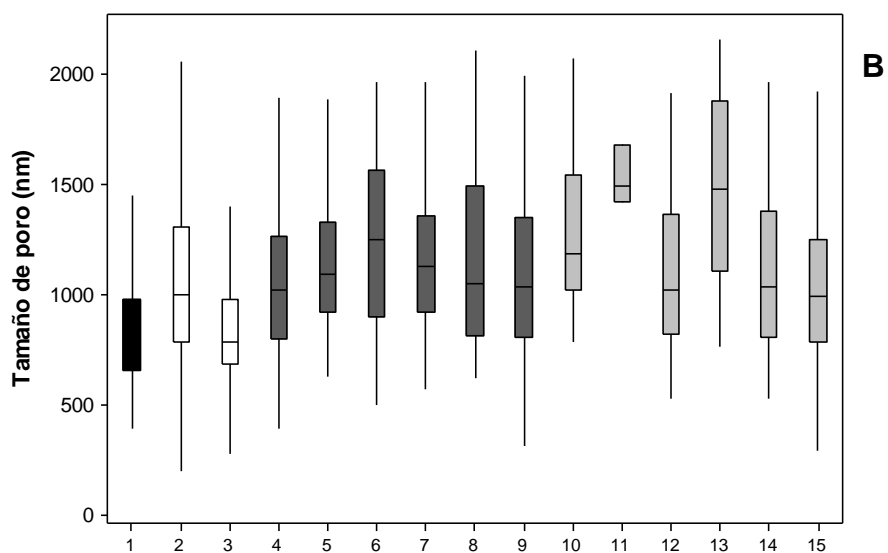
### 8.3 Tamaño de poro

La microscopia de fuerza atómica (AFM por sus siglas en inglés) es de gran utilidad para estudiar la superficies de las películas comestibles elaboradas, debido a que esta permite estudiar la estructura y cómo es que los diferentes componentes empleados en la elaboración de las películas (nanocompuestos y los antimicrobianos de origen natural), interactúan entre sí y las estructuras que forman, para que de esta manera se pueda establecer cómo es que las diferentes estructuras formadas modifican la liberación de los antimicrobianos. La película control muestra un menor tamaño de poro, al adicionar los aceites esenciales el tamaño aumenta, al igual que al incorporar los nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural a diferentes concentraciones. Las películas de almidón adicionadas con haloisita son las que presentan mayor tamaño de poro en comparación con las películas adicionadas con bentonita. En el caso de las películas elaboradas de CMC (Figura 10B), los tamaños de poro son muy similares entre los diferentes grupos.

Las imágenes presentes muestran la microestructura de las películas de almidón modificadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural monitorizadas empleando AFM. En la figura 11A se observa la micrografía de la película de almidón, en donde se observa una alta densidad de poros y micropartículas distribuidos uniformemente. Al adicionar aceites esenciales (11B) tanto la cantidad y el tamaño de los poros aumenta. Con nanocompuestos y antimicrobianos se observa un cambio morfológico evidente en la estructura de las películas, un factor común en estas películas fue la disminución de la densidad de poros. En las figuras 11C y 11D se muestra la morfología de las películas de almidón modificadas con bentonita y haloisita respectivamente, en donde se observa la disminución de poros. Con haloisita, la superficie de la película se ve más uniforme y compacta debido a que en las micrografías obtenidas por AFM se observa una estructura exfoliada a diferencia de las películas con bentonita, en este caso la estructura que se observa en las micrografías es intercalada.



- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |



- |               |                |                |
|---------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEO 2%  | 11 Hal+AEC 4%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+T 0.2%  | 12 Hal+AEO 2%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+C 0.2%  | 13 Hal+T 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+CA 0.2% | 14 Hal+C 0.2%  |
| 5 Bent+AEC 4% | 10 Hal         | 15 Hal+CA 0.2% |

Figura 10. Tamaño de poro (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

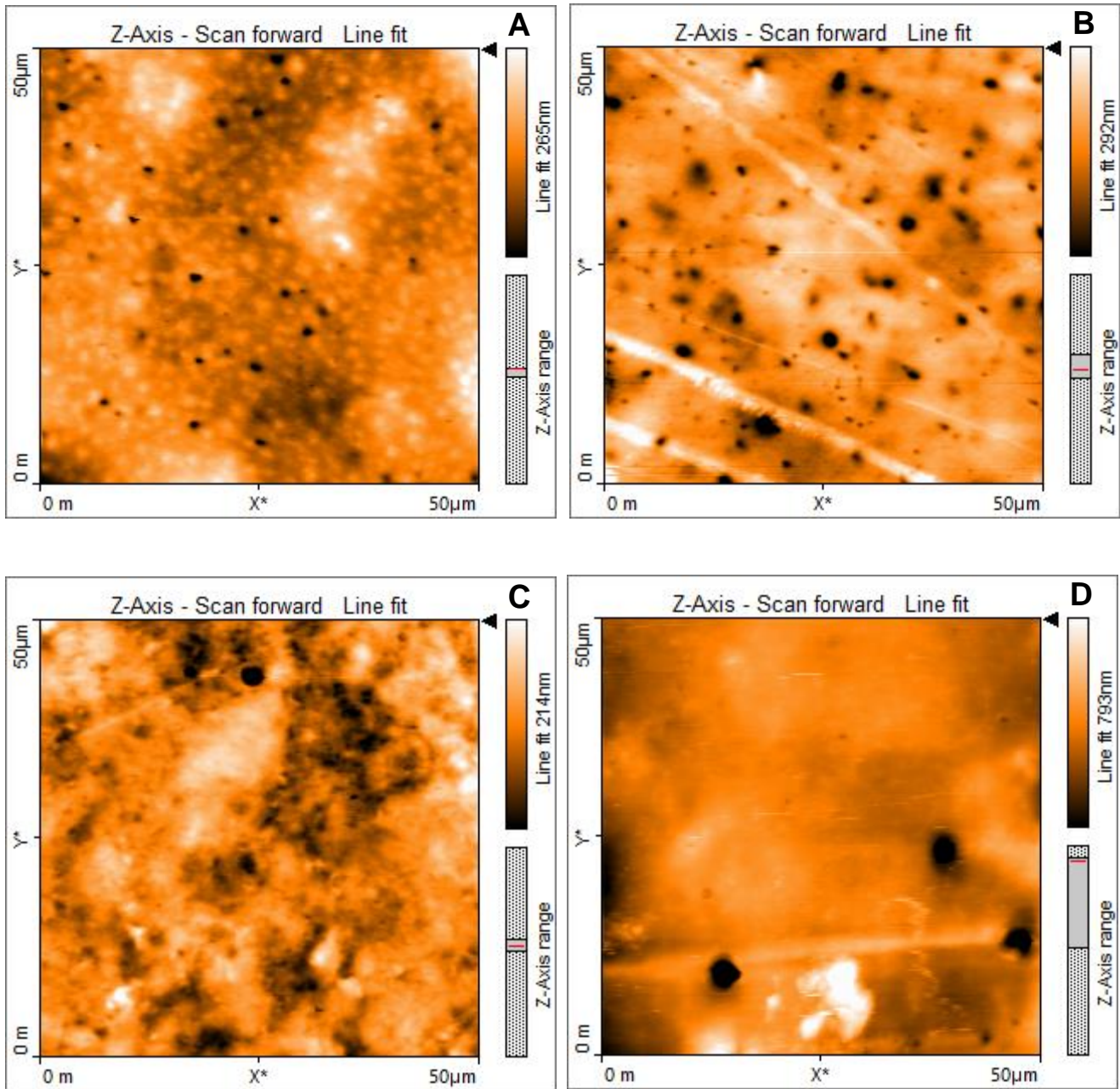


Figura 11. Tamaño de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) Almidón, B) Almidón-AE, C) Almidón-Bentonita, D) Almidón-Haloisita.

En la figura 12A se muestra la imagen de una película elaborada con CMC, la cual es uniforme y presenta mayor cantidad de poros y de menor tamaño que los presentes en la película de almidón (Figura 11A). En la figura 12B se observa que la modificación con el antimicrobiano (aceite esencial) lleva a la formación de poros de mayor tamaño en comparación con la película hecha solamente de CMC.

En la película modificada con bentonita (12C) los poros casi disminuyen en su totalidad y la estructura es más compacta, además de presentar aglomerados y microtubos lo que refleja la naturaleza trilaminar de la bentonita y que al parecer tiende a formar aglomerados. La película modificada con haloisita (12D) muestra la formación de estructuras esféricas, propias de la haloisita con una estructura más uniforme. Con la adición de diversos nanocompuestos se pueden modular las propiedades de las películas y por lo tanto las propiedades de barrera y transporte de gases y materia hacia y desde ellas (Casariego *et al*, 2009). Las imágenes obtenidas mediante AFM muestran que ambos sistemas contienen agujeros profundos correspondientes a nanoporos de diferente distribución de tamaños, esto se atribuye a la estructura química del almidón y CMC, así como a la diferencia de tamaño y forma de cada componente en la película.

Como se observa en las micrografías, al adicionar haloisita da como resultado una estructura exfoliada a diferencia de la bentonita que muestra una estructura intercalada, lo que refleja que la arcilla apilada no interactúa completamente con el polímero de manera contraria a la haloisita. Sin embargo, la exfoliación completa del nanocompuesto dentro del polímero utilizado es muy difícil de lograr.

