

**DESARROLLO DE POLÍMEROS
ELECTROHILADOS CON ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA PARA EMPAQUES
DE ALIMENTOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

**MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA EN LA
ESPECIALIDAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA

MICHELL GARCIA GARCIA

DIRECTOR

DR. JESÚS SALVADOR JAIME FERRER

CODIRECTOR

DR. DOMANCAR ORONA TAMAYO

ASESORA

DRA. ELIZABETH QUINTANA RODRÍGUEZ

LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO, JULIO DEL 2024.



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



León, Gto., a 3 de julio de 2024.

Coordinación de Posgrado.
PICYT - CIATEC.
Guanajuato.

Los abajo firmantes miembros del Comité Tutorial de la alumna *Michell Garcia Garcia*, una vez leída y revisada la Tesis titulada "*Desarrollo de polímeros electrohilados con actividad antimicrobiana para empaques de alimentos*", aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por la alumna para aspirar al grado de Maestra en Ciencia y Tecnología en la Especialidad de Ingeniería Ambiental durante el Examen de Grado correspondiente.

Y para que así conste se firma la presente a los 3 días del mes de julio del año dos mil veinticuatro.

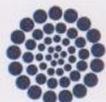
Dr. Jesús Salvador Jaime Ferrer.
Director.

Dr. Domancar Orona Tamayo.
Co-director.

Dra. Elizabeth Quintana Rodríguez.
Asesora.



**GOBIERNO DE
MÉXICO**



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CIATEC

León, Gto., a 26 de julio de 2024.

Dra. Mariana Arce Osuna
Directora General
PICYT - CIATEC
León, Guanajuato.

Estimada Dra. Arce,

Los abajo firmantes miembros del Jurado de Examen de la alumna *Michell Garcia Garcia*, una vez leída y revisada la Tesis titulada "*Desarrollo de polímeros electrohilados con actividad antimicrobiana para empaques de alimentos*", aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por e la alumna para aspirar al grado de Maestra en Ciencia y Tecnología en la Especialidad de Ingeniería Ambiental durante el Examen de Grado correspondiente.

Y para que así conste firmamos la presente a los 26 días del mes de julio del año dos mil veinticuatro.

Dra. Anayansi Estrada Monje.
Presidente.

Dra. Nancy Edith Lozoya Pérez.
Secretario.

Dr. Jesús Salvador Jaime Ferrer.
Vocal.



CIENCIA Y TECNOLOGIA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

En la ciudad de León, Guanajuato a los 26 días del mes de julio del año 2024, siendo las 11:00 horas, se reunieron en el Aula Magna del CIATEC los señores integrantes del Jurado de examen de grado constituido por:

Presidente: Dra. Anayansi Estrada Monje.

Secretario: Dra. Nancy Edith Lozoya Pérez.

Vocal: Dr. Jesús Salvador Jaime Ferrer.

y de acuerdo con las disposiciones del Reglamento vigente se procedió a llevar a cabo el Examen de Grado a la C. MICHELL GARCIA GARCIA egresada del CIATEC, candidata a Maestra en Ciencia y Tecnología con Especialidad en Ingeniería Ambiental. Tomando en cuenta los señores del Jurado de examen de grado los resultados de la Tesis del Proyecto de Investigación: "Desarrollo de polímeros electrohilados con actividad antimicrobiana para empaques de alimentos", dictaminaron que fuera APROBADA POR UNANIMIDAD. El Presidente del Jurado le hizo saber a la sustentante el resultado obtenido, dándose por terminado el Examen de Grado a las 12:35 horas del día señalado. Se asentó la presente en el libro de actas para exámenes de grado número X a las 35 y 36 fojas, autorizado por la Coordinación del Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología con fecha 26 de julio del 2024 y una vez escrita, leída y aprobada la firmaron para dar constancia las personas que en el acto intervinieron.

Dra. Anayansi Estrada Monje.
Presidente.

Nancy Edith Lozoya
Dra. Nancy Edith Lozoya Pérez.
Secretario.



CIENCIA Y TECNOLOGIA

Dr. Jesús Salvador Jaime Ferrer.
Vocal.



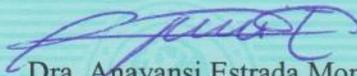
León, Gto., A 26 de julio de 2024.

ACTA DE PROTESTA RENDIDA POR LA C. MICHELL GARCIA GARCIA, CON MOTIVO DE HABER SIDO APROBADA EN EL EXAMEN RECEPCIONAL QUE SUSTENTÓ PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA CON ESPECIALIDAD EN INGENIERÍA AMBIENTAL.

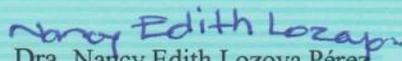
La Dra. Anayansi Estrada Monje, Presidente del Jurado, tomó la protesta de Ley a la C. Michell Garcia Garcia, dirigiéndose a ella en los siguientes términos: **“PROTESTAIS CUMPLIR LEAL Y FIELMENTE LOS DEBERES PROPIOS DE LA PROFESIÓN DE MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA CON ESPECIALIDAD EN INGENIERÍA AMBIENTAL CUYO GRADO ACABAIS DE ADQUIRIR”,** y habiendo contestado la interpelada **“SI PROTESTO”,** el Presidente del Jurado repuso. **“SI ASI NO LO HICIERES, EL ESTADO Y LA NACIÓN OS LO DEMANDEN”.**

A continuación, el presidente declaró concluido el acto, levantándose la presente por triplicado que firman la Dra. Anayansi Estrada Monje, Dra. Nancy Edith Lozoya Pérez, Secretario; y la sustentante Michell Garcia Garcia.

PRESIDENTE.


Dra. Anayansi Estrada Monje.

SECRETARIO.


Dra. Nancy Edith Lozoya Pérez.

SUSTENTANTE.


Michell Garcia Garcia.



Resumen

La creciente demanda global de métodos de preservación de alimentos sostenibles ha impulsado la exploración de tecnologías innovadoras. La utilización de biomasa genera compuestos valiosos que pueden aplicarse en el envasado de alimentos, implementando el reciclaje de materiales anteriormente considerados como desechos. En el presente trabajo se utilizó una mezcla de policaprolactona (PCL) y gelatina, a la que se incorporó melanina extraída de cáscaras de nuez pecana (*Carya illinoensis* Koch) en concentraciones del 0.5% a 4.0% (p/p) y se realizó un electrohilado sólido-líquido para la formación de membranas a base de fibras. Las membranas de policaprolactona-gelatina (PG)/melanina, mostraron una capacidad antioxidante propiciada por la donación de átomos de hidrógeno por parte de la melanina. La presencia de grupos funcionales -OH y compuestos catecólicos en la melanina permite la interacción con moléculas de agua, facilitando la transición de un comportamiento altamente hidrofóbico a hidrofílico. Además, las fibras mostraron actividad antimicótica contra tres cepas fúngicas fitopatógenas aisladas de fresas comerciales (*Fragaria x ananassa* L.) debido a la liberación de H₂O₂ a partir de la oxidación de compuestos catecólicos. El material desarrollado mostró propiedades activas con una potencial aplicación en envase de alimentos.

Palabras clave: Melanina, electrohilado, cáscara de nuez, policaprolactona, gelatina, membrana, capacidad antifúngica, capacidad antioxidante.

Abstract

The growing global demand for sustainable food preservation methods has driven the exploration of innovative technologies. The utilization of biomass generates valuable compounds that can be applied in food packaging, implementing the recycling of materials previously considered as waste. In this work, melanin extracted from pecan shells (*Carya illinoensis* Koch) was characterized. Melanin was incorporated into a polycaprolactone and gelatin mixture at concentrations ranging from 0.5% to 4.0% (w/w), and solid-liquid electrospinning was performed to form fiber-based membranes. The polycaprolactone-gelatin (PG)/melanin membranes demonstrated antioxidant capacity associated with efficient hydrogen atom donation behavior from melanin. The presence of -OH functional groups and catecholic compounds in melanin allows interaction with water molecules, facilitating the transition from highly hydrophobic to hydrophilic behavior. Additionally, the fibers exhibited antifungal activity against three phytopathogenic fungal strains isolated from commercial strawberries (*Fragaria x ananassa* L.) due to the release of H₂O₂ from the oxidation of catecholic compounds. The developed material showed active properties with potential application in food packaging.

Keywords: Melanin, electrospinning, nut shell, polycaprolactone, gelatin, membrane, antifungal activity, antioxidant activity.

En estas páginas no leerán que me rendí.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que han contribuido a la realización de esta tesis de maestría. A mi familia, por su inquebrantable apoyo, amor y paciencia durante este proceso. Sin su aliento constante y su comprensión, no habría sido posible alcanzar este logro. A mis asesores de tesis, el Dr. Jesús Salvador Jaime Ferrer, el Dr. Domancar Orona Tamayo y la Dra. Elizabeth Quintana Rodríguez, por su invaluable guía, consejos y apoyo a lo largo de esta investigación. Sus conocimientos y experiencia han sido fundamentales para el desarrollo y éxito de este trabajo. Agradezco profundamente a la institución CIATEC, por brindarme las facilidades y recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación. A los laboratoristas y doctores que laboran en la institución, por su colaboración, asistencia técnica y su disposición para ayudar en todo momento ha sido esencial. También quiero agradecer a mis profesores, quienes han compartido su conocimiento y sabiduría, inspirándome a seguir adelante y a profundizar en mis estudios. Finalmente, extendo mi agradecimiento al CONAHCYT por el apoyo financiero que hizo posible la realización de esta maestría. Su contribución ha sido crucial para el desarrollo de mi formación académica y profesional.

A todos ustedes, muchas gracias.

Índice general

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	5
1.1 ANTECEDENTES.....	6
1.1.1 <i>Nanofibras poliméricas funcionales electrohiladas para empaques de alimentos</i>	6
1.1.2 <i>Fibras electrohiladas cargadas con compuestos bioactivos naturales</i>	15
1.1.3 <i>Compuestos bioactivos naturales</i>	16
1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	24
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	26
1.4 OBJETIVOS.....	27
1.4.1 <i>Objetivo general</i>	27
1.4.2 <i>Objetivos específicos</i>	27
1.5 HIPÓTESIS.....	27
2 MARCO TEÓRICO	28
2.1 DESPERDICIO DE ALIMENTOS.....	28
2.2 EMPAQUES DE ALIMENTOS.....	29
2.2.1 <i>Clasificación de empaques</i>	30
2.2.2 <i>Materiales usados en empaques de alimentos primarios</i>	30
2.2.3 <i>Limitaciones de los empaques de alimentos tradicionales</i>	34
2.2.4 <i>Tecnologías en el empaqueo de alimentos</i>	35
2.3 NANOTECNOLOGÍA Y ELECTROHILADO.....	41
2.3.1 <i>Principio de electrohilado</i>	41
2.3.2 <i>Parámetros del electrohilado</i>	42
2.4 CÁSCARA DE NUEZ Y COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	48
2.4.1 <i>Compuestos bioactivos de la nuez</i>	48
2.4.2 <i>Cáscara de nuez</i>	53
2.4.3 <i>Melanina</i>	56
3 MÉTODO O PROCEDIMIENTO DE INVESTIGACIÓN.....	64
3.1 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO.....	64
3.1.1 <i>Materiales y reactivos</i>	65
3.1.2 <i>Aislamiento y purificación de la melanina</i>	65
3.1.3 <i>Solubilidad</i>	66
3.1.4 <i>Síntesis de fibras electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina</i>	66
3.1.5 <i>Caracterización de fibras electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina</i>	67
3.1.6 <i>Actividad antioxidante</i>	69
3.1.7 <i>Aislamiento fúngico</i>	71

3.1.8 Actividad antifúngica.....	71
3.1.9 Análisis estadístico	72
4 RESULTADOS	73
4.1 DESCRIPCIÓN DE LOS RESULTADOS.....	73
4.1.1 Caracterización de la melanina extraída	74
4.1.2 Nanofibras PG-Melanina	76
4.1.3 Propiedades químicas de las fibras con melanina	81
4.1.4 Ángulo de contacto	84
4.1.5 Propiedades mecánicas de las fibras	88
4.1.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	92
4.1.7 Actividad antioxidante	93
4.1.8 Actividad antifúngica de la melanina.....	94
5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	99
5.1 CONCLUSIONES.....	99
5.2 RECOMENDACIONES	99
6 REFERENCIAS	101

Índice de figuras

Figura 1. Residuos agrícolas y sus propiedades y aplicaciones de sus fitoquímicos..	23
Figura 2. Dispositivo de electrohilado estándar de configuración horizontal.....	42
Figura 3. Estructura química de los compuestos fenólicos.....	50
Figura 4. Estructura química de los terpenos.....	51
Figura 5. Estructura química de los β -glucanos.....	52
Figura 6. (-)-Ácido shikímico.....	57
Figura 7. Ruta sintética del shikimato.....	58
Figura 8. El grupo de metabolitos de acetil coenzima A.....	59
Figura 9. Biosíntesis de la eumelanina.....	60
Figura 10. Biosíntesis de la feomelanina.....	61
Figura 11. Biosíntesis de la alomelanina.....	62
Figura 12. Autooxidación del catecol.....	63
Figura 13. Barrido espectral UV-Vis desde 200 a 800 nm de la melanina proveniente de cáscara de nuez disuelta en NaOH 0.1 M y (B) logaritmo de la absorbancia contra la longitud de onda.....	75
Figura 14. Análisis espectral de melaninas mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de la melanina extraída de cáscara de nuez pecana (A, B) comparada con melaninas comerciales de <i>Sepia officinalis</i> (C) y de origen sintético (D).....	75
Figura 15. Grosor de las películas electrohiladas de PCL, PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0.....	77

Figura 16. Imágenes representativas de las fibras producidas a través de electrohilado vistas a nivel macroscópico y mediante el microscopio óptico (A) PCL, (B) PG, (C) PG0.5, (D) PG1.0, (E) PG2.0, (F) PG3.0 y (G) PG4.0.	78
Figura 17 Caracterización del material electrohilado a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las fibras PCL (A), PG (B), PG0.5(C), PG1.0 (D), PG2.0 (E), PG3.0 (F) y PG4.0 (G) y sus respectivos histogramas de distribución del tamaño de los diámetros de las fibras ($n = 100$).	80
Figura 18. Espectros infrarrojos obtenidos de todas las muestras realizadas de las fibras de (A) policaprolactona, (B) policaprolactona-gelatina y (C-G) policaprolactona-gelatina y melanina en el infrarrojo medio en un rango de 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1}	82
Figura 19. Espectros FTIR obtenidos de las fibras electrohiladas de policaprolactona (PCL) (A), PCL y gelatina (B) y, PCL, gelatina y 1.0% (C) y 3.0% (D) melanina, (E) muestra la superposición de FTIR de las fibras PCL, PG y PG3.0 en un rango de 4000 cm^{-1} a 800 cm^{-1} , (F) muestra los grupos funcionales observados en la fibra PCL y (G) muestra los grupos funcionales OH en las fibras PCL, PG y PG3.0.	83
Figura 20. Ángulo de contacto de la melanina en estado sólido (A) y las fibras electrohiladas de PCL (B), PG (C), PG0.5 (D), PG1.0 (E), PG2.0 (F), PG3.0 (G) y PG4.0 (H).	85
Figura 21. Análisis estadístico de los resultados obtenidos del ángulo de contacto de la melanina en estado sólido (A) y las fibras electrohiladas de PCL (B), PG (C), PG1.0 (D) y PG3.0 (E), $n = 5$	85
Figura 22. Mediciones colorimétricas de las fibras electrohiladas en la escala de color $L^*a^*b^*$ utilizando las geometrías $45^\circ/0^\circ$ y $d/8^\circ$ ($n = 10$)	87
Figura 23. Análisis de color de las fibras electrohiladas en la escala $L^*a^*b^*$, mostrando únicamente los resultados de a^* y b^* en las geometrías $45/0$ y $d/8$, ($n = 10$)...	88
Figura 24. Evaluación de las propiedades mecánicas de las fibras electrohiladas utilizando la máquina universal de ensayos.	89
Figura 25. Resistencia a la tensión de fibras electrohiladas, $n = 5$	90
Figura 26. Relación deformación-esfuerzo de las fibras electrohiladas de PCL (A), PG (B), PG1.0 (C), PG2.0 (D), PG3.0 (E), PG4.0 (F) y su respectivo módulo de Young (G), $n = 5$	91
Figura 27. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de las fibras electrohiladas PCL y PG (0.00-4.0) (A) y DSC de las fibras de PCL, PG, PG1.0 y PG3.0 (B).....	92
Figura 28. Resultados de la actividad de captación de radicales (RSA) conducidos en melanina pura (A) y las fibras PCL, PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0 (B) para ABTS y DPPH, $n = 3$	94
Figura 29. Fresas comerciales sanas (A) y fresa comercial posterior a 7 días sin refrigeración (B).	95
Figura 30. Cultivos axénicos generados a partir del tejido superficial obtenido de fresas (A), su identificación morfológica a través de un microscopio óptico (B), la aplicación de los postulados de Koch mediante la infección in vivo en fresas sanas (C), y el aislamiento del agente patógeno tras la infección (D).	96

Figura 31. Actividad antifúngica de la melanina disuelta en NaOH 0.1 M mostrada como diámetro de inhibición para los hongos aislados 1.1 (A), 1.3 (B) y 1.4 (C) y las fibras de higromicina, PCL, PG, PG1.0 y PG3.0 para los hongos aislados 1.1 (D), 1.3 (E) y 1.4 (F), $n = 3$ 97

Figura 32. Diámetros de inhibición fúngica reportados en placa PDA para las fibras electrohiladas (A, C y D) y la melanina disuelta en NaOH 0.1 M (B, D y F). ... 98

Índice de tablas

Tabla 1. Fibras electrohiladas de un solo polímero en aplicaciones de empaques alimenticios.	7
Tabla 2. Fibras electrohiladas multipoliméricas con potencial aplicación en empaques.	10
Tabla 3. Estado del arte de fibras electrohiladas de policaprolactona y gelatina enfocada a empaques de alimentos activos.	12
Tabla 4. Aplicaciones de las fibras electrohiladas activas en el procesamiento y conservación de alimentos.	15
Tabla 5. Incorporación de pigmentos de melanina para la fabricación de fibras electrohiladas.....	18
Tabla 6. Actividad funcional de la melanina proveniente de diversas fuentes.	20
Tabla 7. Cantidad de residuos de algunos cultivos producidos en el mundo en 2020.	22
Tabla 8. Termoplásticos y su uso en el empaqueo de alimentos.....	31
Tabla 9. Ventajas y desventajas de diferentes biopolímeros en el envasado de alimentos.	32
Tabla 10. Parámetros de electrohilado y sus efectos en la morfología de las fibras...	47
Tabla 11. Principales entidades productoras en volumen de nuez en México.....	53

Glosario

AA	Ácido acético
ABTS	(2,2'-azino-bis (3-etilbencotiazolina-6-ácido sulfónico)
Acetil CoA	Acetil Coenzima A
AgNPs	Nanopartículas de plata
ATR	Reflectancia total atenuada
C ₂ H ₂	Etileno
C ₅ H ₈	Isopreno
CA	Ácido cítrico
CEO	Aceite esencial de comino
CH ₃ COOC ₂ H ₅	Acetato de etilo
CHCl ₃	Cloroformo
CO	Aceite de clavo
CO ₂	Dióxido de carbono
Cs	Quitosano
DHI	5,6-dihidroindol
DHICA	Ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico
DHN	1,8-dihidroxi-naftaleno
DMF	N, N-dimetilformamida
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
ECL	Etilcelulosa
EGCG	Galato de epigalocatequina
FA	Ácido fórmico
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
FFS	Solución formadora de película
FTIR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
GT	Gelatina

H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HCl	Ácido clorhídrico
HFP	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol
HPDE	Polietileno de alta densidad
KGM	Glucomanano-gelatina
L-DOPA	L-3,4 dihidroxifenilalanina
LDPE	Polietileno de baja densidad
MAP	Sistema de atmósferas modificadas
MIC	Concentración mínima inhibitoria
N ₂	Nitrógeno molecular
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio
NADPH	Oxidasa de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaOH	Hidróxido de sodio
NH ₄ OH	Hidróxido de amonio
O ₂	Oxígeno molecular
PBS	Solución salina de fosfatos
PCL	Policaprolactona
PDA	Agar papa dextrosa
PE	Polietileno
PEE	Extractos fenólicos
PEO	Óxido de polietileno
PET	Tereftalato de polietileno
PG	Policaprolactona-gelatina
PG0.5	Policaprolactona-gelatina y melanina en la concentración 0.5%
PG1.0	Policaprolactona-gelatina y melanina en la concentración 1.0%
PG2.0	Policaprolactona-gelatina y melanina en la concentración 2.0%
PG3.0	Policaprolactona-gelatina y melanina en la concentración 3.0%

PG4.0	Policaprolactona-gelatina y melanina en la concentración 4.0%
PHB	Ácido polihidroxitúrico o ácido polihidroxitúrico [(R)-3-hidroxitúricato]
PHBV	Poli(3-hidroxitúricato-co-3-hidroxitúricato)
PLA	Ácido poliláctico
PP	Polipropileno
PPC	Policarbonato de propileno
PS	Poliestireno
PUR	Poliuretano
PVA	Acetato de polivinilo
PVC	Cloruro de polivinilo
PVOH	Alcohol polivinílico
RFID	Identificación por radiofrecuencia
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SO ₂	Dióxido de azufre
TFA	Ácido trifluoroacético
TFE	Trifluoroetileno
THN	1,3,6,8-tetrahidroxinaftaleno
THY	Timol
TiO ₂	Dióxido de titanio
ZnO	Óxido de zinc
γ-CD	γ-Ciclodextrina

1

Introducción y Objetivos

En la actualidad, la industria alimentaria enfrenta desafíos significativos relacionados con la conservación y el desperdicio de los alimentos. El deterioro de los alimentos provocado por la oxidación y el crecimiento microbiano no solo afecta la calidad del producto, sino que también representa un riesgo para la salud pública. Por lo que, la necesidad de desarrollar empaques innovadores que no solo preserven la calidad de los alimentos, sino que también prolonguen su vida útil es crucial [1]. El electrohilado es un método sencillo para producir fibras continuas y ultrafinas y potencialmente útil para crear materiales de empaque a partir de distintos polímeros utilizando un campo eléctrico de alto voltaje. Las fibras electrohiladas muestran propiedades específicas, como una alta porosidad, alta relación superficie-volumen y morfología ajustable [2]. Las fibras electrohiladas permiten el uso de diversos polímeros, incluidos materiales reciclados, reduciendo así, la demanda de recursos vírgenes. Esto se alinea con el principio de economía circular al maximizar la eficiencia de los recursos, minimizando los desechos y promoviendo la reutilización de materiales [3]. Esto conduce a que los materiales de desecho, incluidos los plásticos posconsumo y/o los subproductos agrícolas se utilicen como materias primas para tecnologías basadas en fibras, al reciclar estos materiales en productos de valor agregado [4]. Desde la perspectiva de la utilización de subproductos agrícolas, la producción de las nueces pecanas (*Carya illinoensis*) presenta un área de oportunidad para la revalorización de sus desechos, ya que aproximadamente entre el 40 y 50% de la nuez se descarta, consistiendo principalmente en la capa protectora externa o cáscara que cubre el núcleo comestible [5]. México es el cuarto productor a nivel mundial de nuez pecanera, con una producción total de aproximadamente 164,652 toneladas en el año 2021 [6], de los cuales, aproximadamente se descartan alrededor de 82 mil toneladas. Es decir, los residuos generados durante el procesamiento de la nuez son abundantes, no se reutilizan y, por lo general, estos residuos se disponen en vertederos [7]. La cáscara de

nuez contiene celulosa, hemicelulosa y lignina que no se aprovechan eficientemente. Esta cáscara, además, es una rica fuente de antioxidantes naturales y compuestos con actividad antibacteriana, especialmente contra *Staphylococcus aureus*, debido a la presencia de proantocianidinas. También es rica en ácidos fenólicos, resveratrol y derivados de ácido gálico [8].

1.1 Antecedentes

1.1.1 Nanofibras poliméricas funcionales electrohiladas para empaques de alimentos

La preparación de fibras poliméricas funcionales por electrohilado ha sido bien desarrollada en los últimos años. Según las materias primas utilizadas, el electrohilado puede ser definido como de fundido o de solución. El electrohilado de fundido no requiere solventes, lo que lo convierte en un método más ecológico y potencialmente seguro para la creación de fibras. El polímero se calienta hasta su punto de fusión y luego se expulsa. Las fibras se forman a medida que el polímero fundido se solidifica al enfriarse. Sin embargo, la viscosidad obtenida del fundido es mucho más alta que la disolución, lo que impide obtener fibras de diámetros submicrométricos, por ende, requiere trabajar a altas temperaturas y con velocidades de flujo muy lentas lo que limita también la productividad. Por otro lado, el electrohilado de solución utiliza una solución de polímero disuelto en un solvente. La solución polimérica se alimenta a través de una boquilla o un capilar bajo la influencia de un campo eléctrico alto. El solvente se evapora durante el vuelo del chorro, dejando atrás fibras sólidas de polímero. Esta metodología requiere la selección de solventes adecuados para disolver el polímero y permite la incorporación de una amplia gama de polímeros y aditivos. A su vez, el electrohilado directo es definido como la fabricación de fibras a partir de un solo componente. Los materiales electrohilados funcionales comúnmente utilizados en el campo del embalaje incluyen el quitosano (Cs) por sus propiedades antibacterianas, la zeína por su grado alimenticio y el alcohol polivinílico (PVOH) por su transparencia [9-11]. La Tabla 1 muestra algunos ejemplos de fibras electrohiladas de un solo polímero con aplicación en materiales de empaque.

Tabla 1. Fibras electrohiladas de un solo polímero en aplicaciones de empaques alimenticios.

Polímero	Solvente	Condiciones electrohilado	Propiedades fibras	Referencia
Cs	FA, AA, DMF, diclorometano, ácido trifluoroacético (TFA), ácido clorhídrico (HCl). Metanol. Etanol. 1,4-dioxano.	<u>Solución:</u> El Cs se disolvió a concentraciones desde 3-9% (p/p) en los disolventes FA, TFA, AA (0.2 M), HCl (0.1 M), y sus mezclas con metanol, etanol, 1,4-dioxano, diclorometano y DMF se utilizaron como solventes. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 15 kV Velocidad de flujo no especificado Distancia punta-colector 150 mm	No reportadas.	[12]
Cs	AA	<u>Solución:</u> Las soluciones de Cs y PEO (7% y 3%, p/v, respectivamente) se prepararon individualmente mediante la disolución del polvo de polímero en solución acuosa de AA a concentraciones entre 10% y 90% (v/v). Las mezclas de Cs/PEO se obtuvieron mezclando las dos soluciones de polímero en diferentes proporciones de peso que van desde 100% PEO hasta 100% Cs. Las soluciones obtenidas se utilizaron inmediatamente para electrohilado. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 20 kV Velocidad de flujo 0.5 mL h ⁻¹ Distancia punta-colector 20 cm	Actividad antimicrobiana contra las bacterias gramnegativa <i>Escherichia coli</i> (DH5 α) y <i>Salmonella entericaserovar Typhimurium</i> (SL1344), y las bacterias grampositivas <i>Staphylococcus aureus</i> (54-73) y <i>Listeria innocua</i> (ISPQ3284)	[13]
Zeína	Etanol absoluto (>99.9%)	<u>Solución:</u> Las soluciones de zeína al 20% (p/v) se prepararon disolviendo la proteína en etanol 80% (v/v). Se añadieron extractos fenólicos enriquecidos (PEE) (10% p/p) a las soluciones de zeína y las mezclas se agitaron hasta su completa disolución.	Capacidad antioxidante.	[14]

		<p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 11 kV Velocidad de flujo 0.15 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 10 cm</p>		
Zeína	DMF	<p><u>Solución:</u> Se disolvió timol (THY) (4%, p/p) en DMF. Se agregó 50% de zeína (p/v) y la solución se agitó a 500 rpm, 60 min antes del electrohilado. Aparte, se dispersó una cantidad determinada de THY/ γ-Ciclodextrina (γ-CD) (1:1) y (2:1) correspondiente a 4% de THY (p/p, con respecto al polímero) en DMF. Posteriormente, se agregó 50% de zeína (p/v). Las soluciones resultantes se agitaron 60 min antes del electrohilado.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 17 kV Velocidad de flujo 0.5 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 17 cm</p>	Actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	[15]
Zeína	AA (99% pureza)	<p><u>Solución:</u> Se disolvió polvo de zeína y diferentes concentraciones de aceite esencial de romero (0, 2.5, 5 y 10 % v/v) en AA para obtener soluciones de zeína al 26% p/v.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 20 kV Velocidad de flujo 8 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 150 mm</p>	Actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	[16]
PVOH	Agua destilada	<p><u>Solución:</u> Las soluciones de PVOH al 5%, 7.5%, 10% y 12.5% (p/v) se prepararon disolviendo polvo de PVOH en agua destilada, 85°C, 1 h y con agitación constante. Las soluciones de PVOH/CA con 3%, 6%, 9% y 12% (p/p, respecto al peso del PVOH) de ácido cítrico (CA) se prepararon disolviendo el PVOH al 7.5% (p/v). En el caso de la solución de</p>	Actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	[17]

		<p>PVOH/CA cargada con aceite de clavo (CO) (PVOH/CA/CO), se agregó un 20% de aceite de clavo (p/p, respecto al PVOH) a la solución de PVOH al 7.5% con un 9% de CA. Todas las soluciones se agitaron a 25°C durante toda la noche antes del electrohilado.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 12 kV Velocidad de flujo punta-colector 0.24 mL h⁻¹ Distancia 12 cm</p>		
PVOH	Agua destilada	<p><u>Solución:</u> Las nanopartículas de plata (AgNPs) se sintetizaron mezclando 10 mL de extractos de cáscara de fruta (<i>Vitis vinifera</i>, <i>Carica papaya</i>, y <i>Citrullus lanatus</i>) con 90 mL de una solución de 1 mM de AgNO₃. Para la solución de electrohilado se mezcló 10% (p/v) de PVOH y 0.5% (p/v) de AgNPs sintetizadas se disolvió en agua destilada mediante agitación continua durante 2 a 4 h.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 15 kV Velocidad de flujo 0.35 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 12 cm</p>	Actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	[18]

Para aplicaciones como el envasado de alimentos, es recomendable que el polímero utilizado sea biodegradable y no tóxico para evitar daños al entrar en contacto con los alimentos y el organismo. Los polímeros naturales, particularmente polisacáridos y proteínas, son ampliamente utilizados en el proceso de electrohilado debido a su biocompatibilidad, no toxicidad, grado alimenticio y biodegradabilidad. La diversidad en grupos funcionales permite la unión o encapsulamiento de una amplia gama de compuestos activos mediante interacciones moleculares. Polisacáridos derivados de fuentes vegetales (almidón, derivados de celulosa y pectina), animales (quitosano) y algas (alginato o carragenano) son ejemplos de polímeros empleados. Asimismo, las proteínas derivadas de fuentes vegetales (proteínas de soya y zeína), y

fuentes animales (proteínas de clara de huevo, proteínas de suero, gelatina, colágeno y caseína) o de insectos (seda) se electrohilan en fibras, mostrando diferentes grados de éxito para obtener resultados aceptables. Sin embargo, la funcionalización, el uso de solventes apropiados y la reorganización de la conformación de polisacáridos y proteínas pueden mejorar su potencial para la producción de fibras, así como el uso de un polímero portador para facilitar el procesamiento [11].

También se han aplicado algunos polímeros degradables en el campo del envasado de alimentos, como la policaprolactona (PCL), el policarbonato de propileno (PPC), el ácido poliláctico (PLA), la celulosa natural y el almidón. Asimismo, materiales plásticos electrohilados, como el cloruro de polivinilo (PVC), el polietileno (PE), el polipropileno (PP), el poliestireno (PS), el tereftalato de polietileno (PET) y el nailon, también se utilizan comúnmente en el campo del envasado [19]. Aunque, polímeros como la PCL, el PLA y el PVOH son de origen sintético, estos se degradan en presencia de microorganismos y están certificados como seguros por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), lo que potencializa su uso para la producción de envases biodegradables como alternativa a los polímeros tradicionalmente utilizados en la industria alimentaria [11, 20].