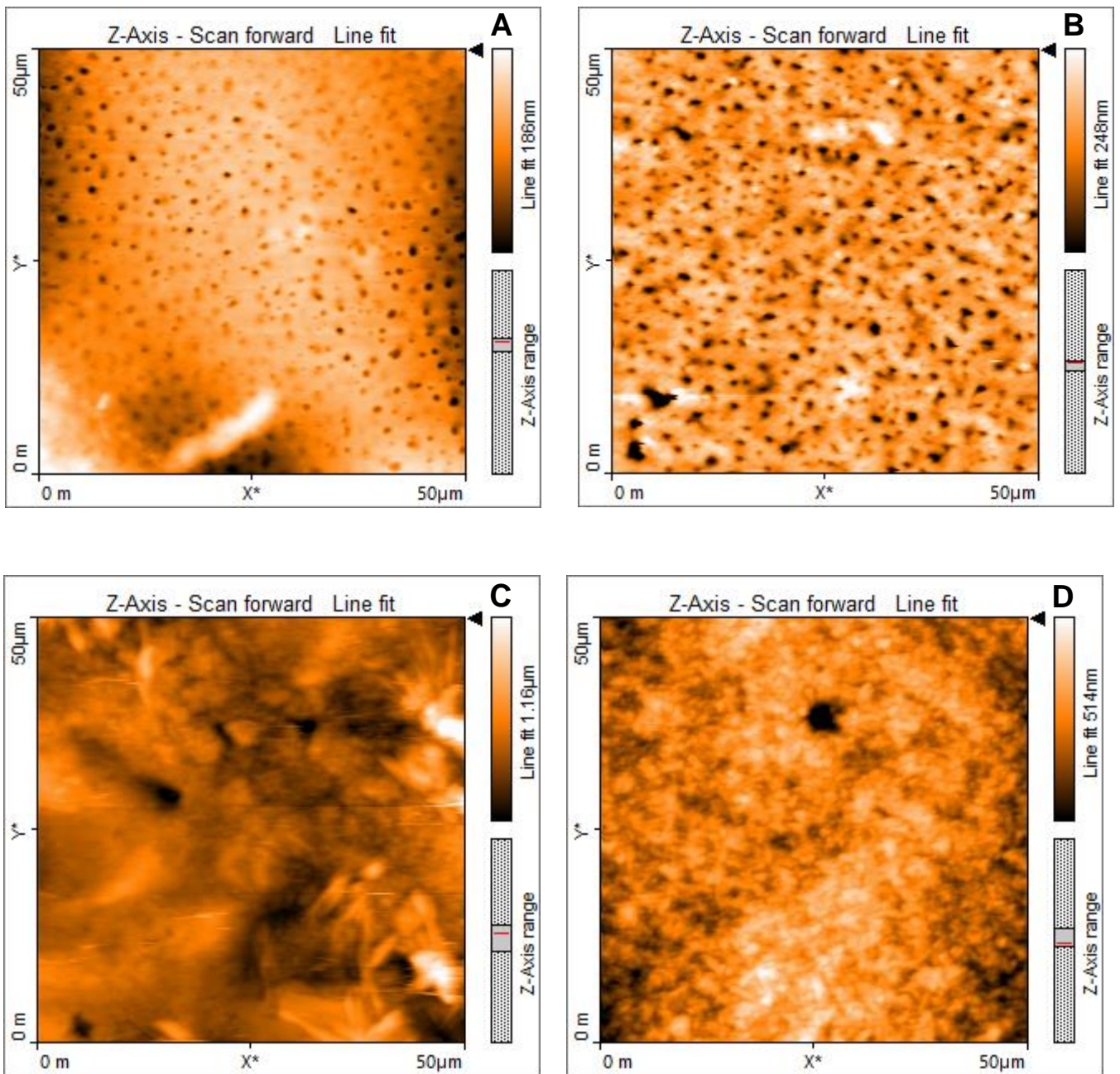


Figura 12. Tamaño de poro de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) CMC, B) CMC-AE C) CMC-Bentonita, D) CMC-Haloisita.

#### 8.4 Profundidad de poro y rugosidad

La profundidad de poro más pequeña (Figura 13A) fue la registrada con la película control y la modificada con bentonita. Al adicionar los aceites esenciales la profundidad de los poros presentes en las películas aumenta, siendo las películas de alm+bent+AEC 4% y alm+hal+AEO 2% las que presentan poros más profundos. Los poros presentes en las películas de CMC son los menos profundos al igual que las películas modificadas con aceites esenciales (Figura 13B) en contraste con los poros de la película CMC+hal+AEC 4% que son los más profundos.

La microscopia de fuerza atómica también es útil para medir la rugosidad superficial de las muestras y es una de las propiedades superficiales más importantes debido a su influencia en las propiedades de flujo y transferencia de masa local. La intensidad del color muestra el perfil vertical de la muestra: la región más clara es el punto más alto, mientras que la región oscura corresponde a una depresión en el material (Manjarrez, 2011). Las películas fabricadas con almidón y la modificada con bentonita son las que presentan menor rugosidad (ver Figura 14A). Al adicionar los diferentes nanocompuestos y los antimicrobianos la rugosidad de las películas aumenta sobre todo al incorporar los aceites esenciales.

En el caso de las películas elaboradas con CMC, la película control y las modificadas con aceites esenciales son las menos rugosas (ver Figura 14B). Al igual que las películas elaboradas con almidón, la rugosidad de las películas CMC aumenta al modificarlas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. Con ambos polímeros, es notable que la rugosidad es mayor en las películas fabricadas con los nanocompuestos y los aceites esenciales, esto se puede deber a la migración de las gotas de los aceites esenciales a la parte superior de la película durante el secado (Shojaee-Aliabadi *et al*, 2014).

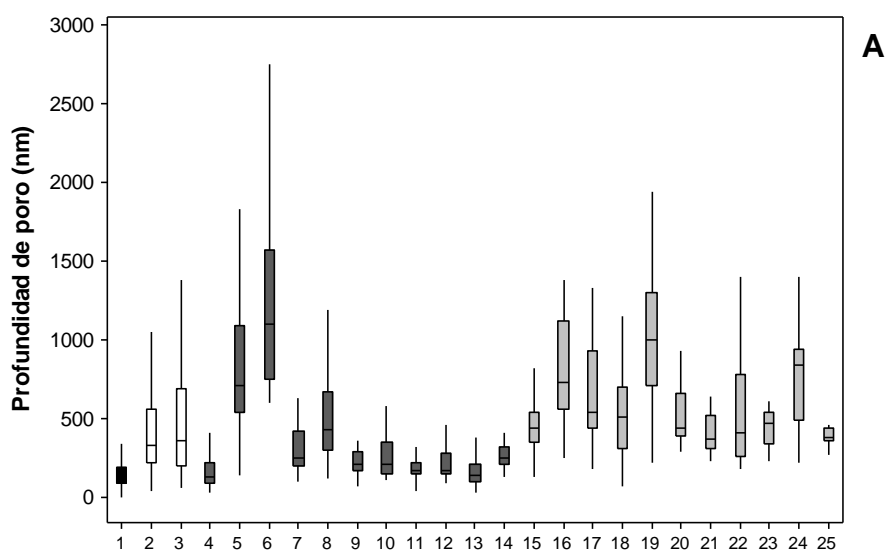
En el caso del almidón (Figura 15A) se puede observar una película con una alta densidad de depresiones profundas que están distribuidas uniformemente en toda el área de la película. Se encontró que estas características son poros de

aproximadamente  $0.5\pm 0.05$   $\mu\text{m}$  de profundidad y  $1.7\pm 0.3$   $\mu\text{m}$  de diámetro según lo estimado a partir de los perfiles de altura. Alcanzar el estado total de exfoliación en todo el nanocompuesto es una tarea muy complicada, debido a la gran área superficial de las nanoarcillas, por ello es posible obtener zonas con láminas exfoliadas, y zonas con láminas intercaladas (Rodríguez, 2016) variando así la rugosidad de las películas analizadas, siendo las más rugosas las adicionadas con los nanocompuestos, en especial con haloisita en ambos polímeros.

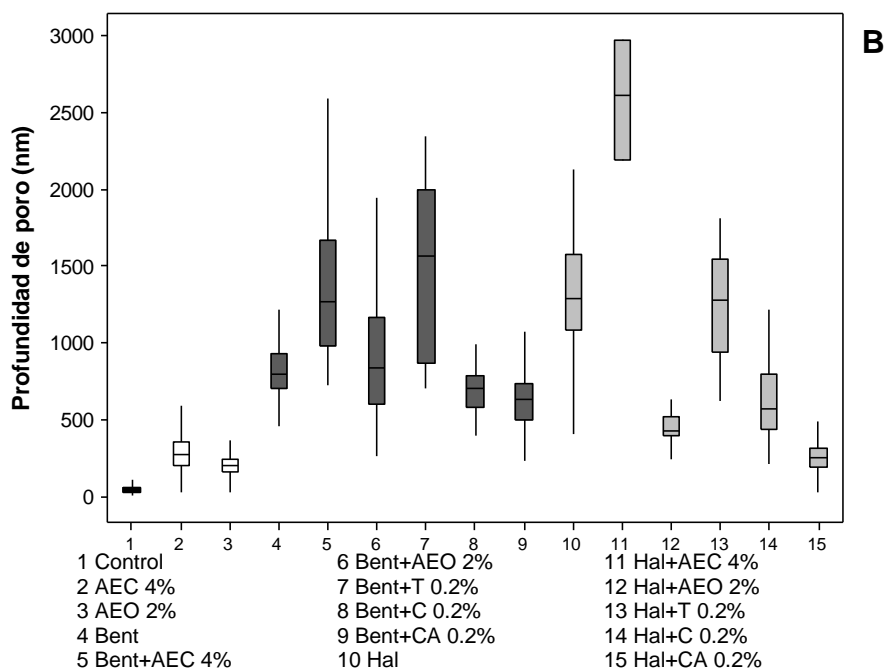
La rugosidad de las películas fabricadas con CMC (Figura 16) al igual que las películas de almidón, se ve alterada al adicionar los diferentes componentes, una vez más la película modificada con haloisita es la que presenta mayor rugosidad y la menor la presenta la película control.

Los nanocompuestos causan un cambio importante en la rugosidad de las películas lo que significa que modifican la textura superficial de estas. Dicha modificación en la superficie aumentó la rugosidad de 33.43 nm en la película control a 213 nm en una película compuesta en el caso de las películas de almidón, por otro lado la rugosidad de las películas de CMC van de 27.03 nm en la película control a 589.86 nm en una película compuesta. Es decir, la presencia de nanocompuestos aumentó la rugosidad en la superficie de las películas compuestas. Este cambio en la textura de la superficie puede deberse a la formación de aglomerados causados por las interacciones entre los componentes en la solución formadora de película y persistió en las películas después del proceso de secado (Flaker *et al*, 2015).

Los valores de la rugosidad de las películas analizadas pueden influir al atrapar partículas de menor tamaño como bacterias o esporas en la superficie de la película comestible, de esta manera los antimicrobianos puedan ejercer su efecto al liberarse de las estructuras formadas.

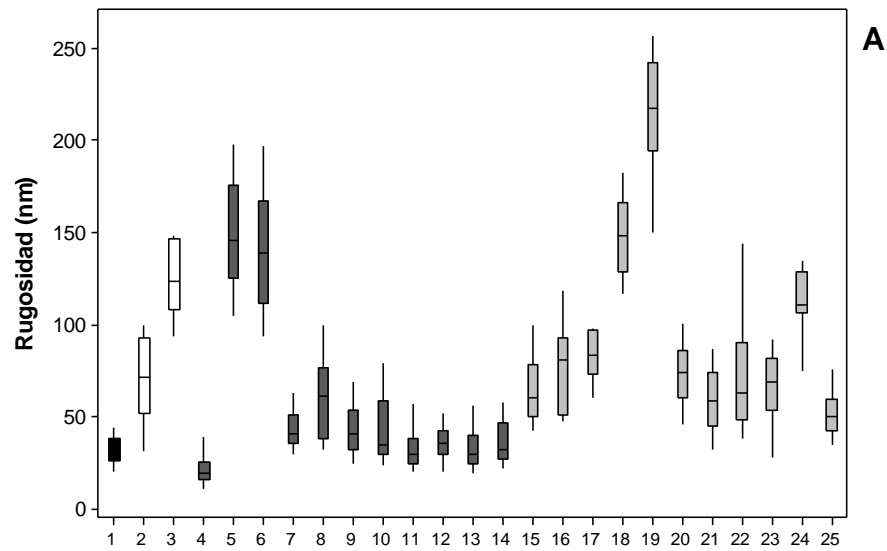


- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |

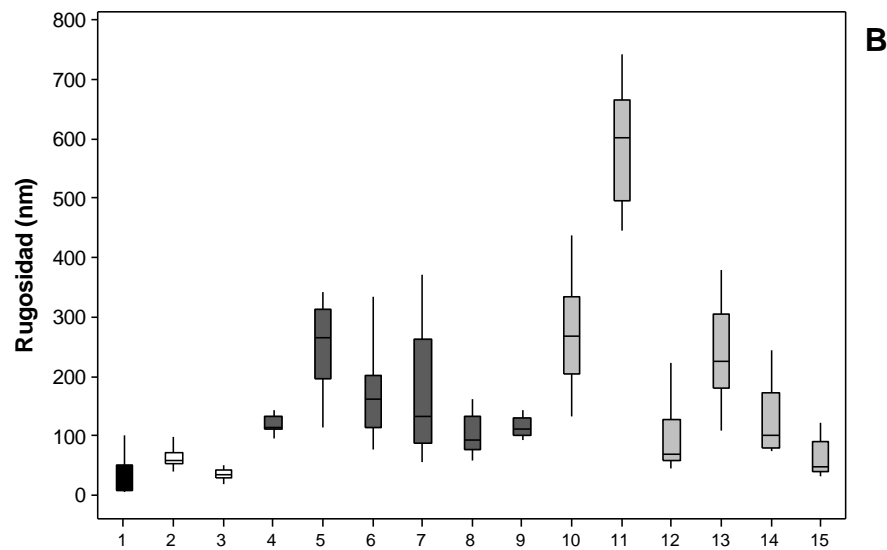


- |               |                |                |
|---------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEO 2%  | 11 Hal+AEC 4%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+T 0.2%  | 12 Hal+AEO 2%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+C 0.2%  | 13 Hal+T 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+CA 0.2% | 14 Hal+C 0.2%  |
| 5 Bent+AEC 4% | 10 Hal         | 15 Hal+CA 0.2% |

Figura 13. Profundidad de poro (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.



- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |



- |               |                |                |
|---------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEO 2%  | 11 Hal+AEC 4%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+T 0.2%  | 12 Hal+AEO 2%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+C 0.2%  | 13 Hal+T 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+CA 0.2% | 14 Hal+C 0.2%  |
| 5 Bent+AEC 4% | 10 Hal         | 15 Hal+CA 0.2% |

Figura 14. Rugosidad (nm) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

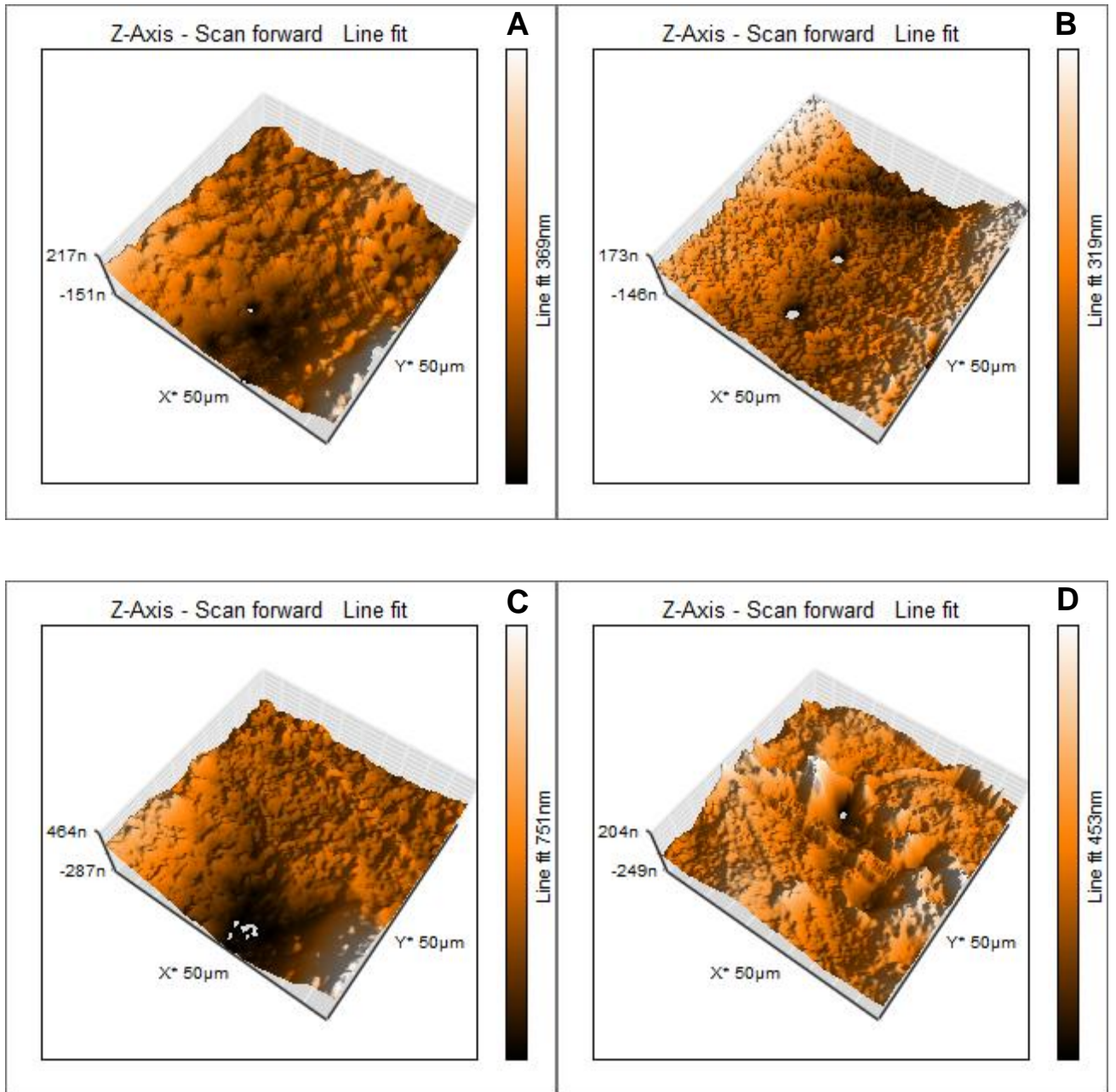


Figura 15. Rugosidad y profundidad de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) Almidón, B) Almidón-AE C) Almidón-Bentonita, D) Almidón-Haloisita.

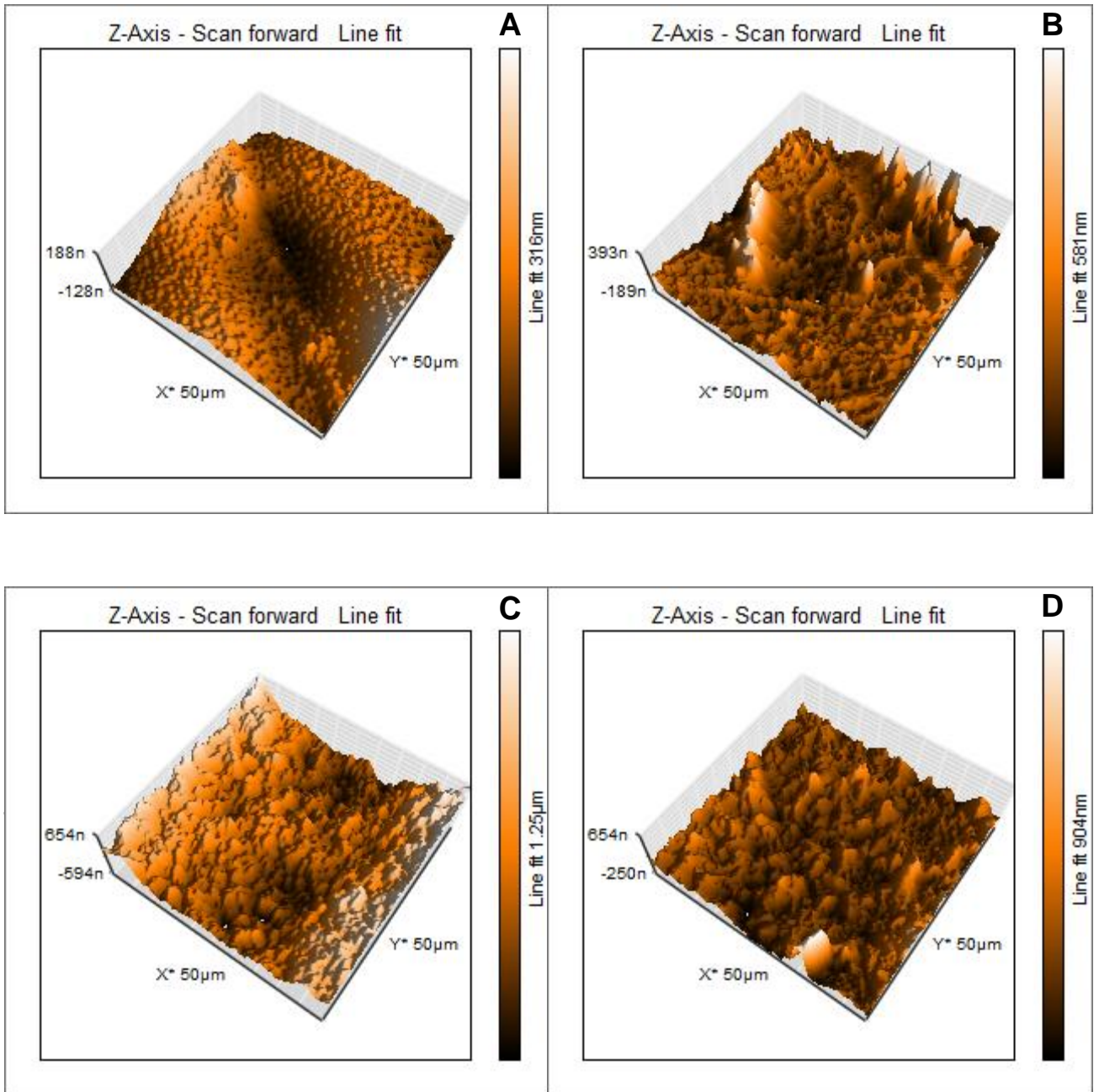


Figura 16. Rugosidad y profundidad de poro de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural obtenidas mediante microscopia de fuerza atómica para A) CMC, B) CMC-AE C) CMC-Bentonita, D) CMC-Haloisita.

### 8.5 Densidad de poros, partículas y fibras

La película control de almidón (Figura 17A) es la que presenta mayor densidad de poros y estas estructuras se mantienen al agregar los aceites esenciales. Con AEC se mantiene la presencia de poros pero la densidad disminuye, al adicionar el nanocompuesto bentonita a la película control, la densidad de poros disminuye considerablemente, aunque los poros presentes son más grandes y la estructura es muy similar a la de una película de alm+bent. Con AEO la densidad de poros disminuye drásticamente comparada al control. Sin embargo al adicionar el nanocompuesto, se observa que la morfología de la película cambia considerablemente, formándose una microestructura fibrosa en tanto que la cantidad de poros disminuye y su tamaño es ligeramente mayor. De modo que no solamente el nanocompuesto cambia las características morfológicas, sino también lo hace la presencia de diferentes tipos de aceites esenciales.