A su vez, el electrohilado de mezclas poliméricas permite la producción de fibras con propiedades multifuncionales derivadas de cada uno de los polímeros constituyentes. La manera más común de preparación es mezclando múltiples componentes poliméricos en una solución homogénea. Este método mejora las capacidades de las fibras al combinar las características únicas de diferentes polímeros en una sola fibra. La Tabla 2 muestra algunos estudios de fibras electrohiladas multipoliméricas con aplicación en materiales de empaque.

Tabla 2. Fibras electrohiladas multipoliméricas con potencial aplicación en empaques.

Polímeros	Solvente	Condiciones electrohilado	Propiedades fibras	Referencia
PCL y GT	Trifluoroetileno (TFE).	<u>Solución:</u> Se empleó un híbrido natural-sintético representativo de gelatina (GT, 10% p/v) y policaprolactona (PCL, 10% p/v) (50:50), utilizando TFE como cosolvente de los dos	Fibras delgadas, lisas y homogéneas, con un rendimiento mejorado sus propiedades mecánicas.	[21]

		<p>polímeros. Las soluciones mezcladas se agitaron durante aproximadamente 12 h.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 5 kV Velocidad de flujo 2.0 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 12 cm</p>		
Cs, almidón y tereftalato de polietileno (PET).	AA, clorofenol y agua destilada.	<p><u>Solución:</u> Se disolvió Cs 7% p/p en una solución acuosa de AA (90%), se agitó hasta la formación de gel. Aparte, se disolvió almidón de maíz (7% p/p) añadiendo sorbitol como plastificante (1% p/p). Después de mezclar agua, almidón y sorbitol, 10 min, 90 °C, se preparó una solución de PET (3% p/p) utilizando o-clorofenol como solvente.</p> <p>Los porcentajes seleccionados de Cs y almidón fueron 85:15 y 70:30 p/p. Estas dos mezclas se combinaron con soluciones de PET para obtener concentraciones del 5 y 15% en peso de PET.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 20 kV Velocidad de flujo no especificado Distancia punta-colector 15 cm</p>	Fibras con una mayor estabilidad térmica a temperaturas elevadas.	[22]
PCL y PVOH	Agua destilada, cloroformo y AA.	<p><u>Solución:</u> La solución de PVOH (8% p/p) se preparó en agua destilada a 80 °C con agitación 2 h y posteriormente se enfrió</p>	Fibras porosas ideales para aplicaciones en ingeniería de tejidos.	[23]

		<p>a temperatura ambiente antes del electrohilado. Para el Cs, se utilizó una solución de AA (2% p/p). Ambas soluciones de polímero se mezclaron en proporción (1:8 y 2:8, Cs/PVOH). Se usó cloroformo como solvente para la PCL (12% p/p).</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 15, 20 kV Velocidad de flujo 0.7 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 10 cm</p>		
--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

Por otra parte, la combinación de polímeros naturales y sintéticos en el proceso de electrohilado ofrece una sinergia que potencia las propiedades de ambos materiales, optimizando su aplicación. Los polímeros naturales aportan biocompatibilidad y biodegradabilidad. Por otro lado, los polímeros sintéticos proporcionan mayor estabilidad mecánica y facilidad de procesamiento. Esta combinación resulta en fibras con alta capacidad de carga de agentes activos y una gran área superficial, generando propiedades adicionales, como resistencia a la humedad, capacidad de barrera contra gases y mayor durabilidad, mejorando así la calidad y prolongando la vida útil de productos alimenticios [11, 20]. La Tabla 3, muestra la generación de fibras electrohiladas con la mezcla del polímero sintético de PCL y el polímero de origen natural gelatina con capacidad de contención de compuestos bioactivos enfocados a materiales de empaque de alimentos.

Tabla 3. Estado del arte de fibras electrohiladas de policaprolactona y gelatina enfocada a empaques de alimentos activos.

Compuesto activo	Solventes	Condiciones experimentales	Actividad funcional	Referencia
Oleoresina de pimienta negra	Cloroformo y butanol	<u>Solución:</u> La solución formadora de película (FFS) se obtuvo a partir de una suspensión acuosa de celulosa (0.15 g/100 g FFS). Se preparó una suspensión acuosa de GT (3 g/100 g FFS), en agitación 60 °C, 30 min. Se	Actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	[24]

		<p>mezclaron todos los componentes, 60 °C, 15 min. La solución de GT se vertió sobre placas de plástico para obtener películas. Se depositó una capa de fibras de PCL (10% p/v, cloroformo/butanol 75:25 v/v) en ambos lados de la película de GT. Se incorporó oleorresina de pimienta negra en la solución al 7% p/p.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 20, 30 kV Velocidad de flujo 1.0-1.5 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 18 cm</p>		
<p>Aceite esencial de <i>Zataria multiflora</i> (ZEO)</p>	<p>Cloroformo y etanol</p>	<p><u>Solución:</u> Se disolvieron PCL, etilcelulosa (ECL) y GT (12.5% p/v) en una mezcla de cloroformo/etanol (80% v/v) en proporción 70:30. Después, la solución de ECL/PCL/GT se preparó en dos proporciones en peso 70:20:10 (ECL70/PCL20/GT) y 70:10:20 (ECL70/PCL10/GT). Se añadieron ZEO y nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) en concentraciones de 10, 20, 30 y 50 y 3% p/p (ECL70/PCL20/GT10/ZEO/ZnO).</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 16 kV Velocidad de flujo 1.0 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 15 cm</p>	<p>Actividad antioxidante y actividad antifúngica contra <i>Penicillium notatum</i> y <i>Aspergillus niger</i>.</p>	
<p>Glucomanano</p>	<p>AA, FA y agua destilada.</p>	<p><u>Solución:</u> Se disolvió PCL en FA 15% (p/v) con agitación vigorosa durante 1.5 h. Aparte, una solución 1% p/p de glucomanano-gelatina (KGM) se obtuvo disolviendo polvo de KGM en agua bajo agitación a 60 °C, 1 h. La gelatina se disolvió en una solución acuosa de AA, 30% (v/v) para lograr una</p>	<p>Preservación del contenido acuoso en mango.</p>	<p>[25]</p>

		<p>concentración final del 25% en peso. Se prepararon varias soluciones mixtas de KGM y GT disolviendo 1% de KGM y 25% de GT en proporciones de peso de 2:8, 3:7, 4:6 y 5:5 bajo condiciones de agitación.</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje 20 kV Velocidad de flujo 1.5 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 10 cm</p>		
Aceite esencial de comino (CEO)	AA y FA.	<p><u>Solución:</u> Se prepararon cinco soluciones de electrohilado, S1 (PCL/GT), S2 (PCL/GT/nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) 1%), S3 (PCL/GT/ZnO 3%), S4 (PCL/GT/ZnO 3%/CEO 1%) y S5 (PCL/GT/ZnO 3%/CEO 3%). Para todas las soluciones, la proporción de GT fue de 30:70. Para la S1, se disolvieron 0.02 g de gel en una mezcla (6 mL de FA y 14 mL de AA) y se agitaron 15 min. Se añadieron 2.38 g de PCL y se volvió a agitar 12 h. Para las soluciones S2 y S3, se sonificaron 0.034 y 0.102 g de ZnO. Luego, se añadieron la GT y el PCL de la manera previamente mencionada. La S4 se compuso de GT (30:70), ZnO (0.102 g) y CEO (0.034 g). La S5 se compuso de GT (30:70), ZnO (0.102 g) y CEO (0.102 g).</p> <p><u>Electrohilado:</u> Voltaje no especificado Velocidad de flujo 0.25 mL h⁻¹ Distancia punta-colector 15 cm</p>	Actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	[26]

Se puede observar que el electrohilado de PCL y GT para crear fibras para empaques de alimentos resulta especialmente ventajoso debido a la combinación única de propiedades que aporta cada polímero. La PCL, aporta una excelente barrera mecánica y la GT propiedades de barrera contra el oxígeno. Esta mezcla puede

minimizar la transferencia de oxígeno y vapor de agua, reduciendo la velocidad de deterioro de los alimentos y manteniendo su frescura y calidad por más tiempo.

1.1.2 Fibras electrohiladas cargadas con compuestos bioactivos naturales

La industria alimentaria ha mostrado interés en el desarrollo de nanofibras mediante la técnica de electrohilado utilizando polímeros para la encapsulación de compuestos bioactivos[10]. La incorporación de compuestos con propiedades específicas ofrece ventajas al entrar en contacto con los alimentos. Al ser incorporados en los intersticios de las fibras poliméricas, los compuestos y sustancias activas quedan protegidos de agentes externos y se dispersan de manera constante en el medio, lo que permite una liberación controlada en el alimento. De este modo, el empaque no solo actúa como una barrera contra condiciones externas, sino que también juega un papel deseable en los alimentos al ayudar a controlar la oxidación, prevenir la formación de sabores y texturas indeseables, así como evitar la pérdida de contenido nutricional [20].

Los compuestos antioxidantes y antimicrobianos utilizados en alimentos y empaques de origen natural incluyen aceites esenciales, nisina, curcumina, α -tocoferol, vitaminas, extractos ricos en fenoles de plantas y orujos, isotiocianato de alilo y quitosano, entre otros [11]. El desarrollo de agentes antimicrobianos y antioxidantes a partir de diversos productos naturales ha demostrado ser altamente prometedor. Los compuestos naturales son preferibles para nuevos enfoques de empaques, debido a las crecientes preocupaciones de los consumidores sobre la seguridad de los aditivos y materiales sintéticos, y su potencial impacto en la salud. La incorporación de compuestos bioactivos naturales en las fibras electrohiladas puede mejorar significativamente su biodisponibilidad y solubilidad [11].

La Tabla 4 muestra aplicaciones de las fibras electrohiladas con agentes bioactivos involucrados en el procesamiento y conservación de alimentos.

Tabla 4. Aplicaciones de las fibras electrohiladas activas en el procesamiento y conservación de alimentos [11].

Polímeros	Agente bioactivo	Fibras diámetro (nm)	Actividad antimicrobiana y/o antioxidante	Referencia
------------------	-------------------------	-----------------------------	--------------------------------------------------	-------------------

Polímeros sintéticos				
PLA	Polifenoles del té	493 ± 46 - 753 ± 84	Actividad antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	[27]
PEO	<i>Spirulina</i> sp. LEB 18	196 ± 43 - 542 ± 126	Actividad antioxidante.	[28]
PEO	Ácido gálico	208 ± 49 - 309 ± 74	Actividad antioxidante.	[29]
Polímeros naturales				
Polihidroxi- butirato (PHB)	Microalga <i>Spirulina</i> sp.	810 ± 85	Actividad antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	[30]
Zeína	Vitamina B9	1x10 ⁴ – 2.1x10 ⁴	Actividad antioxidante.	[31]
Poli(3- hidroxi- butirato- co-3- hidroxivalerato) (PHBV)	Taninos	1.3x10 ⁴	Actividad antioxidante.	[32]

Se observa que el uso de fibras electrohiladas activas en el procesamiento y conservación de alimentos muestra un potencial significativo debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Los polímeros sintéticos como el PLA y el PEO, cuando se combinan con agentes bioactivos han demostrado una actividad antibacteriana efectiva contra patógenos comunes como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, así como propiedades antioxidantes significativas. Por otro lado, los polímeros naturales, como la zeína, también han mostrado capacidades prometedoras. Estas características subrayan la versatilidad y eficacia de las fibras electrohiladas activas, posicionándolas como una herramienta innovadora y eficaz en la industria alimentaria para mejorar la seguridad y la calidad de los productos alimenticios mediante el control de microorganismos y la prevención de la oxidación [11].

1.1.3 Compuestos bioactivos naturales

El término fitoquímico refiere a los compuestos químicos de las plantas con diferentes composiciones y propiedades, estos compuestos incluyen fenoles, carotenoides, fitoesteroles, glucosinolatos, minerales, vitaminas, enzimas, bacteriocinas y ácidos grasos insaturados. En las plantas, estas sustancias desempeñan

funciones para su protección y crecimiento, como la atracción de insectos para su polinización, protección ante patógenos, regulación del crecimiento y la reproducción, control de insectos y protección de las plantas contra los herbívoros, además de poseer propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiproliferativas, antidiabéticas, neuroprotectoras y antihipertensivas [33]. El mecanismo de acción antimicrobiano incluye la ruptura de la membrana con inhibición de la actividad de la ATPasa, la fuga de biomoléculas esenciales de la célula, la interrupción de la fuerza motriz de protones y la inactivación de enzimas. El concepto de antioxidante se refiere a cualquier compuesto capaz de retrasar o prevenir la oxidación del sustrato. Los antioxidantes contrarrestan el estrés oxidativo, protegiendo las biomoléculas esenciales del daño oxidativo. Los antioxidantes pueden actuar agotando el oxígeno molecular, eliminando iones metálicos prooxidantes, neutralizando especies reactivas de oxígeno altamente reactivas, como el anión radical superóxido o el peróxido de hidrógeno, y eliminando radicales iniciadores de cadena como el hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), el alcoxi ($\text{RO}\cdot$) o el peróxido ($\text{ROO}\cdot$) [34]. Los fitoquímicos son producidos por las plantas debido a la metabolización de azúcares, ácidos y polisacáridos. El consumo humano de estos fitoquímicos puede acarrear múltiples beneficios para la salud e incluso prevenir algunas enfermedades. Alimentos vegetales, incluidas verduras, frutas, semillas, granos enteros y nueces, son fuentes principales de fitoquímicos [33].

1.1.3.1 Melanina

La melanina es un pigmento que potencialmente se puede extraer de las cáscaras de nuez pecana, aunque la comprensión de este pigmento es limitada y ha sido poco estudiada. Las melaninas están presentes en todas las formas de vida y generalmente se definen según su origen biogenético. Las plantas producen diferentes tipos de pigmentos, conocidos como alomelaninas, que se derivan de la molécula precursora 1,8-dihidroxinaftaleno (DHN) [35]. El pigmento de melanina ha atraído atención por sus notables propiedades, incluyendo capacidades antioxidantes, de protección UV y de captura de radicales libres altamente eficaces [36]. Notablemente, la melanina tiene propiedades antimicrobianas de amplio espectro, inhibiendo el crecimiento de especies clínicas significativas que habitan en una amplia gama de ambientes, incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium smegmatis* [37]. Recientemente, diferentes trabajos han explorado la integración de melanina en nanofibras electrohiladas para explotar sus propiedades únicas en el diseño de materiales funcionales (Tabla 5).

Tabla 5. Incorporación de pigmentos de melanina para la fabricación de fibras electrohiladas.