La película de almidón modificada con el nanocompuesto bentonita y combinado con compuestos puros de timol, carvacrol y cinamaldehído en concentraciones bajas (0.1% y 0.2%) al igual que con los aceites esenciales presentaron una microestructura fibrilar en todos los casos. En esta película se presentó además una disminución de la densidad de poros con respecto a una película de almidón (Figura 18). La estructura en las películas de almidón con haloisita y AEC es más compacta, presenta fibras y aglomerados. Además la cantidad presente de los aceites esenciales muestra un efecto en la estructura de las películas modificadas. Al agregar el AEO la estructura cambia, ahora en lugar de mostrarse fibrosa, se observan aglomerados, más acorde a la estructura química estérica de los compuestos presentes en el orégano como son el timol y el carvacrol, de igual manera la cantidad de poros disminuye.

Una característica de las películas modificadas con el nanocompuesto haloisita es la estructura fibrilar y carente de poros. No obstante, con la adición de los antimicrobianos, la estructura fibrilar cambia y se forman aglomerados de diversos tamaños. La estructura varía ligeramente dependiendo del antimicrobiano agregado (timol, carvacrol o cinamaldehído) y también depende de la

concentración de éste en la película. La película fabricada con carboximetilcelulosa (Figura 17B) presenta una menor densidad de poros y de menor tamaño que los observados en una de almidón, sin embargo la densidad de poros aumenta en las películas adicionadas sólo con aceites esenciales.

Al adicionar los nanocompuestos las características morfológicas de las películas cambian, observándose una estructura con gran cantidad de pequeñas partículas de bentonita formando un arreglo tridimensional con algunos poros ocasionales apareciendo en la superficie. Al modificar la película de CMC con el nanocompuesto haloisita, se observa la formación de aglomerados de gran tamaño (15-20  $\mu\text{m}$ ). Con la adición de diversos nanocompuestos se pueden modular sus propiedades y por lo tanto las propiedades de barrera y transporte de gases y materia hacia y desde ellas.

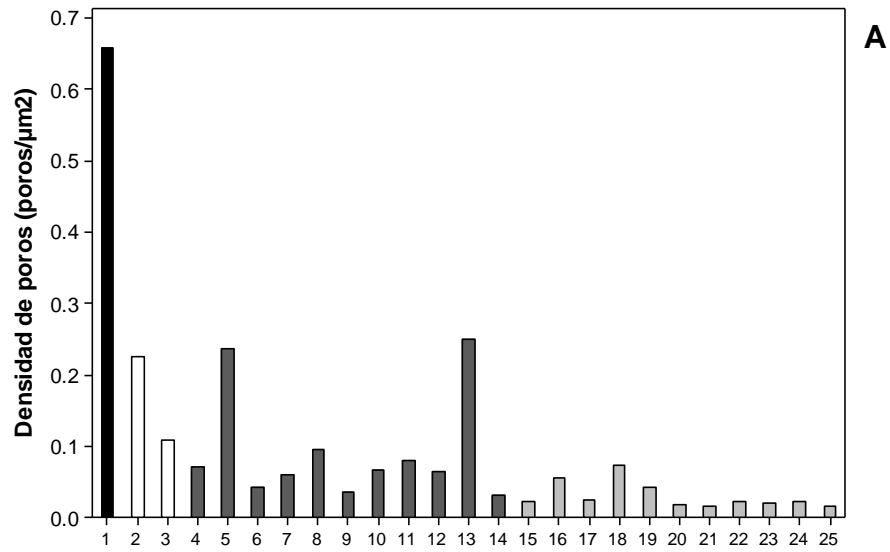
En las películas de CMC, la modificación con el AEC conduce a la formación de poros de mayor tamaño comparada con una película de CMC solamente. Al adicionar el nanocompuesto bentonita, los poros desaparecen y se forman agregados de partículas de aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  de diámetro, distribuidos uniformemente en la película. Con AEO la densidad de poros es mayor que para una película sin modificar y en presencia del nanocompuesto bentonita también se observan aglomerados pero de menor tamaño que en el caso del AEC.

En las películas de CMC modificados con bentonita y compuestos puros (timol, carvacrol y cinamaldehído), las características estructurales dependen significativamente de la estructura química de los antimicrobianos y cambian con respecto a las películas sin modificar. Para los compuestos presentes generalmente en orégano, la estructura tiende a formar aglomerados de partículas grandes en el caso de timol, y partículas más pequeñas y uniformes para el caso de carvacrol. Al usar cinamaldehído la morfología de la superficie cambia completamente a una estructura tipo flor o estrella, lo que revela que el antimicrobiano se dispersa en sitios preferenciales de la matriz de CMC. En las películas de CMC+hal+AEC la estructura consiste de aglomerados grandes, no uniformes, lo que podría estar relacionado con la estructura química y morfológica

del nanocompuesto, disminuyendo la densidad de poros y aumentando la densidad de aglomerados (Figura 19).

En el caso de los compuestos puros, la morfología está definida por la estructura química de los antimicrobianos. Tal es el caso de películas de CMC+hal modificadas con los diversos antimicrobianos. El nanocompuesto le otorga a la CMC una estructura de aglomerados grandes y elimina los poros formados en la película control. Estos aglomerados de partículas, al parecer se rompen en presencia de los antimicrobianos. En el caso de los compuestos que contiene el orégano (timol y carvacrol), su estructura consiste de aglomerados más pequeños. En el caso del timol la estructura es muy uniforme y de gran rugosidad. Al parecer en presencia del carvacrol los aglomerados son más uniformes formando una estructura combinada de aglomerados pequeños con fibras de gran tamaño. En el caso del cinamaldehído la estructura es completamente uniforme y consiste de partículas de tamaño pequeño distribuidas en el superficie completa de la película.

Las micrografías obtenidas mediante AFM evidenciaron que no sólo se forman poros en la estructura de las películas comestibles analizadas, sino que también se forman tubos o fibras y aglomerados de partículas, que aumentan al adicionar los nanocompuestos en estas. Al observar las fibras, tubos o agregados dentro de las micrografías obtenidas, se entiende que las películas obtenidas en su mayoría tienen una estructura intercalada y no completamente exfoliada, una razón de la presencia de estas partículas es la falta de afinidad entre los componentes de las películas comestibles (Sales *et al*, 2017). La presencia de los nanocompuestos en las películas mejora las propiedades de barrera dando lugar a una trayectoria compleja que dificulta la difusión de las moléculas a través de la película, produciendo una disminución de la permeabilidad del agua (Slavutsky, *et al*, 2014).



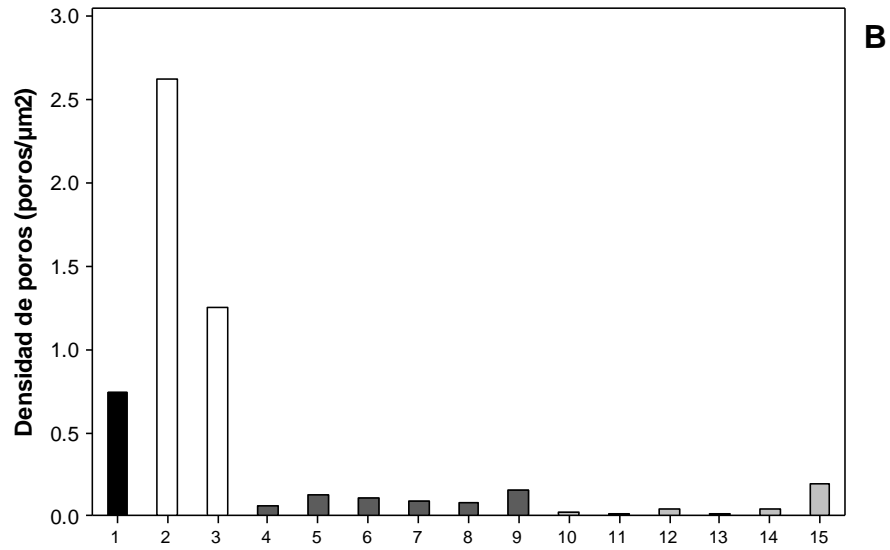
1 Control  
2 AEC 4%  
3 AEO 2%  
4 Bent  
5 Bent+AEC 2%