Polímeros	Disolventes	Fuente de Melanina	Condiciones Experimentales	Aplicación	Referencia
PCL y Poliuretano (PUR)	AA (99%), FA ($\geq 95\%$), y DMF.	<i>Armillaria cepistipes</i>	<u>Solución:</u> PCL (15% p/v) y melanina (10% p/p) se disolvieron en una mezcla de AA/FA (3:1), mientras que para PUR (14.5% p/v) y melanina (10% p/p) se disolvieron en solvente puro de DMF. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 60 kV Velocidad de flujo 195-245 mm s ⁻¹ Distancia punta-colector 200-261 mm	Desintoxicación de metales pesados en agua	[38]
Fibroína de Seda	Hexafluoro-2-propanol (HFIP)	Melanina Sintética (M0418, Sigma)	<u>Solución:</u> Fibroína de seda y melanina de concentración 6% (p/v) se disolvieron en HFIP en la proporción (90:10). <u>Electrohilado:</u> Voltaje 12 kV Velocidad de flujo 1 mL h ⁻¹ Distancia punta-colector 8 cm	Regeneración y recuperación nerviosa	[39]
PVOH	Agua desionizada	<i>Sepia officinalis</i>	<u>Solución:</u> 5.0, 3.0 y 1.0% en peso de eumelanina en una solución de PVOH al 10% en peso. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 18 kV Velocidad de flujo 0.02 mL h ⁻¹ Distancia punta-colector 20 cm	Aplicaciones de ingeniería de tejido muscular esquelético	[40]
Polí(1-lactida-co- ϵ -caprolacto)	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP)	No especificado	<u>Solución:</u> Se añadió una mezcla de PLCL y gelatina (50:50, PG) a la melanina, se	Posibles sustratos para la	[41]

na) (PLCL), Gelatina tipo A			prepararon diferentes proporciones de peso de melanina/PG: 10: 90, 20:80, 30:70, 40:60. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 15 kV Velocidad de flujo 1 mL h ⁻¹ Distancia punta-colector 15 cm	regeneración miocárdica	
PHB y PCL	Etanol (≥99.8%) y cloroformo (≥99%, CHCl ₃)	Ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (monómero o DHICA) precursor de melanina	<u>Solución:</u> PCL y PHB se disolvieron en una solución de CHCl ₃ (4:1 v/v). Se añadieron nanopartículas de melanina-TiO ₂ (dióxido de titanio) (9.4% p/p) en la solución. <u>Electrohilado:</u> Voltaje 3 kV Velocidad de flujo 1400 μL h ⁻¹ Distancia punta-colector 11.5 cm	Soluciones para apósitos de heridas	[42]

Además, se ha reportado el uso de melanina generada a partir de tinta de sepia como una película de envasado antimicrobiano comestible sin necesidad de electrohilado, mostrando efectividad antibacteriana contra patógenos transmitidos por alimentos como *Listeria monocytogenes* [43]. Los resultados enfatizan la incorporación de melanina de cáscara de nuez como un componente crucial en una membrana biopolimérica de policaprolactona-gelatina, destacando específicamente su utilización en el envasado de alimentos. Por otro lado, la síntesis de melanina se ha asociado con el factor virulencia de una variedad de microorganismos patógenos. Se cree que la melanina contribuye a la virulencia microbiana al reducir la susceptibilidad del patógeno a ser eliminado por los mecanismos antimicrobianos del huésped y al influir en la respuesta inmunitaria del hospedero a la infección. En consecuencia, la melanina y las vías de síntesis de melanina son objetivos potenciales para el descubrimiento de fármacos antimicrobianos. Es interesante destacar que las propiedades de unión a fármacos tanto de las melaninas del huésped como de las microbianas podrían influir en el resultado de la terapia antimicrobiana [44]. Sin embargo, una aplicación externa de la melanina puede influir como antimicrobiano y antifúngico, un claro ejemplo es el reportado por Salomi, *et al.* [45], en el cual se extrajo melanina a partir de *Aspergillus niger*, un hongo de importancia clínica, la cual

demostró tener actividad antimicrobiana contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens*. La Tabla 6 muestra la actividad funcional antimicrobiana y antioxidante de la melanina proveniente de diversas fuentes.

Tabla 6. Actividad funcional de la melanina proveniente de diversas fuentes.

Fuente de la melanina	Actividad funcional	Referencia
<i>Pseudomonas balearica</i>	Actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> 3937VIII y <i>Erwinia carotovora</i> 197 Stp ^R y actividad antioxidante.	[46]
<i>Aspergillus bridgeri</i> ICTF-201	Actividad antioxidante, no mostró actividad antimicrobiana contra <i>Bacillus subtilis</i> MTCC 121, <i>Micrococcus luteus</i> MTCC 2470, <i>Staphylococcus aureus</i> MTCC 96, <i>Escherichia coli</i> MTCC 739, <i>Klebsiella planticola</i> MTCC 530, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MTCC 2453 y <i>Candida albicans</i> MTCC 3017.	[47]
<i>Auricularia auricula</i>	Actividad antioxidante.	[48]
<i>Auricularia auricula</i> CGMCC971	Actividad antioxidante.	[49]
Melanina aislada a partir de desechos agroindustriales del vino.	Actividad antimicrobiana contra <i>Bacillus subtilis</i> G 17–89, <i>Salmonella typhimurium</i> G 38, <i>Escherichia coli</i> K 12, <i>Candida gropengiesseri</i> 10228 y <i>Candida bovina</i> 10118. Actividad antifúngica contra <i>Aspergillus fumigatus</i> 8444, <i>Aspergillus flavus</i> 10559, <i>Cladosporium herbarium</i> 8270, <i>Cladosporium elatum</i> 8192, <i>Fusarium oxysporum</i> 12017, <i>Fusarium solani</i> 12018, <i>Mucor hiemalis</i> 12020, <i>Mucor plumbeus</i> 12021, <i>Penicillium chrysogenum</i> 8203 y <i>Penicillium expansum</i> 8281.	[50]
<i>Actinoalloteichus</i> sp. MA-32	Actividad antioxidante y actividad antimicrobiana contra las bacterias grampositivas <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , y las bacterias gramnegativas	[51]

	<i>Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Shigella dysenteriae, Shigella boydii.</i>	
Tinta de Sepia	Actividad antioxidante.	[52]
Galato de epigallocatequina (EGCG)	Actividad antimicrobiana contra las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 43895 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2592 y actividad antioxidante.	[53]
<i>Lachnum</i> YM-34	Actividad antioxidante.	[54]
No especificado	Actividad antimicrobiana contra las cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> y actividad antioxidante.	[55]
<i>Streptomyces</i> sp. NEAE-H	Actividad anticancerígena. Sin actividad antimicrobiana contra las cepas de <i>Staphylococcus aureus, Alternaria solani, Bipolaris oryzae, Sacchromyces cerevisiae, Candida albicans, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Aspergillus niger</i> y <i>Klebsiella pneumoniae.</i>	[56]
<i>Streptomyces</i> sp.	Actividad antioxidante.	[57]
<i>Aspergillus niger</i>	Actividad antimicrobiana contra las cepas de <i>Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Escherichia coli, Salmonella typhi, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Serratia marcescens</i>	[45]

1.1.3.2 Compuestos bioactivos a partir de residuos agrícolas

Las principales fuentes de fitoquímicos derivados de alimentos son frutas, verduras, legumbres, granos enteros, nueces, semillas, hongos, hierbas y especias, pero también es posible encontrarlos en sus desechos. Este tipo de residuos representa una problemática mundial que impacta negativamente en el sistema ambiental debido a su inadecuada gestión actual. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estimó que las pérdidas de frutas y verduras pueden llegar hasta el 60% de la producción hortícola total, y el 25-30% del total de subproductos agroalimentarios se generan durante el procesamiento de frutas (véase Tabla 7) [58]. En México, el procesamiento industrial de frutas (limones, peras, jitomates, manzanas, papayas, piñas, plátanos y naranjas), cereales (maíz), y vegetales (frijoles, zanahorias, lechugas y papas) generan alrededor de 76 millones de toneladas

de desperdicio anualmente [59]. La amplia disponibilidad, los grandes volúmenes y los bajos costos hacen de los residuos agroalimentarios una fuente considerable de compuestos bioactivos que pueden ser extraídos mediante metodologías sostenibles. La mayoría de los subproductos derivados de la transformación agroindustrial, como los residuos de granos, legumbres, frutas y verduras son ricos en macronutrientes (carbohidratos, proteínas y ácidos grasos) y micronutrientes (vitaminas, hierro, calcio y potasio). Muchos de estos componentes se consideran compuestos bioactivos (incluyendo no nutrientes) debido a la presencia de fitoquímicos, generalmente producidos a partir del metabolismo primario y secundario de las células vegetales, que juegan un papel clave en el crecimiento y desarrollo de las plantas [58].

Tabla 7. Cantidad de residuos de algunos cultivos producidos en el mundo en 2020 [60].

Cultivo	Producción Mundial (Millones de Toneladas)	Relación Residuo/Cultivo	Cantidad de Residuos (Millones de Toneladas)
Caña de azúcar	1869.7	0.1	189.1
Maíz	1162.4	2.0	2324.8
Trigo	760.9	1.2	897.9
Arroz	756.7	1.0	756.7
Papa	359.1	0.4	143.6
Soya	353.5	1.5	530.3
Jitomate	186.8	3.5	653.8
Cebada	157.0	1.2	185.3
Plátano	119.8	0.6	71.9
Pepino	91.3	4.5	410.9
Manzanas	86.4	0.2	21.6
Uvas	78.0	0.3	23.4
Naranjas	75.5	0.5	37.8
Aceitunas	23.6	0.1	2.8

Los fitoquímicos en algunos de los subproductos alimentarios más populares, con la mayor cantidad generada en el mundo, así como sobre sus propiedades y aplicaciones potenciales se muestran en la (Figura 1) [60].

Actividad antioxidante, antiradicalaria, actividad antimicrobiana, usada como aditivo alimentario nutraceutico.	Ácidos fenólicos, secoiridoles y flavonoides.			Ácidos orgánicos, ácidos fenólicos, rutósidos, catequina, flavonoides y compuestos volátiles.	Actividad antidiabética, antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, usado como conservador natural en alimentos.
Actividad antioxidante, antimicrobiana, actividad antihiper glucémica, usada como agente reductor.	Ácido gálico, cumárico, cafeico, clorogénico y ácidos cinámicos, isoflavonas, quercetina.			Ácidos fenólicos, flavonoides, catequinas, antocianinas, resveratrol y ácidos grasos.	Actividad antioxidante, antiinflamatoria, antiproliferativa, aditivo alimentario, colorante.
Actividad antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, anticancerígena, usado como conservador, estabilizador y colorante.	Ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas.			Ácidos fenólicos (clorogénicos, ferúlicos), flavonoides (quercetina), dihidrochalconas (florizina), catequinas.	Actividad antioxidante, antitumoral, antiinflamatoria, antimicrobiana, antidiabética, antiobesidad, inhibidor de corrosión.
Actividad antioxidante, hepatoprotectora, antiinflamatoria y antiobesidad, usado como precursor de hormonas.	Ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y glicocaloides.			Ácidos fenólicos (elárgico, ferúlicos), flavonoides y catequinas.	Actividad antioxidante, antimicrobiana, inhibidor de la agregación plaquetaria, actividad antihiper glucémica, biofungicida.
Actividad antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, antiestrogénica, cardiovascular.	Ácidos fenólicos, isoflavonas, lecitina, catequinas y saponinas.			Ácidos fenólicos, flavonoides, isoflavonas, resveratrol y carotenoides.	Actividad antioxidante, usado como aditivo alimenticio, colorante natural.

-  Aplicaciones de sus propiedades
-  Fitoquímicos

Figura 1. Residuos agrícolas y sus propiedades y aplicaciones de sus fitoquímicos. Ilustración adaptada de Oleszek, et al. [60].

De acuerdo con la Figura 1, los fitoquímicos de los subproductos alimentarios más populares a nivel mundial provienen de las cáscaras de los cítricos; semillas, pulpa, cáscara, tallos y hojas de las uvas; cáscara, piel, pulpa, semillas y tallos de las manzanas; cáscaras, fruta podrida, hojas, tallos y flores de los plátanos; cáscaras, semillas, tallos, hojas y pulpa de jitomates; hojas, vaina, pericarpio y ramas de soya; cáscara de papa; cáscara, mazorca y fibra de maíz; bagazo de caña de azúcar, así como, orujo, hojas y aguas residuales de almazaras de las aceitunas [60]. Los residuos agroindustriales contienen una rica variedad de compuestos bioactivos derivados del cultivo y procesamiento de productos agrícolas. Cualquier parte de las plantas, como cáscaras, semillas, hojas, raíces y tallos, puede ser una fuente significativa de estos compuestos. Algunos de los grupos de compuestos bioactivos más importantes incluyen compuestos fenólicos, aceites esenciales y carotenoides, proteínas y péptidos, ácidos grasos y esteroides, polisacáridos y fibras dietéticas, saponinas y alcaloides. Estos compuestos bioactivos no solo ofrecen beneficios para la salud humana, sino que también presentan oportunidades para la valorización de residuos agroindustriales, promoviendo prácticas más sostenibles y económicas en la industria alimentaria [59].

Por otro lado, residuos agroindustriales de diversos sectores de procesamiento contribuyen al aumento de la biomasa, la mayoría de los cuales son depositados en vertederos o simplemente desechados de manera inadecuada. Los principales problemas asociados con este aumento en la producción de biomasa incluyen el potencial combustible y microbiológico, atribuido a la biodisponibilidad de materiales orgánicos altamente energéticos. La acumulación de biomasa contribuye a incendios en regiones de clima más seco, resultando en grandes pérdidas de ecosistemas. Además, estos residuos favorecen la proliferación de microorganismos, que, aunque son importantes para la descomposición, a gran escala se convierten en un problema mayor asociado principalmente con la producción de gases de efecto invernadero, productos tóxicos de degradación y proliferación de bacterias y hongos patógenos [61]. Debido a la abundancia de los residuos agroindustriales, los países en desarrollo sufren de una permanente falta de alternativas viables para la recuperación y reutilización de estos insumos valiosos, que normalmente son incinerados, aumentando la producción de gases de efecto invernadero, contribuyendo a la pérdida de potencial energético, empeorando las crisis sanitarias y afectando la calidad de vida de la población. Aunque la materia orgánica presente en los residuos agroindustriales es una fuente de componentes valiosos, pocas tecnologías ofrecen seguridad en cuanto al proceso de recuperación, purificación y concentración de estos compuestos químicos. Además, es importante destacar que pocas tecnologías en desarrollo ofrecen ventajas en términos de datos operacionales que puedan aplicarse a la ampliación de escala. En este contexto, la aplicación potencial de tecnologías innovadoras ha sido el foco de las discusiones en el contexto de la reutilización sostenible de residuos, así como los desafíos de consolidar estas tecnologías en el entorno industrial mediante la generación de oportunidades para la investigación y el desarrollo tecnológico [61].

1.2 Definición del problema

El desarrollo de empaques innovadores con propiedades activas, como aquellos capaces de mejorar la preservación de alimentos mediante la liberación controlada de compuestos antimicrobianos o antioxidantes, enfrenta múltiples desafíos en la actualidad. Uno de los principales problemas es la complejidad técnica asociada con la incorporación efectiva y segura de estos agentes activos en los materiales de empaque. Estos compuestos deben mantenerse estables durante el proceso de fabricación y a lo largo de toda la vida útil del producto, sin comprometer su eficacia. Además, deben

liberarse en el momento adecuado y en la dosis correcta para ser efectivos sin afectar las propiedades organolépticas de los alimentos, como el sabor y el olor. Los agentes activos, al ser integrados en los materiales de empaque, deben soportar rigurosas condiciones de procesamiento, incluyendo altas temperaturas y manipulación externa intensa, sin degradarse o perder funcionalidad. La técnica de distribución uniforme de los agentes activos dentro de la matriz polimérica también es crítica, una distribución desigual puede resultar en un desempeño inconsistente del empaque, con áreas sobrecargadas de agente activo y otras sin suficiente cantidad para ser efectivas. Además de estos retos técnicos, se deben considerar las interacciones potenciales entre los agentes activos y los componentes del alimento, así como los posibles efectos secundarios no deseados que pudiesen surgir, tales como cambios en el sabor, color o textura del producto alimenticio. Esto requiere una cuidadosa selección de agentes activos y una comprensión detallada de su comportamiento en diferentes matrices poliméricas.

Por otra parte, los desechos de la cáscara de nuez representan un problema ambiental significativo debido a la gran cantidad producida por la industria agroalimentaria. La producción de nuez pecana genera una vasta cantidad de residuos de cáscara, los cuales son generalmente desechados sin un uso específico. Sin embargo, estos desechos son una fuente potencial de compuestos bioactivos, como la melanina, que podrían ser aprovechados en la fabricación de empaques activos. La melanina extraída de la cáscara de nuez ha mostrado propiedades antioxidantes y antimicrobianas, lo que potencia su uso en materiales de empaque biodegradables. La integración de melanina en matrices poliméricas, a través de técnicas avanzadas como el electrohilado, ofrece una solución innovadora y sostenible para la preservación de alimentos. El proceso de electrohilado permite la creación de fibras de área superficial específica, lo que podría mejorar la eficacia de la liberación de agentes activos. Sin embargo, este proceso requiere una optimización precisa para asegurar que la melanina mantenga su bioactividad durante y después de su incorporación en las fibras poliméricas. Es fundamental también evaluar la compatibilidad entre la melanina y la matriz polimérica seleccionada, en este caso, una combinación de PCL y GT. La elección de estos polímeros responde a su biocompatibilidad y biodegradabilidad, características esenciales para la aplicación en empaques de alimentos. No obstante, la interacción entre la melanina y estos polímeros debe ser minuciosamente estudiada para asegurar que no se comprometan las propiedades mecánicas y funcionales del empaque final.