6 Bent+AEC 4%  
7 Bent+AEO 1%  
8 Bent+AEO 2%  
9 Bent+T 0.1%  
10 Bent+T 0.2%

11 Bent+C 0.1%  
12 Bent+C 0.2%  
13 Bent+CA 0.1%  
14 Bent+CA 0.2%  
15 Hal

16 Hal+ AEC 2%  
17 Hal+AEC 4%  
18 Hal+AEO 1%  
19 Hal+AEO 2%  
20 Hal+T 0.1%

21 Hal+T 0.2%  
22 Hal+C 0.1%  
23 Hal+C 0.2%  
24 Hal+CA 0.1%  
25 Hal+CA 0.2%

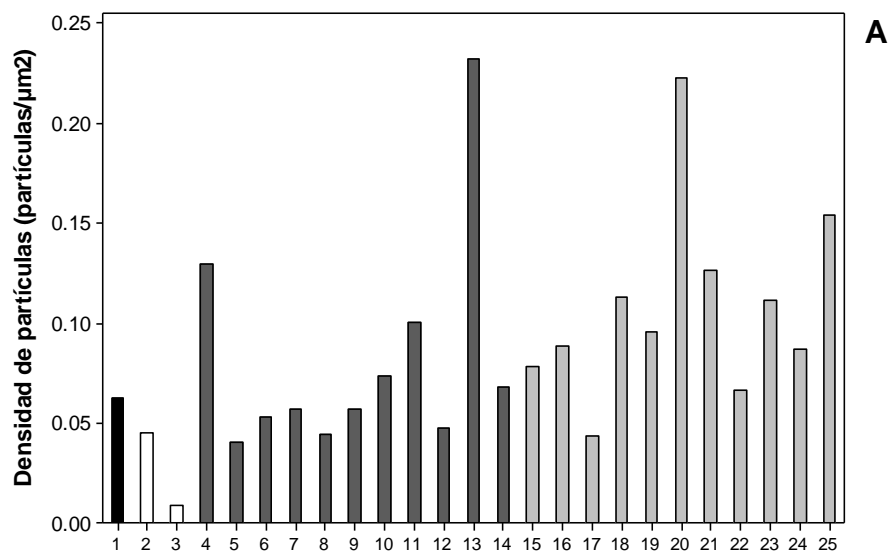


1 Control  
2 AEC 4%  
3 AEO 2%  
4 Bent  
5 Bent+AEC 4%

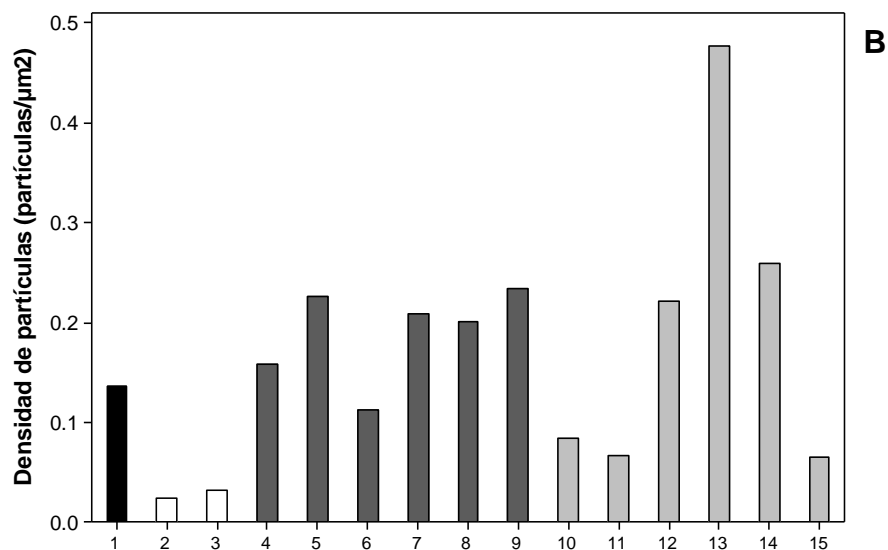
6 Bent+AEO 2%  
7 Bent+T 0.2%  
8 Bent+C 0.2%  
9 Bent+CA 0.2%  
10 Hal

11 Hal+AEC 4%  
12 Hal+AEO 2%  
13 Hal+T 0.2%  
14 Hal+C 0.2%  
15 Hal+CA 0.2%

Figura 17. Densidad de poros ( $\text{poros}/\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

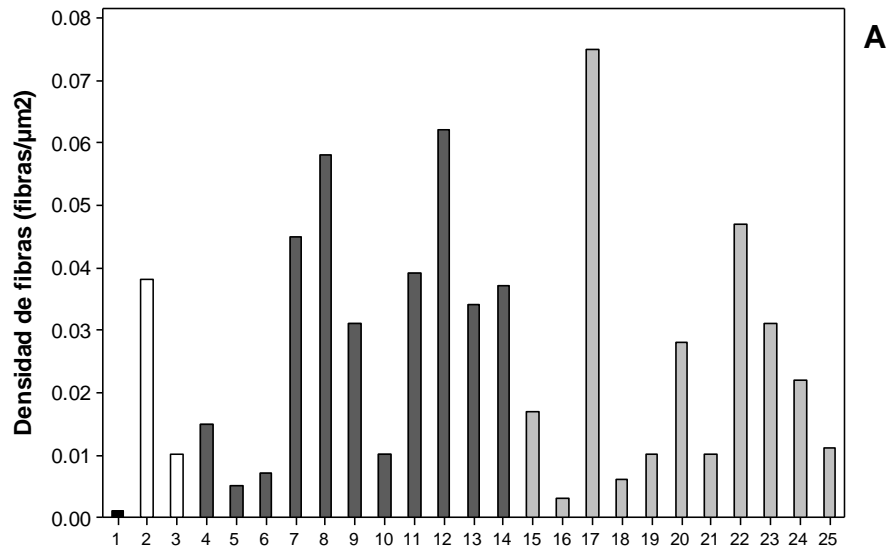


- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |

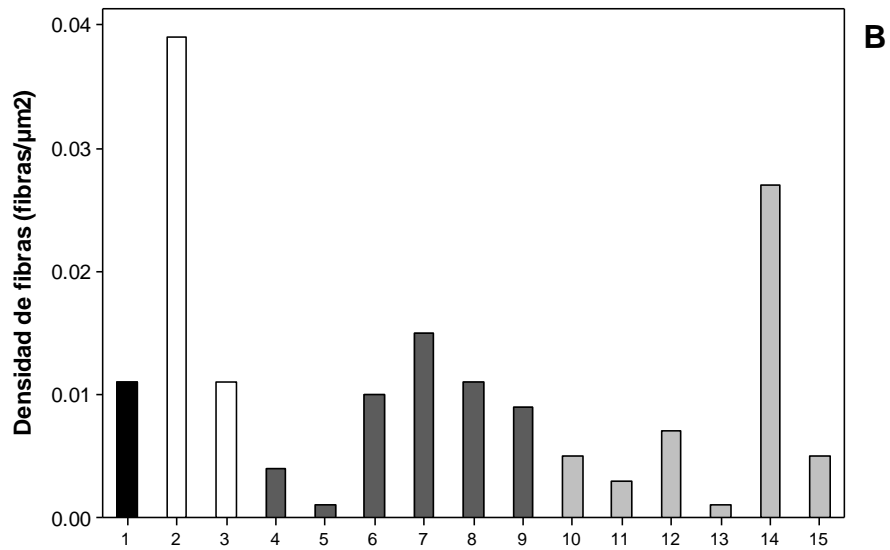


- |               |                |                |
|---------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEO 2%  | 11 Hal+AEC 4%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+T 0.2%  | 12 Hal+AEO 2%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+C 0.2%  | 13 Hal+T 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+CA 0.2% | 14 Hal+C 0.2%  |
| 5 Bent+AEC 4% | 10 Hal         | 15 Hal+CA 0.2% |

Figura 18. Densidad de partículas (partículas/μm<sup>2</sup>) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.



- |               |                |                 |                |                |
|---------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEC 4%  | 11 Bent+C 0.1%  | 16 Hal+ AEC 2% | 21 Hal+T 0.2%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+AEO 1%  | 12 Bent+C 0.2%  | 17 Hal+AEC 4%  | 22 Hal+C 0.1%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+AEO 2%  | 13 Bent+CA 0.1% | 18 Hal+AEO 1%  | 23 Hal+C 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+T 0.1%  | 14 Bent+CA 0.2% | 19 Hal+AEO 2%  | 24 Hal+CA 0.1% |
| 5 Bent+AEC 2% | 10 Bent+T 0.2% | 15 Hal          | 20 Hal+T 0.1%  | 25 Hal+CA 0.2% |



- |               |                |                |
|---------------|----------------|----------------|
| 1 Control     | 6 Bent+AEO 2%  | 11 Hal+AEC 4%  |
| 2 AEC 4%      | 7 Bent+T 0.2%  | 12 Hal+AEO 2%  |
| 3 AEO 2%      | 8 Bent+C 0.2%  | 13 Hal+T 0.2%  |
| 4 Bent        | 9 Bent+CA 0.2% | 14 Hal+C 0.2%  |
| 5 Bent+AEC 4% | 10 Hal         | 15 Hal+CA 0.2% |

Figura 19. Densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de A) almidón y B) CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

## 9. Conclusiones

En las películas comestibles analizadas se observó que la incorporación de nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural modifican notablemente la microestructura de estas.

Las películas comestibles sin nanocompuestos y antimicrobianos mostraron una superficie más suave, sin embargo con la adición de nanocompuestos se indujo cambios en la superficie de las películas al aumentar la rugosidad y se determinó que las películas fabricadas muestran una estructura intercalada, lo cual se puede correlacionar con el alto grado de exfoliación/intercalación de los nanocompuestos dentro del polímero.

## 10. Sugerencias

Evaluar la estructura de películas comestibles de almidón y CMC con los compuestos puros (sin nanocompuestos) mediante microscopía de fuerza atómica en el modo de contacto.

Hacer estudios mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier para proporcionar evidencia de la presencia de interacción entre nanoarcillas y la matriz polimérica.

Hacer pruebas sensoriales de las películas probadas para saber la aceptación en los consumidores.

Realizar pruebas "in vivo" aplicando las películas comestibles analizadas en frutos u hortalizas.

## 11. Bibliografía

1. Abdollahi, M., Rezaei, M. y Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating Rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111, pp. 343-350.
2. Alfonso, C. (2011). Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Tesis de especialidad en ciencia y tecnología de alimentos, Universidad Nacional de Colombia.
3. Ávila-Sosa R. y López-Malo, A. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2* (2), pp. 4-13.
4. Bertuzzi, M., Castro-Vidaurre, E. Armada, M. y Gottifredi, J. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*. (80), (972-8).
5. Binnig, G., Quate, C. y Gerber, C. (1986). Atomic Force Microscope, *Physical Review Letters* 56 (9), pp. 930-933.
6. Bradanovic. (2009). Arcillas y bentonitas, disponible en: <http://www.bradanovic.cl/fortuna/bentonita.pdf>
7. Brigatti, M.F., Galan, E. y Theng, B.K.G. (2006). Structures and Mineralogy of Clay Minerals. En: *Handbook of Clay Science. Developments in Clay Science 1*, pp. 19-86.
8. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (3), pp. 223–253.
9. Calvario, J. (2016). Caracterización del efecto antifúngico de películas comestibles adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural. Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
10. Carriazo, J., Molina, R. y Moreno, S. (2007). Structural and textural characterization of a Colombian bentonite. *Revista Colombiana De Química*, 36 (2), pp. 213-225.

11. Carrillo, A. (2013). Síntesis y caracterización de catalizadores a partir de los metales Cu y Co soportados sobre un mineral de arcilla tipo halloysita para la oxidación total de tolueno. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia.
12. Carrillo, A., Urruchurto, J., Moreno, S., y Molina R. (2014). Structural and textural characterization of a Colombian halloysite. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 13 (2), pp. 1-9.
13. Casariego, A, Souza, B., Cerqueira, M., Teixeira, J., Cruz, L., Díaz, R. y Vicente, A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food hydrocolloids*, 23, pp. 1895-1902.
14. Ching, H., Bhat, R., Mat, A., Liong, M. y Karim, A. (2012). Effect of addition of halloysite nanoclay and SiO<sub>2</sub> nanoparticles on barrier and mechanical properties of bovine gelatin films. *Food Bioprocess Technol*, 5, pp. 1766-1774.
15. Cisneros-Zevallos, L. y Krochta, J. (2003). Dependence of coatings thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *Journal Food Science*, 68 (2), pp 503-510.
16. Coordinacion General de Minería. (2013). Perfil de Mercado de la Bentonita; disponible en: [http://economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/minero/pm\\_bentonita\\_1013.pdf](http://economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/minero/pm_bentonita_1013.pdf)
17. Cruz, M. (2009). Propiedades morfológicas de películas delgadas de Cu<sub>3</sub>BiS<sub>3</sub> a través de la microscopía de fuerza atómica. Tesis de especialidad, Universidad Nacional de Colombia.
18. Davachi, S. y Shekarabi, A. (2018). Preparation and characterization of antibacterial, eco-friendly edible nanocomposite films containing *Salvia macrosiphon* and nanoclay. 113, pp. 66-72.
19. De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E. y Senatore, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils

- from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) ietswaard growing wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*, 14, pp. 2735-2746.
20. Domínguez-Courtney, M.F. y Jiménez-Munguía, M.T. (2012). Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), pp. 110-121.
  21. Dozal, M. (2010). Técnica de análisis de aceite especial de orégano por cromatografía de gases. Residencia profesional, Instituto Tecnológico de Durango.
  22. Durango, A., Soares, N. y Arteaga, M. (2011). Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9 (1), pp. 112-118.
  23. Eita, M., Arwin, H., Granberg, H. y Wågberg, L. (2011). Addition of silica nanoparticles to tailor the mechanical properties of nanofibrillated cellulose thin films. *Journal of Colloid and Interface Scienc*, 363, pp. 566-572.
  24. Fernández, D., Bautista, S., Fernández, D., Ocampo, A., García, A. y Falcón, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24 (3), pp. 52-56.
  25. Fernández, N., Echeverría, D., Mosquera, S. y Paz, S. (2017). Estado actual del uso de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15 (2), pp. 134-141.
  26. Fernández-Pan, I. y Maté, J. I. (2016). Current antimicrobials used for edible films and coatings development. *MOJ Food Processing & Technology*, 2 (6): 00055. DOI: 10.15406/mojfpt.2016.02.00055.
  27. Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R. y Narvaez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva, al uso del propóleo en su formulación. *Rev. Colombiana Cienc. Anim*, 3(2), pp. 386-400.