El desarrollo de empaques activos utilizando melanina extraída de la cáscara de nuez presenta una oportunidad para mejorar la conservación de alimentos de manera sostenible. Sin embargo, se requiere una investigación exhaustiva y multidisciplinaria para abordar los desafíos técnicos asociados con la incorporación de agentes bioactivos en materiales de empaque, garantizando su estabilidad, eficacia, biodegradabilidad y seguridad. Esta iniciativa no solo contribuirá a la reducción del desperdicio agroalimentario y la contaminación ambiental, sino que también mejorará la calidad y seguridad de los productos alimenticios, ofreciendo una solución innovadora y sostenible para la industria de empaques.

1.3 Justificación

En el contexto actual de la industria alimentaria, la necesidad de desarrollar materiales de empaque activos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas biodegradables se ha intensificado debido a varios factores críticos. Uno de los desafíos más apremiantes es la creciente preocupación por la seguridad alimentaria y la necesidad de reducir las pérdidas postcosecha, que no solo afectan la economía global sino también la disponibilidad de alimentos para una población mundial en aumento. En este sentido, los empaques activos juegan un papel crucial al mejorar la vida útil de los productos alimenticios frescos y procesados, minimizando el deterioro causado por microorganismos patógenos y la oxidación. La cáscara de nuez, un subproducto abundante de la industria agroalimentaria, que emerge como una fuente prometedora de melanina, un pigmento natural reconocido por sus propiedades bioactivas. La melanina ha demostrado ser efectiva como agente antioxidante y antimicrobiano en diversas aplicaciones, desde la medicina hasta la industria de empaques. Su capacidad para neutralizar los radicales libres e inhibición del crecimiento microbiano la convierte en un candidato ideal para mejorar la conservación de alimentos frescos y procesados mediante empaques innovadores. La integración de melanina en matrices poliméricas biodegradables para empaques activos no solo permite aprovechar un recurso subutilizado y reducir la huella ambiental de la industria agroalimentaria, sino que también abre nuevas posibilidades en términos de sostenibilidad y eficiencia económica. Al transformar un residuo agrícola en un recurso valioso, se contribuye a cerrar el ciclo de vida de los productos alimenticios, fomentando prácticas más responsables en la cadena de suministro. Los empaques activos con melanina ofrecen ventajas significativas en términos de prolongación de la vida útil de los alimentos,

manteniendo su calidad sensorial y nutricional a lo largo del tiempo. Este enfoque no solo responde a la demanda creciente de soluciones innovadoras en empaques, sino que también se alinea con los principios de economía circular y responsabilidad ambiental, promoviendo un consumo más consciente y una gestión más eficiente de los recursos naturales. Este enfoque multidisciplinario no solo tiene el potencial de transformar la industria alimentaria, sino también de contribuir a la valorización de un residuo agrícola.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Desarrollar, mediante electrohilado, un polímero con un compuesto bioactivo con actividad antioxidante y antifúngica, proveniente de la cáscara de nuez pecana.

1.4.2 Objetivos específicos

- Desarrollar la matriz polimérica a base de PCL/gelatina con el compuesto bioactivo de melanina por electrohilado.
- Estudiar las propiedades antioxidantes, antifúngicas y biodegradables del polímero PCL/gelatina con melanina desarrollado por electrohilado.

1.5 Hipótesis

La presencia de melanina como compuesto bioactivo en la matriz polimérica de membranas electrohiladas a base de PCL/gelatina mejora la actividad antioxidante y antifúngica de la membrana.

2

Marco Teórico

2.1 Desperdicio de alimentos

En México se desperdician más de 10 mil toneladas de alimentos al año, que representan el 37% de la producción agropecuaria en el país. Si se recuperaran, los alimentos desperdiciados se podrían alimentar durante semanas a los 7.4 millones de personas que padecen de pobreza extrema y carencia alimentaria [58], [59].

El desperdicio de alimentos es un problema complejo que surge de una combinación de factores a lo largo de la cadena de suministro alimentaria, desde la producción y procesamiento hasta el consumo final. El desperdicio de alimentos es el resultado de una interacción compleja de factores conductuales, operativos, sociodemográficos, regulatorios y culturales. Abordar este problema requiere un enfoque integral que incluya la educación del consumidor, mejoras en la eficiencia de la cadena de suministro, políticas de gestión de residuos más efectivas y un cambio en las percepciones culturales sobre el valor de los alimentos.

2.2 Empaques de alimentos

Un empaque es la estructura rígida o semirrígida que sirve para contener un producto y que se encuentra en contacto directo con el producto. Su propósito principal es proteger los productos alimenticios de influencias externas como daños biológicos, químicos o mecánicos, contener los alimentos, preservarlos en el estado en que fueron empaquetados evitando su deterioro y atraer a los consumidores proporcionando información sobre el producto y su contenido nutricional [62]. Los empaques de alimentos juegan un papel crucial en la prevención del desperdicio de alimentos por razones que van desde la protección física hasta la mejora de la conservación. En primer lugar, los empaques protegen los alimentos de la degradación física y química durante el almacenamiento y el transporte. Sin esta protección, los alimentos estarían expuestos a factores ambientales adversos como la humedad, la luz, el oxígeno y los contaminantes, que pueden acelerar su deterioro. Por ejemplo, los envases herméticos y con barreras contra la humedad y el oxígeno ayudan a mantener la frescura y la calidad de los productos alimenticios, prolongando su vida útil y reduciendo así el desperdicio [62].

Además, el diseño de los empaques puede influir significativamente en el comportamiento del consumidor y en la cantidad de desperdicio generado. Los empaques que facilitan el uso y almacenamiento adecuado de los alimentos, como aquellos con cierres reutilizables o porciones más pequeñas, ayudan a los consumidores a utilizar los productos de manera más eficiente y evitar que se echen a perder antes de ser consumidos. Por ejemplo, empaques con porciones individuales son especialmente útiles para reducir el desperdicio en hogares pequeños o para personas que viven solas [62].

Otro aspecto importante es la información proporcionada en los empaques. Etiquetas claras y precisas sobre la fecha de caducidad, instrucciones de almacenamiento y recomendaciones de uso pueden ayudar a los consumidores a manejar mejor los productos alimenticios, evitando el desperdicio debido a la mala interpretación de la frescura del producto. Además, los empaques inteligentes que monitorean la frescura de los alimentos y avisan al consumidor cuando un producto está cerca de su fecha de vencimiento pueden ser una herramienta eficaz para reducir el desperdicio [62].

El impacto ambiental de los empaques también es un factor que considerar. Aunque el empaque en sí puede generar residuos, este ayuda a reducir significativamente el desperdicio de alimentos, el beneficio neto para el medio ambiente puede ser positivo. El desperdicio de alimentos tiene una huella de carbono considerable, por lo que cualquier reducción en la cantidad de alimentos que se tiran contribuye a disminuir el impacto ambiental global [62].

2.2.1 Clasificación de empaques

Los sistemas de empaque pueden clasificarse en cuatro grupos, empaque primario, empaque secundario, empaque de distribución o terciario, y carga unitaria [63]. El empaque primario es aquel que está en contacto directo con los productos y será manejado por el consumidor, el empaque secundario agrupa unidades individuales (empaques primarios) para su transporte y puede estar diseñado para estar listo para el estante, donde puede mostrar el empaque primario para publicidad en puntos de venta y el empaque terciario es para el almacenamiento y manejo del producto empaquetado secundariamente [64]. La carga unitaria se refiere al agrupamiento de múltiples unidades de productos individuales en un solo conjunto más grande para facilitar su manejo, almacenamiento y transporte.

2.2.2 Materiales usados en empaques de alimentos primarios

La correcta selección de los materiales y tecnologías de empaque mantienen la calidad y frescura del producto durante su transporte y manipulación. Los materiales que tradicionalmente han sido utilizados en los empaques alimenticios incluyen vidrio, metales (aluminio, láminas y laminados, hojalata y acero sin estaño), papel, cartón, y plásticos [65]. Los plásticos son la mejor opción para los procesadores de alimentos debido a su maleabilidad, su agradable estética, baja densidad y coeficiente de fricción [66]. Además, de introducirse una amplia variedad de plásticos tanto en formas rígidas como flexibles.

2.2.2.1 Plástico

Los plásticos son polímeros, que son compuestos químicos formados por largas moléculas compuestas de cadenas de pequeñas unidades repetitivas (monómeros). Los polímeros se formulan con diferentes aditivos para mejorar la apariencia, aumentar la

resistencia y, de este modo, cambiar las propiedades del material [66]. Los plásticos se pueden clasificar en polímeros termoestables y termoplásticos, siendo estos últimos los materiales de envasado más comunes para las industrias alimentarias ya que pueden reciclarse [67]. Los materiales termoplásticos utilizados para este propósito se clasifican con base a un código del 1 al 7 (Tabla 8) [68]. Cada tipo de plástico tiene diferentes aplicaciones según sus propiedades específicas.

Tabla 8. Termoplásticos y su uso en el empaque de alimentos [68].

Código	Materiales termoplásticos	Aplicaciones de empaque
1	Tereftalato de polietileno (PET)	Botellas de bebidas Envases para microondas Botellas de refrescos Tarros de comida para mantequilla Tarros de gelatina Películas plásticas
2	Polipropileno (PP)	Botellas de bebidas Botellas para leche y jugos
3	Acetato de polivinilo (PVA)	Envases comunes de alimentos
4	Cloruro de polivinilo (PVC)	Bolsas plásticas Películas para alimentos congelados Tapas de contenedores
5	Poliestireno (PS)	Contenedores de alimentos Tapas de botellas Botellas de medicamentos Popotes
6	Polietileno de baja densidad (LDPE)	Vasos desechables Tazas Platos Cucharas
7	Polietileno de alta densidad (HDPE)	Envases personalizados

Aunque los polímeros de fuentes petroquímicas son principalmente utilizados para el envasado de alimentos, ha surgido una tendencia a reemplazarlos con bioplásticos por razones de sostenibilidad y problemas ambientales. Otro aspecto específico de los plásticos en el envasado de alimentos incluye el impacto de la migración de monómeros, oligómeros y aditivos hacia los alimentos, afectando así la calidad alimentaria y, en el peor de los casos, la salud humana, pese a los impactos negativos,

el uso de plásticos en el envasado de alimentos es altamente rentable y creciente debido al bajo costo y sus ventajas funcionales [67].

La necesidad de abordar la urgente contaminación plástica ha escalado a una crisis global. Se han lanzado varias medidas políticas y acciones voluntarias por parte de organismos públicos y privados para abordar los problemas causados por los envases plásticos de alimentos. Estas acciones incluyen políticas y regulaciones para reducir o prohibir los plásticos de un solo uso, como compromisos colaborativos y pactos para fomentar la economía circular de los plásticos. A pesar de estos esfuerzos, se prevé que el uso de plásticos aumentará. Por otra parte, la reducción del uso de plásticos en el envasado de alimentos puede conducir a problemas ambientales más grandes en la cadena alimentaria, por ejemplo, en términos de pérdida de alimentos [69].

2.2.2.1.1 Biopolímeros

El uso de biopolímeros como material de empaque está convirtiéndose en una tendencia emergente a nivel mundial debido a sus grandes beneficios sobre los plásticos, tales como biodegradabilidad, no toxicidad y biocompatibilidad. Estos biopolímeros naturales tienen excelentes estructuras cohesivas formadoras de películas. Los biopolímeros utilizados como materiales de embalaje de alimentos son principalmente polisacáridos, proteínas y poliésteres alifáticos, que pueden mantener la calidad de los alimentos y aumentar la vida útil del producto. Estos materiales tienen propiedades de barrera que controlan el intercambio de gases, humedad, aroma y lípidos con el entorno externo y viceversa, poseen actividad antimicrobiana que puede proteger el producto alimenticio del entorno externo y previenen la pérdida de compuestos deseables como el sabor y la textura [70]. Actualmente, biopolímeros como el almidón, la celulosa y el ácido poliláctico (PLA) se utilizan para materiales de embalaje de alimentos. Sin embargo, la principal limitación del uso de biopolímeros en el embalaje de alimentos es su débil resistencia mecánica y su alta sensibilidad a la humedad [70]. La Tabla 9 muestra las ventajas y desventajas de diferentes biopolímeros utilizados en el embalaje de alimentos.

Tabla 9. Ventajas y desventajas de diferentes biopolímeros en el envasado de alimentos [70].

Biopolímero	Ventajas	Desventajas
Biopolímeros a base de almidón		
Almidón	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • No tóxico • Bajo costo • Incoloro, insípido e inodoro 	<ul style="list-style-type: none"> • Capacidad de procesamiento limitada • Mala resistencia al agua

	<ul style="list-style-type: none"> • Buenas propiedades de barrera • Baja permeabilidad al vapor de agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Propiedades mecánicas bajas • Hidrofílico • Propiedades térmicas bajas • Frágil
Cs	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • No tóxico • Actividad antimicrobiana • Actividad antioxidante • Biocompatible • Bajo costo de producción • Flexible 	<ul style="list-style-type: none"> • Alta hidrofobicidad • Bajas propiedades de barrera al vapor de agua • Frágil • Baja elasticidad
Biopolímeros a base de proteínas		
GT	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • No tóxico • Biocompatible • Bajo costo • Flexible • Transparente • Baja permeabilidad de vapor de agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Malas propiedades mecánicas • Baja procesabilidad • Baja resistencia a la tensión
Zeína	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • Renovable • No tóxico • Alta resistencia térmica • Hidrofóbico • Propiedades antimicrobianas • Propiedades antioxidantes 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja flexibilidad • Baja resistencia mecánica • Pobre elongación en la rotura. • Frágil
Biopolímeros basados en poliésteres alifáticos		
PLA	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • Renovable • No tóxico • Propiedades antimicrobianas • Buena resistencia mecánica • Rígido • Bajo costo 	<ul style="list-style-type: none"> • Bajas estabilidad térmica • Frágil • Propiedades mecánicas pobres.
PCL	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradable • Renovable • No tóxico • Alta cristalinidad • Buenas propiedades térmicas • Buenas propiedades mecánicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Propiedades de barrera pobres

Por su parte, la PCL es un poliéster sintético biodegradable, no tóxico y no inmunogénico. La PCL es propensa a la hidrólisis en condiciones fisiológicas, lo que lo vuelve biodegradable. Su definida composición química, pureza, compatibilidad inmunológica e inherente homogeneidad lo convierten en un material biocompatible [71]. La gelatina, es una proteína congénere del colágeno y sus cadenas desplegadas de péptidos atrapan una cantidad considerable de agua. Dado que proviene del colágeno, los aminoácidos mayormente abundantes en la gelatina son la glicina, prolina y la hidroxiprolina, sin embargo, su rápido tiempo de degradación y superficie altamente hidrofílica pueden no ser apropiadas como material de base. En contraparte, la PCL, es altamente hidrófoba y posee una lenta tasa de biodegradación. Por ende, una mezcla de PCL y GT a través de una estructura híbrida de nanofibras puede compensar sus respectivas deficiencias individuales [72].