28. Flekar, C., Lourenço, R., Bittante, A. y Sobral, P. (2015). Gelatin-based nanocomposite films: A study on montmorillonite dispersion methods and concentration. *Journal of food engineering*. 167, pp. 65-70.
29. Franco, E. y MasPOCH, M. (2009). Estructura general de las arcillas utilizadas en la preparación de nanocompuestos poliméricos. *XII (44)*, pp. 35-41.
30. García-García, R. y Palou-García, E. (2008). Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2(2), pp. 41-51.
31. Garde, G. (2013). Cuantificación de la retención de carvacrol y eugenol durante la formación de películas comestibles activas. Tesis de licenciatura, Universidad Pública de Navarra.
32. Garde, G. (2014). Efecto de la adición, tipo y concentración de nanoarcilla sobre las propiedades mecánicas y de barrera de películas biodegradables basadas en quitosano. Licenciatura de maestría, Universidad Pública de Navarra.
33. Giannakas, A., Vlachas, M., Salmas, C., Leontiou, A., Katapodis, P., Stamatis, H. y Barkoula, N-M. (2016). Preparation, characterization, mechanical, barrier and antimicrobial properties of chitosan/PVOH/clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 140, pp. 408-415.
34. Gómez-Sánchez, A.I. y López-Malo, A. (2009). Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), pp. 33-45.
35. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. y Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124, pp. 91-97.
36. Holley, R. y Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essentials oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 46, pp. 273-292.

37. James, S., Powell, L. y Wright, C. (2016). Atomic force microscopy of biofilms-imaging, interactions, and mechanics. <http://dx.doi.org/10.5772/63312>).
38. Joussein, E., Petit, S., Churchman, J., Theng, B., Righi, D. y Delvaux, B. (2005). Halloysite clay minerals: a review. *Clay Minerals* 40, 383-426.
39. Lambert, R., Skandamis, P., Coote, P. y Nychas, G. (2001). A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, pp. 453-462.
40. Lambert, R.J.W. y Pearson, J. (2000). Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. *Journal of Applied Microbiology*, 88, pp. 784-790.
41. López-García, F. y Jiménez-Martínez, C. (2015). Películas biopoliméricas: Aplicaciones para envases y otros productos. En Ramírez-Ortiz, M.E. (Ed.). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. Barcelona, España: OmniaScience. pp.9-36.
42. López-Quezada, M. (2007). Efecto de películas de quitosano hidrofóbicas en la vida de anaquel de fresas (*Fragaria ananassa*) deshidratadas osmóticamente. Tesis de maestría. UDLAP.
43. Manjarrez, L., Ballinas, L., Solís, O., Celzard, A., Fierro, V., Ibarra, R. y González, G. (2011). Biopolymers-based nanocomposites: Membranes from propionated lignin and cellulose for water purification. *Carbohydrate Polymers*, 86, pp. 732-741.
44. Muñoz, J. (2014). Aplicación de película comestible para prolongar la vida de anaquel del champiñón (*Agaricus bisporus*). Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana.
45. Nones, J., Gracher, H., Gonçalves, T. y Nones, J. (2015). Effects of bentonite on different cell types: A brief review. *Applied Clay Science*. pp. 225-230.

46. Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D. & Mauriello, G.. (2007). Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils, J. Agric. Food Chem. 55 pp. 4863–4870.
47. Pastrana, Y., Durango, A. y Acevedo, D. (2017). Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 15 (1), pp. 56-65.
48. Pei, R-S., Zhou, F., Ji, B-P. y Xu, J. (2009). Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. Journal of Food Science, 74 (7), pp. 379-383.
49. Qi, G., Li, N., Sun, X., Shi, Y. y Wang, D. (2016). Effect of glycerol and nanoclay on physiochemical properties of camelia gum-based films. Carbohydrate Polymers, 152, pp. 747-754.
50. Quintanilla, D., García, W., Peña-Parás, L. y Vidaltamayo, R. (2017). Caracterización de compuestos de nanotubos de haloisita y polietilenglicol. Memorias de Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica, 4 (1), pp. 302-306.
51. Quintero, J., Falguera, V. y Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Revista Tumbaga, 5, pp. 93-118.
52. Reséndiz, M. y Castrellón-Urbe, J. (2005). Microscopio de fuerza atómica.
53. Rhim, J-W., Park, H-M. y Ha, C-S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. Progress in Polymer Science, 38, pp. 1629-1652.
54. Rodríguez, S. (2016). Desarrollo de nanocompuestos obtenidos a partir de biopolímeros de algas *Chondracanthus chamissoi* y *Nostoc commune* empleando nano refuerzos de almidón, arcilla y quitina. Tesis de maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú.
55. Romero-Bastida, C.A., Zamudio-Flores, P.B. y Bello-Pérez, L.A. (2011). Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 10,(3), pp. 445-453.

56. Rubilar, J., Candia, D., Cobos, A., Díaz, O. y Pedreschi, F. (2016). Effect of nanoclay and ethyl-N $\alpha$ -dodecanoyl-L-arginate hydrochloride (LAE) on physico-mechanical properties of chitosan films. *LWT-Food Science and Technology*, 72, pp. 206-214.
57. Ruelas-Chacón, X., Reyes-Vega, M., Valdivia-Urdiales, B., Contreras-Esquivel, J., Montañez-Saenz, J., Aguilera-Carbó, A. y Peralta-Rodríguez, R. (2013). Conservación de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas con recubrimientos comestibles. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(9), pp. 31-37.
58. Sáenz, H. (2014). Caracterización fisicoquímica de ultrafinos de arcillas y su efecto sobre comportamiento reológico. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia.
59. Sales, M., Leal, V., Gomes, F., de Lima, R., Mendes, E., da Silva, R. y de Oliveira, K. (2017). Analysis of wáter barrier, mechanical and termal properties of nanocomposites base don cassava starch and natural clay of modified by anionic Exchange. *Materials Research*, 2, pp. 69-76.
60. Salgado, P., Ortíz, C., Musso, Y., Di Giorgio, L. y Mauri, A. (2015). Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, 5, pp. 86-92.
61. Santiago, M. (2015). Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado. Tesis de maestria en ciencias alimentarias, Universidad Veracruzana.
62. Silvera, C., Escobar, D., Repiso, L. y Márquez, R. (2012). Aplicaciones de películas y cubiertas comestibles y métodos combinados para mejorar sus propiedades. pp. 497-518.
63. Shojaee-Aliabadi, S., Mohammadifar, M., Hosseini, H., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S., Haghshenas, M. y Khaksar, R. (2014). Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with *Zataria multiflora* essential oil and nanoclay. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, pp 282-289.

64. Slavutsky, A., Armada, M. y Bertuzzi, A. (2010). Mejora de las propiedades de películas de almidón mediante el agregado de nanoarcillas. pp. 1-11.
65. Slavutsky, A., Bertuzzi, M., Armada, M., García, M. y Ochoa, N. (2014). Preparation and characterization of montmorillonite/brea gum nanocomposites films. *Food Hydrocolloids*, 35, pp. 270-278.
66. Trujillo, N., Pérez, J. y Durán, D. (2012). Empleo de recubrimientos comestibles con base en almidón de papa y yucca en la conservación del mango cv. Zapote. *Alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 10 (1), pp. 5-17.
67. Ultee, A., Bennink, M. H. J. y Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (4), pp. 1561-1568.
68. Umaña G., Loría C., Gómez J.. (2011) Efecto del grado de madurez y las condiciones de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas de la papaya híbrido pococí. *Agronomía Costarricense*, 35 (2), pp 61-73.
69. Wang, M., Wang, Z., Li, S., Wang, Z. y Zhao, J. (2015). Mediated electrochemical method for the analysis of membrane damage effects of phenolic compounds to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 757, pp. 44-50.
70. Yang, L., Wang, K., Tan, W., He, X., Jin, R., Li, J. y Li, H. (2006). Atomic force microscopy study of different effects of natural and semisynthetic  $\beta$ -lactam on the cell envelope of *Escherichia coli*. *Analytical Chemistry*, 78(20), pp. 7341-7345.
71. Zambrano, M. (2013). Desarrollo y caracterización de sistemas nanoparticulados con ingredientes alimenticios como vectores para incrementar la vida útil de alimentos. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Querétaro.