2.2.3 Limitaciones de los empaques de alimentos tradicionales.

El empaque pasivo tradicional no es eficaz en la protección de productos alimenticios debido al enfoque hacia la distribución y el almacenamiento de alimentos. Además, la vida útil prolongada de los alimentos procesados, las estrictas regulaciones sobre aditivos alimentarios y la demanda de los consumidores de una mínima adición de conservantes a los productos alimenticios han llevado a la innovación del embalaje. La migración de compuestos del embalaje al producto, causando malos olores, sabores extraños u otros compuestos, puede suponer un riesgo si la migración ocurre en condiciones que puedan causar preocupaciones regulatorias. Otra interacción que podría afectar la calidad y/o seguridad de los productos es la absorción de componentes del producto en el embalaje. Algunas de estas interacciones pueden eventualmente afectar la integridad general del paquete y, por lo tanto, del producto [66]. La migración generalmente describe un proceso no deseable de difusión que puede estar fuertemente influenciado por la interacción de componentes del alimento con el material de empaque. Esta interacción puede atribuirse a las propiedades del material de empaque. Algunos componentes de los alimentos interactúan, particularmente las grasas, interactúan con los aditivos incluidos en las formulaciones de plásticos como el polietileno o el polipropileno, favoreciendo considerablemente la movilidad de los componentes plásticos, facilitando así su migración hacia el alimento contenido. Aditivos plásticos, monómeros, oligómeros y contaminantes, son algunas de las sustancias que migran de los empaques alimenticios hacia los alimentos [73].

El dinamismo en la industria alimentaria ha impulsado el desarrollo de envases que prolonguen la vida útil del producto mientras se garantiza su seguridad y calidad. La seguridad del embalaje y la reducción del desperdicio son aspectos clave en la globalización, la armonización y las barreras comerciales. Además de la reducción de peso de los materiales convencionales, el desarrollo de nuevos materiales de embalaje sostenibles, reciclables y/o biodegradables aumenta la presencia de productos ecológicos en la cadena alimentaria [74].

2.2.4 Tecnologías en el empaqueo de alimentos

Los conceptos modernos de embalaje involucran la combinación de materiales renovables con las últimas tecnologías innovadoras, como las nanotecnologías. Las nuevas tecnologías de embalaje, como el envasado inteligente, incorporan deliberadamente componentes activos destinados a liberar o absorber sustancias en el alimento envasado o en su entorno, actuando en diversas reacciones de degradación del alimento o como portadores de compuestos de interés. Cuando el alimento entra en contacto con el embalaje, comienza un proceso de transferencia de masa de los componentes del material de embalaje al alimento y viceversa, conocido como interacción alimento-embalaje, que incluye una migración química. La introducción de nuevos materiales y tecnologías ha transformado profundamente el panorama del envasado de alimentos, y el uso de biopolímeros es una de las tendencias tecnológicas más recientes, dirigidas a mejorar el rendimiento de los materiales utilizados actualmente y/o a producir envases respetuosos con el medio ambiente. Las tendencias del estilo de vida moderno, como la menor preparación de alimentos y la alimentación sobre la marcha, han resultado en un aumento progresivo del uso de embalajes por unidad de producto. Los bioplásticos, derivados de fuentes renovables, suelen ofrecer ventajas en términos de reducción del consumo de recursos fósiles y emisiones de dióxido de carbono. Los envases alimentarios antimicrobianos han aumentado significativamente como una alternativa para controlar microorganismos no deseados, ofreciendo beneficios adicionales para la salud humana al mejorar la calidad nutricional y reducir la necesidad de aditivos, lo que a su vez prolonga la vida útil del producto [74]. Es crucial evaluar la seguridad de los materiales en contacto directo con los alimentos, lo que incluye la identificación y cuantificación analítica de sustancias dañinas en los materiales de embalaje, así como la posible transferencia de masa al interior de los alimentos. Uno de los principales roles asignado a los materiales de empaque en términos de calidad de los alimentos y seguridad es el control de la

transferencia de masa entre el alimento, el empaque y la atmósfera. Esto adicionando la logística, costo y problemas ambientales. Así como la protección contra la luz y daños mecánicos, los empaques alimenticios deben controlar la transferencia de los principales gases (oxígeno, dióxido de carbono, etileno, etc.) y vapores (humedad, compuestos aromáticos, etc.) involucrados en la degradación de los alimentos (físicoquímica, biológica, microbiológica), adicionalmente la migración de aditivos y constituyentes potencialmente tóxicos (especialmente para formulaciones complejas) [74].

2.2.4.1 Control de la transferencia de los gases y vapores

La propiedad de barrera contra la humedad es un requerimiento básico en el envasado de alimentos ya sean húmedos o secos, en orden de preservar la textura y controlar el desarrollo de microorganismos aéreos patógenos. El empaque protege de igual forma al alimento del oxígeno, el cual actúa como factor principal en la degradación de la calidad organoléptica y nutricional del alimento mediante la oxidación de vitaminas, compuestos aromáticos, pigmentos, lípidos y proteínas. El oxígeno también se relaciona al desarrollo microbiano y la tasa de maduración de productos vivos frescos tales como frutas y vegetales o en quesos fermentados [74]. En este sentido, el dióxido de carbono necesita ser preservado en la mayoría de las bebidas carbonatadas, sin embargo, está relacionado con la inhibición de la tasa de respiración en los productos vivos y utilizado como agente bacteriostático y fungistático. La tasa de transmisión de dióxido de carbono o permeabilidad es, por tanto, uno de los criterios de importancia en la selección en los materiales de empaque de alimentos. La propiedad de barrera de los compuestos aromáticos es un elemento fundamental en la preservación en el sabor de los alimentos tales como el café y los jugos, por ejemplo. Otras propiedades como la transferencia de masa del etileno (para productos sensibles) o transferencia de masa de amoníaco (para quesos) requiere ser considerada. La preservación de la integridad de la película física es esencial para garantizar las propiedades de barrera. Las propiedades mecánicas son por lo tanto requerimientos esenciales para la protección de alimentos [74]. Los absorbentes de humedad son los ejemplos más conocidos de envases de absorción activa y dependen principalmente de la adsorción de agua mediante la incorporación de sustancias absorbentes (como gel de sílice, tamices moleculares, óxido de calcio y arcillas naturales) en un sobre para su uso con el envase. Los absorbentes de humedad son una forma efectiva de controlar la acumulación excesiva de agua dentro de los envases de alimentos con alto contenido

de agua (como carne, pescado, aves y productos frescos), lo cual es importante para inhibir el crecimiento bacteriano y mejorar la presentación del producto [75].

Por su parte, el dióxido de carbono (CO_2) inhibe eficientemente el crecimiento superficial de una variedad de bacterias y hongos aerobios al reducir los niveles relativos de oxígeno y ejercer efectos antimicrobianos directos (a concentraciones de CO_2 entre 10% y 80%) en el envasado de alimentos. Por lo tanto, se utiliza como gas de purga en sistemas de atmósfera modificada (MAP, por sus siglas en inglés) para ayudar a mantener la frescura y prolongar la vida útil, especialmente en el envasado de carne fresca, aves, pescado y queso. Sin embargo, para algunos alimentos productores de CO_2 (como productos hortícolas frescos y alimentos fermentados), el exceso de este gas en un envase puede causar altos niveles de disolución de CO_2 en los alimentos, aumentando la presión del envase debido a la baja permeabilidad del dióxido de carbono a través del material de envasado. Los empaques que absorben dióxido de carbono pueden provocar cambios indeseables en la calidad del producto, como alteraciones en el sabor y la textura, el desarrollo de glicólisis anaeróbica no deseada en frutas, o el colapso del paquete [75]. En casos donde la reducción del nivel de CO_2 en el empaque de alimentos puede mejorar la calidad del alimento, los absorbentes de dióxido de carbono pueden ser un medio efectivo para preservar la calidad de los alimentos y la integridad del empaque. La eliminación o absorción de CO_2 de una fase gaseosa se puede lograr teóricamente mediante la adsorción física, la condensación criogénica, la separación por membrana y una reacción química con una solución alcalina. Sin embargo, las dos últimas tecnologías no son adecuadas para aplicaciones de empaque de alimentos por sus limitaciones, como el uso de equipos de refrigeración y de alta presión, que se aplican a menudo en la fabricación y las plantas de energía. Por lo tanto, los absorbentes químicos y físicos no dañinos se han convertido en los dos principales métodos para la eliminación de CO_2 en los empaques de alimentos [75]. El envasado con atmósferas modificadas (MAP) se define como el envasado de alimentos en una atmósfera cuya composición se modifica inicialmente utilizando gases específicos y fijos, según un perfil deseado. Inhibe la oxidación de lípidos, el crecimiento bacteriano aeróbico y prolonga la vida útil del producto. Normalmente, el producto se envasa en un material barrera junto con una mezcla de gases, cuya composición depende de las propiedades del producto, la vida útil esperada, las propiedades de permeabilidad del material de envasado y las condiciones de almacenamiento. Durante el almacenamiento, la mezcla de gases dentro del paquete puede cambiar debido a la tasa de respiración del alimento envasado, la permeabilidad específica del material de envasado a los gases fijos, el tiempo y la temperatura. El O_2 ,

CO₂ y N₂ son los gases más utilizados en aplicaciones comerciales de atmósferas modificadas, aunque el CO, SO₂ y C₂H₄ también han sido utilizados según la naturaleza y las propiedades del producto a envasar [76].

2.2.4.2 Control de la actividad antimicrobiana y antioxidante

En este orden de ideas, los compuestos bioactivos son moléculas secundarias producidas en pequeñas cantidades en vegetales, frutas, granos y nueces. Estas moléculas muestran propiedades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas y antiinflamatorias. Cuando se consumen, se consideran benéficas para nuestra salud y tienen el potencial de ser extraídas y aplicadas como agentes antioxidantes o antimicrobianos en diferentes campos. Los compuestos bioactivos se clasifican en esenciales (vitaminas y minerales) y no esenciales (polifenoles, flavonoides, carotenoides, fitoesteroles, glucosinolatos, saponinas, alcaloides y aceites esenciales) [77]. Se han desarrollado películas bioactivas con nuevas y mejoradas propiedades, como efectos antioxidantes y antimicrobianos, colores atractivos y propiedades de barrera y mecánicas personalizadas, utilizando biopolímeros y compuestos bioactivos naturales [78]. Algunos polímeros generados a partir de fuentes de residuos agro-renovables son comestibles y han desempeñado roles importantes en la alimentación a lo largo de la historia, así como en las industrias alimentaria, farmacéutica y otras. Los biopolímeros pueden ser utilizados solos o en combinación con otros biopolímeros para producir un material de recubrimiento o película comestible. En comparación con el embalaje polimérico no comestible, los recubrimientos y películas comestibles ofrecen varias ventajas. Pueden simplificar el embalaje de alimentos e, incluso si no se consumen con el producto empaquetado, pueden ayudar a la reducción de la contaminación ambiental debido a su naturaleza biodegradable [78]. Matrices poliméricas como polisacáridos, proteínas, lípidos y materiales compuestos se utilizan para crear materiales comestibles [78]. Los polisacáridos, incluidos el almidón, la celulosa y sus derivados, la pectina, la quitina, el quitosano, el colágeno, la caseína, la gelatina, la soya, el gluten, la zeína, la policaprolactona, el alginato de sodio, están entre los biopolímeros más comúnmente utilizados en la fabricación de películas activas [4, 78]. Debido a su abundancia en la naturaleza y biodegradabilidad, estos biopolímeros son ampliamente utilizados [78]. Procedimientos empleados en la producción de estas películas son el recubrimiento con agentes embebidos para la liberación controlada, la inmovilización superficial y el ensamblaje capa por capa [79].

2.2.4.2.1 Recubrimientos con agentes incorporados para liberación controlada

Los recubrimientos de liberación controlada son aquellos en los que los agentes activos se incorporan en las matrices de materiales poliméricos, de los cuales se espera que migren y ejerzan su función específica dentro de un producto empaquetado, ya sea antimicrobiana, antioxidante o nutracéutica. Los principales mecanismos son la extrusión y el moldeo por solución. El moldeo por solución consiste en la disolución del polímero destinado al empaque en un solvente y la incorporación simultánea del compuesto activo de interés. Mientras que, en la extrusión, el compuesto activo se incorpora con el material polimérico fundido por transferencia de calor formando una mezcla a partir de la cual se pueden formar películas. La liberación controlada depende de fenómenos físicos y químicos, como el grado de afinidad entre el compuesto activo y la matriz del material de empaque, así como su morfología y porosidad, que si es baja podría permitir una liberación más lenta [79].

2.2.4.2.2 Inmovilización superficial

Esta técnica se basa en la modificación de la superficie de materiales poliméricos para su uso en empaques activos. Los materiales de empaque de polímeros son típicamente inertes y requieren una funcionalización inicial para permitir la inmovilización de un agente activo. Las técnicas de activación de superficies de sustratos de polímeros plásticos se pueden dividir en métodos físicos y métodos húmedos. Los métodos físicos incluyen la exposición a la radiación ultravioleta y plasma. Los métodos húmedos implican el uso de líquidos corrosivos expuestos directamente a los sustratos poliméricos. El efecto principal de estos métodos de activación de superficies es la formación de especies reactivas de oxígeno en la superficie del polímero [79]. Una vez que una superficie polimérica ha sido funcionalizada, se pueden aplicar compuestos de diferentes funcionalidades mediante inmovilización covalente o no covalente. La unión no covalente se basa principalmente en interacciones electrostáticas y afinidad. La inmovilización covalente, implica el acoplamiento covalente del compuesto activo de interés en la superficie del polímero, la unión covalente entre una superficie polimérica y un compuesto activo se basa principalmente en la formación de amidas, éteres, ésteres y enlaces tioéter, creados entre los grupos hidroxilo, amina, imina, ácido carboxílico y tiol que los compuestos activos de interés pueden poseer intrínsecamente (o que se incorporan en su estructura) y los grupos funcionales creados en el sustrato [79].

2.2.4.2.3 Ensamblaje Capa por Capa

El ensamblaje capa por capa es un método versátil de modificación superficial que se basa en la deposición y atracción mutua de polielectrolitos alternos con cargas netas

opuestas sobre un soporte sólido. Un sustrato polimérico puede hacerse reactivo mediante los métodos de activación de superficie explicados anteriormente, impartiendo una cierta carga sobre él, o se puede unir covalentemente un polielectrolito en su superficie para aplicar posteriormente las capas alternas de polielectrolitos. Los polielectrolitos pueden ser polímeros de cualquier tipo (proteínas, polisacáridos o polímeros sintéticos) que posean una carga neta, y puedan ser modificados mediante la incorporación de grupos funcionales para facilitar su deposición. La deposición puede llevarse a cabo sumergiendo el sustrato en soluciones de polielectrolitos o rociando soluciones sobre el sustrato. La deposición puede depender exclusivamente de interacciones electrostáticas, o se pueden formar enlaces covalentes entre las capas alternas mediante el uso de agentes entrecruzantes [79].

2.2.4.3 Control de las propiedades del alimento y su entorno

El envasado inteligente se basa en la asociación intencional de los alimentos con su envase o su entorno, con el objetivo de mejorar las características de calidad y seguridad de los alimentos. Por lo tanto, proporciona señales para percibir y evaluar la frescura de los alimentos. Además de las funciones de monitoreo, también emplea adsorbentes y absorbentes de etileno, prolongando la vida útil y manteniendo las características de calidad de los productos alimenticios frescos. El etileno puede oxidarse a etanol y acetato mediante el uso de permanganato de potasio, o bien, puede eliminarse mediante el proceso de adsorción con carbón activado o zeolita. Estos adsorbentes y absorbentes pueden suministrarse en forma de sobres o añadirse al propio envase [80]. En el envasado inteligente existen diversas técnicas, por ejemplo, la identificación por radiofrecuencia (RFID), el cual es un sistema basado en ondas de radio que rastrea los artículos de manera inalámbrica. Las etiquetas RFID proporcionan información sobre la historia y los detalles del producto, lo que facilita su trazabilidad, aumentando la conveniencia y eficiencia en la gestión de la cadena de suministro, normalmente se aplican al empaque secundario o terciario [80, 81]. Existen, además, tintas capaces de cambiar de color según la temperatura. Estas tintas se pueden imprimir en envases o etiquetas, indicándole a un consumidor si un envase está demasiado caliente para tocarlo o lo suficientemente frío para beber. Las tintas utilizadas pueden ser afectadas negativamente por la luz ultravioleta y las temperaturas superiores a 121 °C, por lo que los consumidores no deben depender completamente del mensaje de las tintas a la hora de decidir el momento adecuado para consumir un alimento [82]. Por su parte, los indicadores de cocción en microondas detectan e indican visualmente el estado de preparación de los alimentos calentados en

microondas u horno, sin embargo, existen múltiples inconvenientes en estos indicadores como posibles falsas indicaciones debido al calentamiento no uniforme de los alimentos [81]. Por último, los biosensores son dispositivos analíticos utilizados para la detección de patógenos o toxinas en los alimentos. Este sistema inteligente detecta únicamente patógenos en la superficie del alimento, ignorando los organismos que potencialmente puedan encontrarse al interior del producto alimenticio, además de actuar únicamente cuando los alimentos contaminados presentan concentraciones elevadas de patógenos o toxinas, comprometiendo así la salud del consumidor [82].

2.3 Nanotecnología y electrohilado

La nanotecnología es un campo de la ciencia y la ingeniería dedicado al diseño, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño a escala nanométrica [83]. La nanotecnología tiene un gran potencial para la generación de materiales con propiedades específicas para un amplio número de aplicaciones. Los materiales a escala nanométrica exhiben propiedades físicas y químicas que difieren sustancialmente de sus contrapartes macroscópicas. El uso de la nanotecnología en el empaqueo de alimentos ha mostrado un gran potencial en la mejora de los materiales de empaque, mostrando nuevas funcionalidades, tales como características activas (p. ej., actividad antimicrobiana y antioxidante) e inteligentes (liberación controlada). El uso de nanoestructuras para encapsular compuestos activos e incluirlos en los materiales de empaque involucra metodologías como la extrusión o bien, por la metodología de capa por capa, proceso que involucra la técnica de electrohilado [84].

2.3.1 Principio de electrohilado

El electrohilado es una técnica que utiliza fuerzas electrostáticas para producir finas fibras a partir de soluciones poliméricas[85], mediante la deformación uniaxial o elongación de una gota de un polímero viscoelástico para formar un filamento con una alta porosidad y área superficial específica [9] obteniéndose como resultado fibras de tamaño micrométricas y nanométricas. El proceso de electrohilado implica la carga de una solución polimérica mediante una fuente de alto voltaje, al mismo tiempo que se controla la velocidad de alimentación volumétrica utilizando una bomba capilar.

Debido a la fuerza electrostática aplicada, ocurre una separación de cargas positivas y negativas dentro del líquido. Las cargas del mismo signo que la polaridad de la aguja se mueven hacia la superficie, lo que resulta en la formación de una gota de polímero cargada en la punta de la aguja. Al aumentar la intensidad del campo electrostático, la densidad de cargas en la superficie de la gota aumenta, lo que conduce a una mayor repulsión de cargas mutuas en la superficie del líquido. Esto, a su vez, provoca una expansión del área superficial de la gota, mitigando la repulsión. Consecuentemente, la forma de la gota cambia a un cono de Taylor (véase Figura 2). Una vez que el campo eléctrico alcanza un valor crítico, superando la tensión superficial de la solución polimérica, esta es expulsada desde la punta hacia un colector. Durante su trayectoria hacia el colector, la solución se solidifica debido a la rápida evaporación del disolvente y se deposita en el mismo [86, 87], estos procesos colectivamente resultan en la formación de fibras.

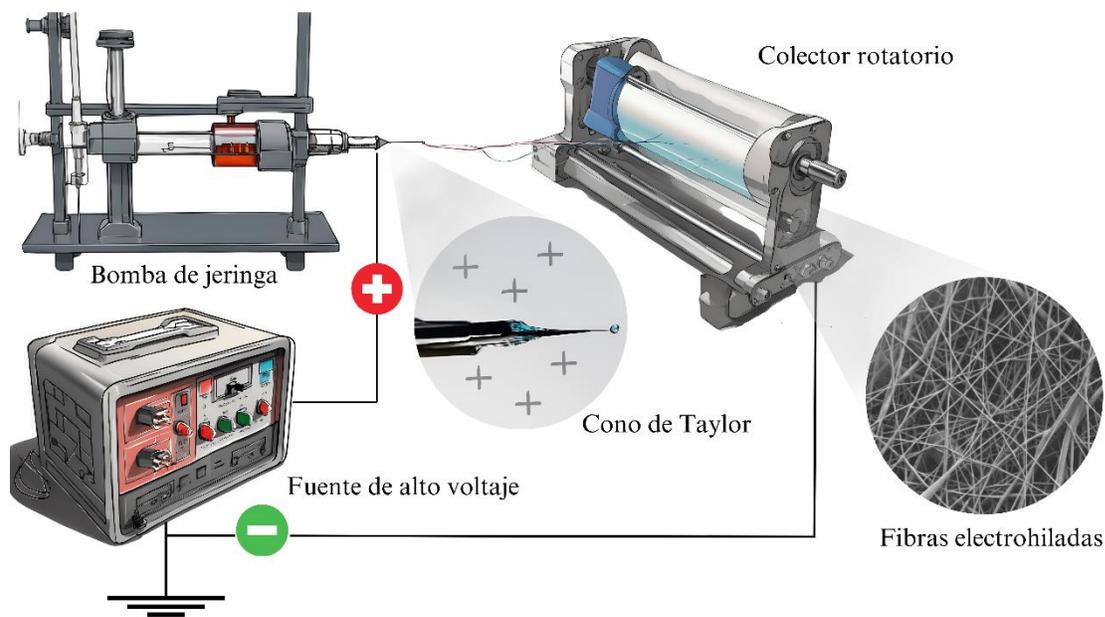


Figura 2. Dispositivo de electrohilado estándar de configuración horizontal.

2.3.2 Parámetros del electrohilado

Los factores que influyen en el proceso de electrohilado se clasifican en tres grupos principales, parámetros de la solución, parámetros del proceso y parámetros ambientales [88] (véase Tabla 10).

2.3.2.1 Parámetros de la solución

Los parámetros de la solución que juegan un papel importante en el hilado electrostático son la concentración, la viscosidad, el peso molecular, la conductividad, la tensión superficial y la elección del solvente [88].

2.3.2.1.1 Concentración

La concentración de la solución es decisiva para la formación de nanofibras. Existe una concentración mínima para que se efectúe el proceso de electrohilado. Cuando dicha concentración se encuentra por debajo de este valor mínimo, debido a la baja concentración y la alta tensión superficial, la interacción entre la fuerza del campo eléctrico y la tensión superficial provocará que el polímero entrecruzado se vuelva lineal previo a alcanzar el colector rotatorio, permitiendo la formación de cuentas como defecto más que de fibras. Conforme existe un incremento en la concentración de la solución y la viscosidad, la tensión superficial decrece, resultando en la formación de fibras uniformes y libres de defectos de cuentas. Sin embargo, cuando la concentración de la solución es mayor a la concentración óptima, la solución puede obstruir fácilmente la boquilla del capilar, resultando en la formación de fibras no uniformes [89].

2.3.2.1.2 Viscosidad

La viscosidad de la solución es uno de los principales parámetros que afecta el diámetro y la morfología de las fibras. La viscosidad está estrechamente relacionada con la concentración y el peso molecular. Si la viscosidad es muy baja, o, por el contrario, muy alta, se formarán defectos tipo cuentas en las fibras [89]. Cuando un polímero sólido se disuelve en un solvente, la viscosidad de solución es relativa a la concentración del polímero. Una baja viscosidad representa una baja capacidad de entrecruzamiento del polímero, la tensión superficial se vuelve un parámetro dominante y no existe generación de fibras. Un incremento controlado en la viscosidad de la solución permitirá la generación de fibras de diámetro uniforme. Por el contrario, cuando la viscosidad es muy elevada existe una dificultad en la formación de fibras [89, 90].

2.3.2.1.3 Tensión superficial

La tensión superficial se ve afectada por múltiples parámetros, incluidos el peso molecular, la concentración de la solución, el solvente y la temperatura. Si la tensión superficial es demasiado baja, el chorro polimérico expulsado será inestable y el diámetro de las fibras formadas no será uniforme. Adicionalmente, la tensión

superficial baja permite que el electrohilado se efectúe a un campo eléctrico menor, con una alta tensión superficial, el proceso de electrohilado se inhibe debido a la inestabilidad del chorro polimérico y la formación de gotas pulverizadas en lugar de formación de fibras [89, 90].

2.3.2.1.4 Conductividad

La conductividad de la solución es dependiente de la naturaleza del polímero, el solvente usado y la disponibilidad de sales. Aumentar la conductividad eléctrica de la solución lleva a una disminución considerable en el diámetro de las fibras electrohiladas. Sin embargo, una baja conductividad de la solución conduce a la formación de defectos tipo cuentas [90].

2.3.2.1.5 Peso molecular

Las propiedades reológicas y eléctricas de la solución, como la viscosidad, la tensión superficial y la conductividad, son cruciales en el proceso de electrohilado. Cuando el peso molecular es grande, la fuerza intermolecular es mayor, y el polímero puede generar más enlaces de hidrógeno entre los solventes, lo que hace que el polímero se expanda y aumente el valor de viscosidad. Debido a la heterogeneidad del sistema conductor del polímero, la conductividad entre cadenas es mucho menor que dentro de las cadenas, y cuanto mayor es el peso molecular, menor es el grado de discontinuidad entre cadenas, mayor es la conductividad entre cadenas y mayor es la conductividad macroscópica. Sin embargo, el peso molecular tiene poca relación con la conductividad. Similar al efecto de la viscosidad y la concentración, un polímero con bajo peso molecular tiene un grado de entrelazado insuficiente, longitud de cadena corta y menor fuerza de fricción molecular. En general, el diámetro de las fibras también aumentará con el aumento del peso molecular. Sin embargo, un peso molecular excesivo puede conducir a efectos indeseados. Adicionalmente, las fuerzas intermoleculares pueden contrarrestar la tensión superficial cuando el peso molecular es bajo [89].

2.3.2.1.6 Solventes

Las propiedades del solvente, incluida la tensión superficial, la constante dieléctrica, el punto de ebullición, la densidad, así como la interacción entre el solvente y el soluto afectan el proceso de electrohilado. La polaridad y la constante dieléctrica del solvente afectarán la conductividad de la solución. La volatilidad del solvente puede limitar su uso. Debido a la toxicidad de muchos solventes orgánicos, si no se pueden

eliminar por completo, su aplicación en campos biológicos y alimentarios queda restringida [89].

2.3.2.2 Parámetros del proceso de electrohilado

Los parámetros más importantes del proceso de hilatura son el campo eléctrico aplicado, la distancia entre la punta de la aguja y el colector, el diámetro del capilar y la velocidad de alimentación de la solución [88].

2.3.2.2.1 Voltaje aplicado

El voltaje es uno de los parámetros principales para la formación de fibras. El electrohilado ocurre únicamente cuando la energía potencial eléctrica es mayor que la energía superficial de la solución polimérica. Cuando un voltaje adecuado se aproxima a la cantidad de energía superficial, la forma de gota polimérica que sale de la punta del capilar adopta una forma de cono, denominado cono de Taylor. El valor de voltaje crítico varía según la solución polimérica. La aplicación de un alto voltaje generará fibras más delgadas y pequeñas debido al estiramiento de la solución polimérica. Conforme existe un incremento en el voltaje, decrementa el tamaño del cono de Taylor, expulsando una mayor cantidad de solución polimérica, generando fibras de mayor diámetro [91].

2.3.2.2.2 Colector

El colector tiene la función de cerrar el circuito eléctrico creado por el proceso de electrohilado y recuperar las fibras producidas. Sin embargo, aplicar a este colector una tensión de polaridad opuesta a la del final de la aguja permite optimizar la recolección de las fibras evitando su depósito sobre otras superficies próximas. La morfología de las fibras electrohiladas depende igualmente del tipo de colector utilizado. Con una simple placa colectora se obtiene una capa de fibras orientadas al azar, mientras que con otros diseños de colectores se obtienen fibras alineadas. Algunos ejemplos de colectores incluyen tambores giratorios, discos y mandriles. La velocidad de rotación de estos colectores impacta la velocidad de deposición. Es crucial que el movimiento del colector esté equilibrado, de lo contrario, si el colector se mueve más rápido que las fibras que se depositan, estas pueden estirarse, romperse en pequeños fragmentos y adherirse al colector [91].

2.3.2.2.3 Distancia de la punta al colector

La distancia entre la punta y el colector es un factor clave de la morfología de las fibras electrohiladas. Una vez que se fija y mantiene constante el voltaje aplicado, la

fuerza del campo eléctrico es inversamente proporcional a la distancia [91]. La distancia desde la punta hasta el colector rotatorio debe ser lo suficientemente grande para permitir que el solvente se evapore. Si la distancia es demasiado pequeña, pueden formarse defectos tipo cuentas. Si la distancia es demasiado grande, el chorro no será lo suficientemente estable y también pueden formarse cuentas. La distancia desde la punta hasta el dispositivo de recolección tiene menos efecto sobre el diámetro de las fibras que otros parámetros. En general, cuanto mayor sea la distancia, mayor será la inestabilidad por flexión, lo que resultará en la superposición de algunas nanofibras y, por lo tanto, en un diámetro de fibra más grande. Por otro lado, si la distancia es pequeña, el tiempo de evaporación del solvente no será suficiente y se formarán fibras gruesas [89].

2.3.2.2.4 Velocidad de alimentación de la solución

La tasa de flujo de la solución polimérica determina la morfología de las fibras electrohiladas. Este parámetro controla la velocidad de transferencia del polímero y la velocidad del chorro desde el cabezal de hilado hasta el colector. Por lo general, se prefiere una tasa de flujo más baja, ya que la solución polimérica en la aguja metálica tendrá suficiente tiempo para polarizarse y el solvente de la fibra tendrá tiempo suficiente para evaporarse, dejando fibras secas en el colector. Las fibras con defectos tipo cuentas se forman al utilizar tasas de flujo altas debido a fuerzas de estiramiento bajas y un tiempo de secado corto para la fibra antes de llegar al colector [90].

2.3.2.3 Parámetros ambientales

Además de las propiedades de la solución y los parámetros del proceso, también están los parámetros ambientales que son la humedad y la temperatura en la cabina de electrohilado. Estas diferentes variables involucradas y las interacciones entre ellas influyen significativamente en la morfología de los filamentos obtenidos por electrohilado. La manipulación adecuada de estos parámetros permite obtener nanofibras de morfología y diámetro deseados [88].

2.3.2.3.1 Temperatura

La volatilidad del solvente, la evaporación y la temperatura están directamente correlacionadas. Además, la tensión superficial y la viscosidad de la solución polimérica se ven afectadas por la temperatura. El aumento de la temperatura tiene dos efectos opuestos, aumenta la tasa de evaporación del solvente y disminuye la viscosidad [88].

2.3.2.3.2 Humedad

La humedad afecta la morfología de las fibras modificando la porosidad superficial de las fibras conforme existe un aumento en la humedad. La humedad también influye en el diámetro de las fibras electrohiladas, en condiciones de humedad muy baja, los solventes volátiles se evaporan rápidamente y pueden causar problemas en el proceso de electrohilado, como la obstrucción de la punta de la aguja capilar. Una alta humedad puede facilitar la descarga de las fibras electrohiladas [88].

Tabla 10. Parámetros de electrohilado y sus efectos en la morfología de las fibras [87].

Parámetros		Efecto
Parámetros de la solución	Concentración ↑	↑ Diámetro de fibra, cuentas desaparecen.
	Viscosidad ↑	↑ Diámetro de fibra, cuentas desaparecen.
	Peso molecular ↑	Cuentas desaparecen.
	Tensión superficial ↓	Formación de fibras
	Conductividad ↑	↓ Diámetro de fibra, cuentas desaparecen.
Parámetros del proceso	Voltaje ↑	↓ Diámetro de fibra.
	Distancia entre la aguja y el colector ↑	↓ Diámetro de fibra, cuentas desaparecen.
	Velocidad de flujo ↑	↑ Diámetro de fibra.
Parámetros ambientales	Temperatura ↑	↓ Diámetro de fibra.
	Humedad ↑	Efecto controversial en el diámetro de fibra (dependencia en la hidrofobicidad/hidrofilicidad del polímero).