## 12. Anexos

Anexo 1. Tabla de luminosidad de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Luminosidad de películas de almidón	Media
Alm	93.77±0.09 <sup>a</sup>
Alm+Hal	93.46±0.08 <sup>a</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	91.06±0.13 <sup>b</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	91.01±0.19 <sup>b</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	90.72±0.44 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+C 0.1%	90.71±0.35 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+C 0.2%	90.68±0.19 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	90.62±0.26 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+AEO 2%	90.44±0.41 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	90.34±0.52 <sup>b,c</sup>
Alm+Bent	90.15±0.14 <sup>c</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	89.17±0.26 <sup>d</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	88.82±0.42 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	88.75±0.17 <sup>d,e</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	88.75±0.41 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	88.71±0.31 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	88.62±0.17 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	88.55±0.27 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	88.48±0.29 <sup>d,e</sup>
Alm+AEO 2%	88.27±0.16 <sup>e,f</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	87.61±0.43 <sup>f,g</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	87.51±0.33 <sup>g</sup>
Alm+Bent+AEO 2%	86.43±0.26 <sup>h</sup>
Alm+AEC 4%	86.42±0.30 <sup>h</sup>
Alm+Bent+AEC 4%	83.26±34.8 <sup>i</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 2. Tabla de luminosidad de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Luminosidad de películas de CMC	Media
CMC+Hal+C 0.1%	92.85±0.19 <sup>a</sup>
CMC+Hal+T 0.1%	92.50±0.23 <sup>a,b</sup>
CMC+Hal+CA 0.2%	92.33±0.27 <sup>a,b,c</sup>
CMC+Hal+C 0.2%	92.32±0.34 <sup>a,b,c</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	92.30±0.17 <sup>a,b,c</sup>
CMC+Hal	92.20±0.12 <sup>a,b,c,d</sup>
CMC	92.18±0.14 <sup>a,b,c,d</sup>
CMC+Hal+CA 0.1%	91.71±0.17 <sup>b,c,d</sup>
CMC+Hal+AEC 2%	91.57±0.15 <sup>c,d</sup>
CMC+AEO 2%	91.28±0.52 <sup>d</sup>
CMC+AEC 4%	91.23±0.59 <sup>d</sup>
CMC+Hal+AEO 1%	88.80±0.26 <sup>e</sup>
CMC+Bent+CA 0.1%	88.70±0.15 <sup>e</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	88.63±0.35 <sup>e,f</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	88.44±0.44 <sup>e,f</sup>
CMC+Bent+C 0.1%	88.16±0.27 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	88.08±0.19 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+T 0.1%	88.03±0.26 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+AEC 4%	87.66±0.52 <sup>f,g,h</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	87.30±0.09 <sup>g,h</sup>
CMC+Bent	86.90±0.60 <sup>h,i</sup>
CMC+Bent+AEC 2%	86.07±0.43 <sup>i,j</sup>
CMC+Bent+AEO 1%	85.88±0.35 <sup>j</sup>
CMC+Bent+AEC 4%	84.51±0.57 <sup>k</sup>
CMC+Bent+AEO 2%	83.15±0.77 <sup>l</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 3. Tabla de chroma de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Chroma de películas de almidón	Media
Alm+Bent+AEO 2%	14.19±0.23 <sup>a</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	10.51±0.39 <sup>b</sup>
Alm	9.39±0.10 <sup>c</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	9.28±0.16 <sup>c</sup>
Alm+Hal	8.87±0.14 <sup>c</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	8.14±0.09 <sup>d</sup>
Alm+Bent+AEC 4%	8.03±0.70 <sup>d</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	8.02±0.35 <sup>d</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	8.00±0.13 <sup>d</sup>
Alm+Hal+C 0.1%	7.96±0.30 <sup>d</sup>
Alm+Hal+0.2%	7.76±0.13 <sup>d</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	7.65±0.33 <sup>d</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	6.88±0.40 <sup>e</sup>
Alm+Hal+AEO 2%	6.84±0.35 <sup>e,f</sup>
Alm+Bent	6.77±0.05 <sup>e,f</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	6.73±0.11 <sup>e,f</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	6.53±0.07 <sup>e,f,g</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	6.53±0.06 <sup>e,f,g</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	6.53±0.18 <sup>e,f,g</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	6.51±0.11 <sup>e,f,g</sup>
Alm+AEO 2%	6.32±0.27 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	6.12±0.31 <sup>f,g,h</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	6.03±0.14 <sup>g,h</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	5.75±0.42 <sup>h,i</sup>
Alm+AEC 4%	5.23±0.41 <sup>i</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 4. Tabla de chroma de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Chroma de películas de CMC	Media
CMC+Bent+AEO 2%	27.22±1.83 <sup>a</sup>
CMC+Bent+AEC 4%	14.84±0.76 <sup>b</sup>
CMC+Hal+AEC 4%	14.41±1.15 <sup>b</sup>
CMC+Bent+AEO 1%	13.37±0.70 <sup>b,c</sup>
CMC+Bent+AEC 2%	12.31±0.95 <sup>c,d</sup>
CMC	11.80±0.21 <sup>c,d</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	11.54±1.96 <sup>d</sup>
CMC+Hal+CA 0.1%	10.86±0.23 <sup>d,e</sup>
CMC+Bent	10.68±0.61 <sup>d,e,f</sup>
CMC+Bent+T 0.1%	9.46±0.23 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+T 0.1%	9.45±0.08 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	9.37±0.27 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+C 0.1%	9.35±0.27 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	9.33±0.31 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+CA 0.1%	9.29±0.37 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+CA 0.2%	9.22±0.28 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+C 0.1%	9.19±0.23 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	9.16±0.48 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+AEO 1%	9.11±0.20 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+C 0.2%	9.07±0.34 <sup>f,g</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	8.89±0.19 <sup>g,h</sup>
CMC+Hal	8.62±0.11 <sup>g,h</sup>
CMC+AEC 4%	7.75±0.77 <sup>g,h</sup>
CMC+Hal+AEC 2%	7.74±0.24 <sup>g,h</sup>
CMC+AEO 2%	7.20±0.97 <sup>h</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 5. Tabla de espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Espesor de películas de almidón	Media ( $\mu\text{m}$ )
Alm+AEC 4%	24.33 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	23.00 $\pm$ 1.41 <sup>a,b</sup>
Alm+Bent+AEC 4%	21.40 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>
Alm+Hal+AEO 2%	18.00 $\pm$ 1.00 <sup>c</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	16.33 $\pm$ 1.15 <sup>c,d</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	15.60 $\pm$ 0.89 <sup>c,d</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	14.40 $\pm$ 0.89 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+AEO 2%	14.33 $\pm$ 0.57 <sup>d,e</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	13.66 $\pm$ 1.15 <sup>d,e,f</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	13.40 $\pm$ 0.54 <sup>e,f</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	13.00 $\pm$ 1.00 <sup>e,f,g</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	12.50 $\pm$ 0.70 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+Hal+C 0.1%	12.40 $\pm$ 1.14 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	12.40 $\pm$ 1.51 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+AEO 2%	11.40 $\pm$ 0.54 <sup>f,g,h</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	11.25 $\pm$ 0.95 <sup>f,g,h,i</sup>
Alm+Bent	11.00 $\pm$ 0.70 <sup>g,h,i</sup>
Alm+Hal+0.2%	10.80 $\pm$ 0.44 <sup>g,h,i</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	10.40 $\pm$ 0.89 <sup>h,i</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	10.40 $\pm$ 0.54 <sup>h,i</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	10.40 $\pm$ 0.54 <sup>h,i</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	10.00 $\pm$ 1.00 <sup>h,i</sup>
Alm	10.00 $\pm$ 0.81 <sup>h,i</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	9.80 $\pm$ 1.09 <sup>h,i</sup>
Alm+Hal	9.20 $\pm$ 0.44 <sup>i</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 6. Tabla de espesor ( $\mu\text{m}$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Espesor de películas de CMC	Media( $\mu\text{m}$ )
CMC +Bent+AEC 4%	18.20 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>
CMC +Bent+AEC 2%	11.33 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup>
CMC+Hal+AEC 4%	10.60 $\pm$ 0.54 <sup>b,c</sup>
CMC +Bent+AEO 2%	9.33 $\pm$ 1.15 <sup>b,c,d</sup>
CMC+Hal	9.00 $\pm$ 0.70 <sup>c,d</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	8.80 $\pm$ 0.83 <sup>d,e</sup>
CMC+Hal+AEC 2%	8.80 $\pm$ 0.44 <sup>d,e</sup>
CMC+Hal+AEO 1%	7.80 $\pm$ 0.44 <sup>d,e,f</sup>
CMC +Bent+AEO 1%	7.20 $\pm$ 0.83 <sup>e,f,g</sup>
CMC +Bent	7.20 $\pm$ 0.44 <sup>e,f,g</sup>
CMC+Hal+C 0.1%	7.00 $\pm$ 0.70 <sup>f,g</sup>
CMC+Bent+T 0.1%	7.00 $\pm$ 0.70 <sup>f,g</sup>
CMC+Hal+CA 0.1%	6.80 $\pm$ 0.44 <sup>f,g</sup>
CMC+Hal+0.2%	6.80 $\pm$ 0.44 <sup>f,g</sup>
CMC Hal+CA 0.2%	6.60 $\pm$ 0.54 <sup>f,g,h</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	6.60 $\pm$ 0.54 <sup>f,g,h</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	6.40 $\pm$ 0.54 <sup>f,g,h</sup>
CMC+Bent+C 0.1%	6.20 $\pm$ 0.83 <sup>f,g,h</sup>
CMC+Hal+T 0.1%	6.00 $\pm$ 0.70 <sup>g,h</sup>
CMC+Bent+CA 0.1%	6.00 $\pm$ 0.70 <sup>g,h</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	5.80 $\pm$ 0.44 <sup>g,h</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	5.80 $\pm$ 0.83 <sup>g,h</sup>
CMC+AEC 4%	5.00 $\pm$ 1.00 <sup>h,i</sup>
CMC	4.00 $\pm$ 0.70 <sup>i,j</sup>
CMC +AEO 2%	3.20 $\pm$ 1.09 <sup>j</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 7. Tabla de tamaño de poro (nm) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Tamaño de poro de películas de almidón	Media (nm)
Alm+Hal+C 0.1%	2103.3±477.3 <sup>a</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	2080.4±583.8 <sup>a</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	2067.6±545.2 <sup>a,b</sup>
Alm+Hal+0.2%	2004.4±685.5 <sup>a,b</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	1848.0±453.8 <sup>a,b,c</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	1782.9±596.4 <sup>a,b,c,d</sup>
Alm+Hal	1709.6±593.1 <sup>a,b,c,d,e</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	1677.8±1532.2 <sup>a,b,c,d,e</sup>
Alm+Bent+AEC 4%	1673.9±1309.7 <sup>a,b,c,d,e</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	1657.1±506.5 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	1657.0±397.4 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	1653.6±544.4 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	1647.6±435.2 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Hal+AEO 2%	1625.0±468.6 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+AEO 2%	1418.2971.6 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	1350.8±854.1 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	1256.4±713.4 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent	1209.5±885.5 <sup>b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	1197.5±597.0 <sup>b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	1161.1±470.0 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	1146.5±819.4 <sup>c,d,e,f</sup>
Alm+AEO 2%	1100.9±657.2 <sup>d,e,f</sup>
Alm+AEC 4%	998.6±482.0 <sup>e,f</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	960.0±401.2 <sup>e,f</sup>
Alm	904.5±421.4 <sup>f</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 8. Tabla de tamaño de poro (nm) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Tamaño de poro de películas de CMC	Media(nm)
CMC+Hal+AEC 4%	1532.0±133.1 <sup>a</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	1480.5±455.4 <sup>a</sup>
CMC +Bent+AEO 2%	1329.1±1062.6 <sup>a</sup>
CMC+Hal	1300.5±395.1 <sup>a</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	1234.9±569.3 <sup>a</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	1177.7±404.2 <sup>a</sup>
CMC +Bent+AEC 4%	1160.7±332.9 <sup>a</sup>
CMC+Hal+0.2%	1099.1±375.9 <sup>a</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	1094.4±409.5 <sup>a</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	1093.0±334.2 <sup>a</sup>
CMC +Bent	1082.7±355.1 <sup>a</sup>
CMC+AEC 4%	1076.1±506.4 <sup>a</sup>
CMC Hal+CA 0.2%	1049.8±353.1 <sup>a</sup>
CMC +AEO 2%	845.4±271.7 <sup>a</sup>
CMC	834.6±240.7 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 9. Tabla de profundidad de poro (nm) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Profundidad de poro de películas de almidón	Media (nm)
Alm+Bent+AEC 4%	1305.6±685.7 <sup>a</sup>
Alm+Hal+AEO 2%	1016.3±398.6 <sup>b</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	874.1±468.4 <sup>b,c</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	815.7±375.0 <sup>b,c,d</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	799.0±347.4 <sup>b,c,d</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	739.1±554.2 <sup>c,d,e</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	620.5±446.5 <sup>d,e,f</sup>
Alm+Hal+C 0.1%	611.1±490.6 <sup>d,e,f,g</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	537.4±197.0 <sup>d,e,f,g,h</sup>
Alm+AEO 2%	522.3±478.2 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+Bent+AEO 2%	518.7±292.5 <sup>e,f,g,h</sup>
Alm+Hal	471.5±172.6 <sup>e,f,g,h,i</sup>
Alm+Hal+0.2%	463.6±154.8 <sup>e,f,g,h,i,j</sup>
Alm+AEC 4%	422.7±285.9 <sup>g,h,i,j</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	402.8±134.7 <sup>f,g,h,i,j,k</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	401.7±99.7 <sup>f,g,h,i,j,k</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	359.5±551.1 <sup>g,h,i,j,k</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	334.3±196.1 <sup>h,i,j,k</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	265.7±127.4 <sup>i,j,k</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	231.5±147.4 <sup>j,k</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	229.4±66.4 <sup>j,k</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	216.9±90.8 <sup>k</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	174.4±87.6 <sup>k</sup>
Alm+Bent	156.6±81.7 <sup>k</sup>
Alm	150.8±78.3 <sup>k</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 10. Tabla de profundidad de poro (nm) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Profundidad de poro de películas de CMC	Media (nm)
CMC+Hal+AEC 4%	2590.0±390.4 <sup>a</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	1496.9±567.1 <sup>b</sup>
CMC+Hal	1477.6±720.1 <sup>b,c</sup>
CMC +Bent+AEC 4%	1345.7±469.9 <sup>c,d</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	1235.2±378.0 <sup>d</sup>
CMC +Bent+AEO 2%	949.0±429.7 <sup>e</sup>
CMC +Bent	838.6±284.7 <sup>f</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	691.0±161.7 <sup>g</sup>
CMC+Hal+0.2%	687.9±390.3 <sup>g</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	643.0±213.9 <sup>g</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	524.3±355.9 <sup>h</sup>
CMC+AEC 4%	286.5±164.8 <sup>i</sup>
CMC Hal+CA 0.2%	280.9±160.8 <sup>i</sup>
CMC +AEO 2%	205.0±89.4 <sup>l</sup>
CMC	61.0±86.8 <sup>k</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 11. Tabla de rugosidad de películas (nm) comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Rugosidad de películas de almidón	Media (nm)
Alm+Hal+AEO 2%	213.63±34.79 <sup>a</sup>
Alm+Bent+AEC 2%	149.33±29.69 <sup>b</sup>
Alm+Hal+AEO 1%	146.91±22.31 <sup>b,c</sup>
Alm+Bent+AEC 4%	141.58±34.84 <sup>b,c</sup>
Alm+AEO 2%	126.52±22.05 <sup>b,c,d</sup>
Alm+Hal+CA 0.1%	110.00±22.56 <sup>c,d,e</sup>
Alm+Hal+AEC 4%	100.97±58.86 <sup>d,e,f</sup>
Alm+Hal+AEC 2%	77.50±23.04 <sup>e,f,g</sup>
Alm+Hal+C 0.1%	75.40±35.39 <sup>f,g</sup>
Alm+Hal+T 0.1%	71.94±15.72 <sup>f,g,h</sup>
Alm+AEC 4%	67.79±24.50 <sup>f,g,h,i</sup>
Alm+Hal	67.61±27.85 <sup>g,h,i</sup>
Alm+Hal+0.2%	65.59±17.82 <sup>g,h,i</sup>
Alm+Bent+AEO 2%	60.09±21.52 <sup>g,h,i,j</sup>
Alm+Hal+T 0.2%	58.08±17.49 <sup>g,h,i,j</sup>
Alm+Hal+CA 0.2%	52.81±12.54 <sup>g,h,i,j,k</sup>
Alm+Bent+T 0.2%	43.18±17.21 <sup>i,j,k,l</sup>
Alm+Bent+AEO 1%	42.98±10.42 <sup>h,i,j,k,l</sup>
Alm+Bent+T 0.1%	42.47±13.58 <sup>i,j,k,l</sup>
Alm+Bent+CA 0.2%	37.51±15.04 <sup>j,k,l</sup>
Alm+Bent+C 0.2%	36.78±14.55 <sup>j,k,l</sup>
Alm+Bent+C 0.1%	33.97±12.71 <sup>j,k,l</sup>
Alm	33.43±12.77 <sup>j,k,l</sup>
Alm+Bent+CA 0.1%	32.49±10.74 <sup>k,l</sup>
Alm+Bent	21.43±7.74 <sup>l</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 12. Tabla de rugosidad de películas (nm) comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Rugosidad de películas de CMC	Media (nm)
CMC+Hal+AEC 4%	589.86±98.03 <sup>a</sup>
CMC+Hal	302.72±188.07 <sup>b</sup>
CMC +Bent+AEC 4%	280.97±137.78 <sup>b</sup>
CMC+Hal+T 0.2%	239.29±75.97 <sup>b,c</sup>
CMC+Bent+T 0.2%	170.58±104.92 <sup>c,d</sup>
CMC +Bent+AEO 2%	163.62±59.72 <sup>c,d</sup>
CMC+Hal+0.2%	124.12±55.38 <sup>d,e</sup>
CMC +Bent	122.59±20.75 <sup>d,e</sup>
CMC+Bent+CA 0.2%	114.58±16.00 <sup>d,e</sup>
CMC+Hal+AEO 2%	99.99±59.63 <sup>d,e</sup>
CMC+Bent+C 0.2%	99.78±31.01 <sup>d,e</sup>
CMC+AEC 4%	61.90±15.69 <sup>e</sup>
CMC Hal+CA 0.2%	60.34±26.87 <sup>e</sup>
CMC +AEO 2%	41.80±26.79 <sup>e</sup>
CMC	27.06±27.92 <sup>e</sup>

Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Anexo 13. Tabla de densidad de poros (poros/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de poros de películas de almidón	poros/ $\mu\text{m}^2$
Alm	0.658/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEC 4%	0.226/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEO 2%	0.108/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent	0.071/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 2%	0.237/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 4%	0.043/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 1%	0.059/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 2%	0.094/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.1%	0.036/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.2%	0.066/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.1%	0.080/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.2%	0.065/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.1%	0.249/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.2%	0.032/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal	0.022/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC %	0.056/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC 4%	0.025/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 1%	0.072/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 2%	0.043/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.1%	0.018/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.2%	0.015/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+C 0.1%	0.021/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+0.2%	0.019/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.1%	0.023/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.2%	0.016/ $\mu\text{m}^2$

Anexo 14. Tabla de densidad de poros (poros/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de poros de películas de CMC	poros/ $\mu\text{m}^2$
CMC	0.736/ $\mu\text{m}^2$
CMC+ACE 4%	2.623/ $\mu\text{m}^2$
CMC+AEO 2%	1.253/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent	0.054/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEC 4%	0.123/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEO 2%	0.102/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+T 0.2%	0.089/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+C 0.2%	0.074/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+CA 0.2%	0.150/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal	0.020/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEC 4%	0.008/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEO 2%	0.042/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+T 0.2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+C 0.2%	0.038/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+CA 0.2%	0.189/ $\mu\text{m}^2$

Anexo 15. Tabla de densidad de partículas (partículas/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de partículas de películas de almidón	partículas/ $\mu\text{m}^2$
Alm	0.062/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEC 4%	0.045/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEO 2%	0.009/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent	0.129/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 2%	0.040/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 4%	0.053/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 1%	0.057/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 2%	0.044/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.1%	0.057/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.2%	0.073/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.1%	0.100/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.2%	0.047/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.1%	0.232/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.2%	0.068/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal	0.078/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC %	0.088/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC 4%	0.043/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 1%	0.113/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 2%	0.095/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.1%	0.222/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.2%	0.126/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+C 0.1%	0.066/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+0.2%	0.111/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.1%	0.087/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.2%	0.154/ $\mu\text{m}^2$

Anexo 16. Tabla de densidad de partículas (partículas/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de partículas de películas de CMC	partículas/ $\mu\text{m}^2$
CMC	0.136/ $\mu\text{m}^2$
CMC+ACE 4%	0.024/ $\mu\text{m}^2$
CMC+AEO 2%	0.032/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent	0.157/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEC 4%	0.225/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEO 2%	0.112/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+T 0.2%	0.208/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+C 0.2%	0.200/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+CA 0.2%	0.234/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal	0.084/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEC 4%	0.066/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEO 2%	0.221/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+T 0.2%	0.476/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+C 0.2%	0.258/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+CA 0.2%	0.065/ $\mu\text{m}^2$

Anexo 17. Tabla de densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de almidón adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de fibras de películas de almidón	fibras/ $\mu\text{m}^2$
Alm	0.001/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEC 4%	0.038/ $\mu\text{m}^2$
Alm+AEO 2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent	0.015/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 2%	0.005/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEC 4%	0.007/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 1%	0.045/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+AEO 2%	0.058/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.1%	0.031/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+T 0.2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.1%	0.039/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+C 0.2%	0.062/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.1%	0.034/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Bent+CA 0.2%	0.037/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal	0.017/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC %	0.003/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEC 4%	0.075/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 1%	0.006/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+AEO 2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.1%	0.028/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+T 0.2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+C 0.1%	0.047/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+0.2%	0.031/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.1%	0.022/ $\mu\text{m}^2$
Alm+Hal+CA 0.2%	0.011/ $\mu\text{m}^2$

Anexo 18. Tabla de densidad de fibras (fibras/ $\mu\text{m}^2$ ) de películas comestibles de CMC adicionadas con nanocompuestos y antimicrobianos de origen natural.

Densidad de fibras de películas de CMC	fibras/ $\mu\text{m}^2$
CMC	0.011/ $\mu\text{m}^2$
CMC+ACE 4%	0.039/ $\mu\text{m}^2$
CMC+AEO 2%	0.011/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent	0.004/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEC 4%	0.001/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+AEO 2%	0.010/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+T 0.2%	0.015/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+C 0.2%	0.011/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Bent+CA 0.2%	0.009/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal	0.005/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEC 4%	0.003/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+AEO 2%	0.007/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+T 0.2%	0.001/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+C 0.2%	0.027/ $\mu\text{m}^2$
CMC+Hal+CA 0.2%	0.005/ $\mu\text{m}^2$