La concentración del polímero en la solución es crucial, soluciones con bajas concentraciones tienden a formar cuentas debido a la falta de entrelazamiento de las cadenas poliméricas, mientras que, a concentraciones más altas, las fibras se vuelven más uniformes y libres de defectos. La viscosidad de la solución, que está directamente relacionada con la concentración del polímero, también juega un papel importante. Soluciones con baja viscosidad forman cuentas, mientras que una mayor viscosidad resulta en fibras más uniformes y sin defectos. La tensión superficial de la solución es otro factor crítico, una baja tensión superficial favorece la formación de fibras sin cuentas, mientras que un aumento en la tensión superficial puede llevar a la formación de gotas debido a la inestabilidad del polímero durante el proceso de electrohilado [88].

La conductividad de la solución afecta el diámetro de las fibras, soluciones altamente conductoras tienden a formar fibras más finas y uniformes debido a una mayor repulsión electrostática en el flujo del polímero durante el electrohilado. Por lo general, hay una relación inversa entre la solubilidad del polímero y su peso molecular. Sin embargo, existe una relación directa entre el peso molecular del polímero y propiedades físicas como la viscosidad de la solución polimérica, la reología, la flexibilidad y el grado de entrelazamiento de las cadenas. Por su parte, los solventes deben disolver completamente el polímero para formar una solución homogénea y tener una volatilidad moderada para evitar la obstrucción de la aguja y asegurar una evaporación adecuada durante el proceso. La elección del solvente afecta significativamente la estructura y la porosidad de las fibras, con algunos solventes favoreciendo la formación de fibras porosas. En cuanto a los parámetros del proceso, el voltaje aplicado controla la fuerza del campo eléctrico entre la punta de la aguja y el colector, afectando el diámetro de las fibras y la evaporación del solvente. La tasa de flujo de la solución polimérica desde la jeringa influye en la velocidad inicial del chorro y el tiempo de evaporación del solvente, tasas de flujo bajas favorecen la formación de fibras sin cuentas. La distancia entre la punta de la aguja y el colector controla la morfología y el diámetro de las fibras. La elección del colector y el diámetro de la aguja afectan adicionalmente la calidad y alineación de las fibras electrohiladas. Los parámetros ambientales como la temperatura y la humedad también tienen un impacto en la morfología de las fibras. La temperatura afecta la volatilidad del solvente y la viscosidad de la solución, mientras que la humedad puede introducir poros en las fibras y afectar su diámetro [88].

2.4 Cáscara de nuez y compuestos bioactivos

2.4.1 Compuestos bioactivos de la nuez

Los compuestos bioactivos son componentes naturales presentes en los alimentos y plantas que tienen efectos benéficos sobre la salud. Entre ellos, los compuestos fenólicos, terpenos, fibra dietética y saponinas destacan por sus propiedades y beneficios. A continuación, se presenta una breve descripción de cada uno [59].

2.4.1.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas que generalmente están esterificados o glicosilados. Están compuestos principalmente por un anillo aromático (dominio hidrofóbico) y uno o más grupos hidroxilo (dominio hidrofílico) unidos a él. Dentro de este grupo de compuestos se encuentran los ácidos fenólicos (hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos), flavonoides, cumarinas, xantonas, chalconas, estilbenos, ligninas y lignanos [59] (Figura 3). Los compuestos fenólicos son conocidos por tener propiedades funcionales como antioxidantes, inmunoestimulantes y moduladores del microbiota. Además, también se les reconoce por sus efectos antibacterianos, antiparasitarios, antivirales, antiinflamatorios, anticancerígenos y antihipertensivos. Las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos, especialmente la antioxidante, están relacionadas con sus características químico-estructurales. El número y la posición de los grupos hidroxilo, la presencia de dobles enlaces y la capacidad de deslocalizar electrones determinan la capacidad de los compuestos fenólicos para eliminar radicales libres y donar átomos de hidrógeno. Otros mecanismos por los cuales los compuestos fenólicos pueden ejercer su actividad biológica incluyen la interacción con componentes de la membrana celular, enzimas, factores de transcripción y receptores. Los flavonoides ejercen actividades antialérgicas y anticancerígenas interactuando con proteínas asociadas a balsas lipídicas de la membrana y disminuyen la producción de aniones superóxido en células vasculares mediante la inhibición de la translocación de la subunidad p47^{phox} de la oxidasa de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) en la membrana de las células endoteliales. Además, los compuestos fenólicos ejercen actividades antioxidantes y antiinflamatorias indirectas mediante la activación de Nrf2 y la inhibición de la translocación de NF-kB al núcleo, respectivamente [59].

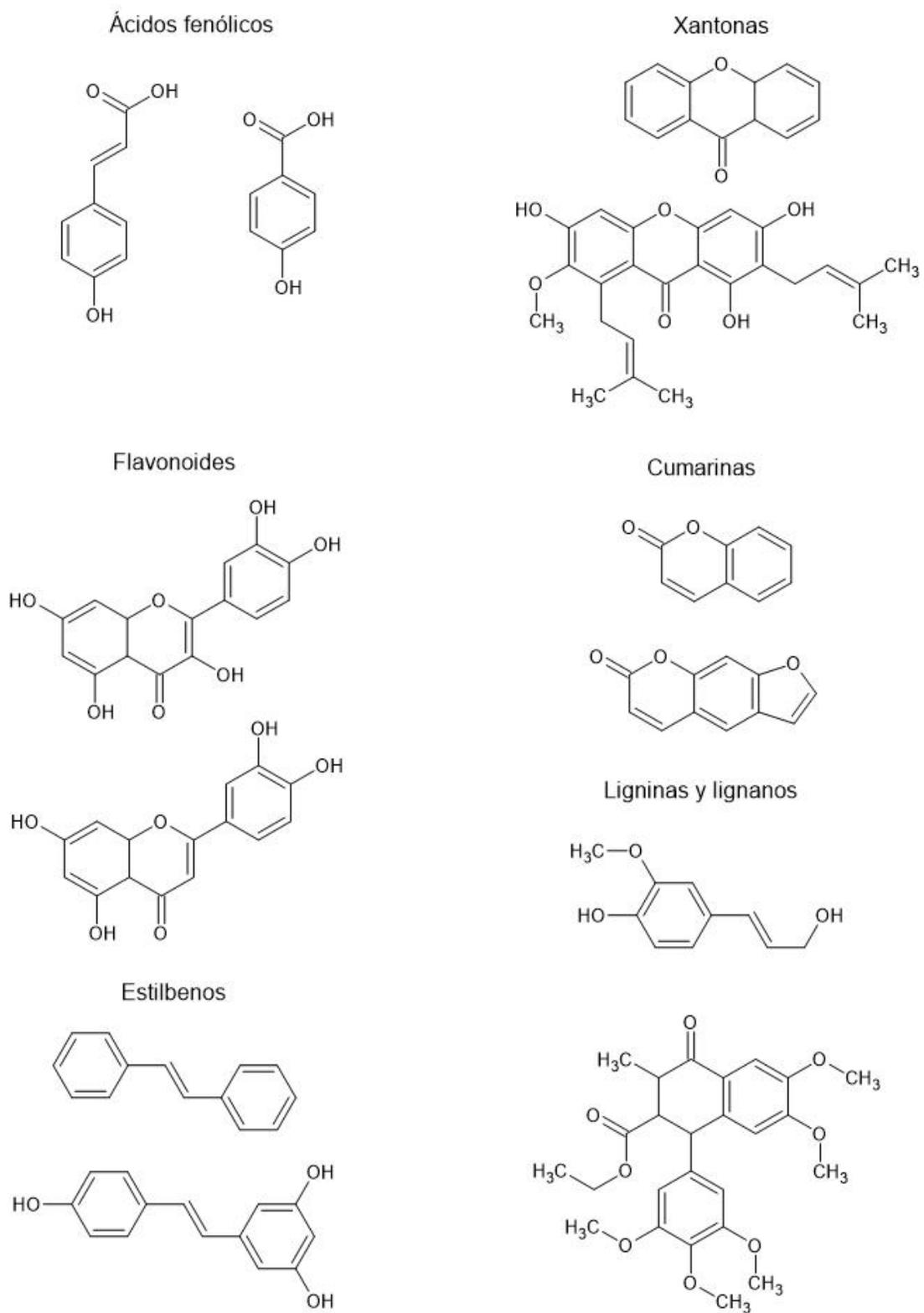


Figura 3. Estructura química de los compuestos fenólicos [59].

2.4.1.2 Terpenos

Los terpenos son compuestos formados por unidades de isopreno (C_5H_8). Estos compuestos se clasifican según el número de unidades de isopreno condensadas. Dentro del grupo de los terpenos se encuentran los aceites esenciales y los carotenoides, que se caracterizan por su actividad antioxidante. Además, se sabe que los aceites esenciales ejercen efectos antimicrobianos (Figura 4) [59].

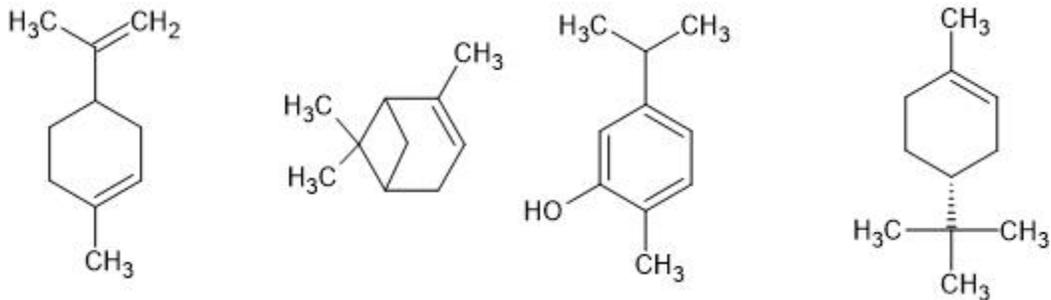


Figura 4. Estructura química de los terpenos [59].

Las actividades biológicas de los terpenos están relacionadas con su estructura química. Por otro lado, el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales está relacionado con su hidrofobicidad. Esta propiedad permite a los aceites esenciales atravesar la pared celular y la membrana citoplasmática y desorganizar la estructura de sus componentes. Además, los aceites esenciales son capaces de inhibir enzimas de regulación energética y la síntesis de componentes estructurales [59].

2.4.1.3 Fibra dietética (β -glucanos)

La fibra dietética está compuesta por polímeros de tres o más unidades de carbohidratos que son resistentes a la actividad de las enzimas digestivas endógenas, y, por lo tanto, no pueden ser hidrolizados ni absorbidos por el intestino delgado. La fibra se clasifica en fibra insoluble y soluble. Las fibras solubles, como los β -glucanos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos y algunas pectinas, son fermentadas por el microbiota intestinal y dan lugar a ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) [59] (Figura 5).

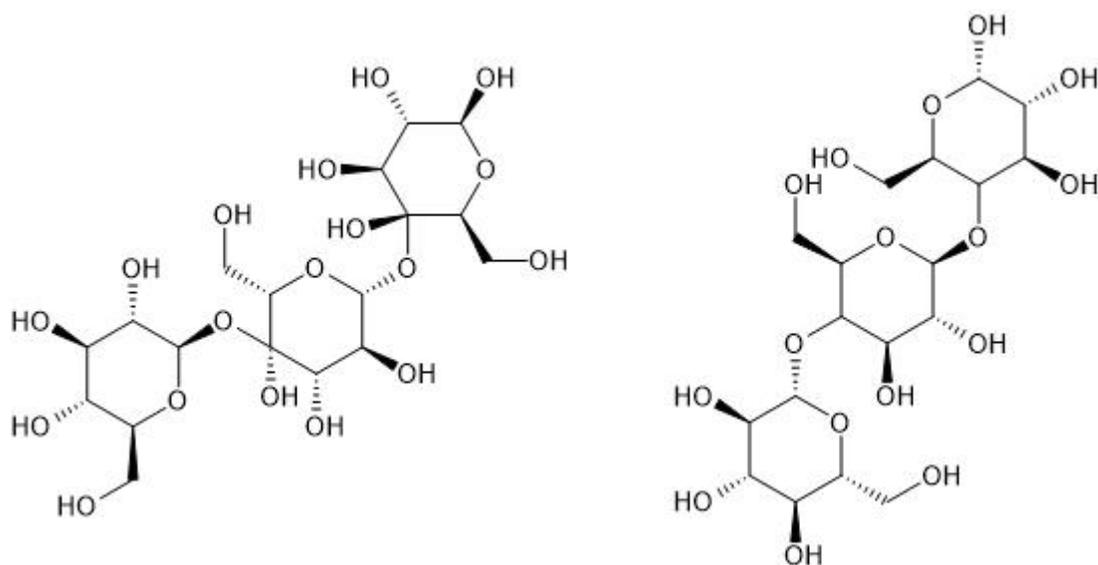


Figura 5. Estructura química de los β -glucanos [59].

Particularmente en la acuicultura, los β -glucanos son reconocidos por su actividad inmunoestimulante. Estos compuestos son polisacáridos compuestos por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos. Se encuentran como componentes de la pared celular de plantas y levaduras principalmente, pero también en algunas especies de algas y hongos. Los β -glucanos más relevantes son β -1,3 y β -1,6. La actividad inmunoestimulante de los β -glucanos depende de su reconocimiento y unión a receptores de membrana. Además, el grado de polimerización, el grado y tipo de ramificación y la conformación estructural de los β -glucanos afectan su interacción con los receptores [59].

2.4.1.4 Saponinas

Las saponinas son moléculas anfipáticas compuestas por residuos de azúcar enlazados a un sistema de anillos policíclicos (esteroles y triterpenos) a través de enlaces glucosídicos. Las saponinas tienen efectos inmunoestimulantes. Además, las saponinas ejercen un efecto modulador del microbiota, que está relacionado con su actividad antimicrobiana. Asimismo, las saponinas pueden disociar la membrana celular, lo que permite el flujo de componentes extracelulares e intracelulares. La efectividad de las saponinas es mayor contra bacterias grampositivas, mientras que las bacterias gramnegativas son más resistentes, posiblemente debido a la presencia de la doble membrana lipídica en estas últimas [59].

2.4.2 Cáscara de nuez

La nuez pecanera (*Carya illinoensis*) pertenece a la familia *Juglandaceae* y es nativa del sur de los Estados Unidos y el Norte de México [92]. Se trata de un árbol caducifolio monoico que puede medir 30 metros de altura. Su corteza es gris clara o parda cubierta de escamas o exfoliaciones laminares con hojas de hasta 25 cm de longitud. El producto consta de un fruto grande con mesocarpio carnoso y endocarpio duro, arrugado, en dos valvas color café, el interior está dividido incompletamente en dos o cuatro celdas; la semilla tiene 2 o 4 lóbulos. Sus frutos o semillas tienen cáscara dura y están provistos de una piel que se separa con facilidad de la pepita interior comestible. El fruto monospermo se forma a partir de un ovario compuesto con paredes externas endurecidas hasta adquirir consistencia leñosa e indehisciente, es decir, que no se abre para liberar la semilla [6]. La producción mundial de nuez pecanera la encabezan Estados Unidos y México [93]. En los últimos 10 años, se ha registrado una tendencia positiva en la producción, con una tasa media anual de crecimiento de 6,1%. No obstante, en 2020, se observó una caída de 3.9% respecto a 2019, resultado de una disminución de 9.8% en su rendimiento, teniendo un consumo anual per cápita de 936 gramos y una participación en la producción nacional de frutos de 0.7% [6].

La superficie mundial de plantíos abarcó 1.3 millones de hectáreas. Siendo el territorio mexicano el cuarto en extensión y correspondió únicamente a nuez pecanera [6]. En la Tabla 11 se muestran los principales productores en volumen de nuez a nivel nacional.

Tabla 11. Principales entidades productoras en volumen de nuez en México [6].

Puesto	Entidad federativa	Región	Volumen (toneladas)
1	Chihuahua	Noroeste	102061
2	Sonora	Noroeste	24054
3	Coahuila	Noroeste	18917
4	Durango	Noroeste	7595
5	Nuevo León	Noroeste	4654
6	Hidalgo	Centro	3178
7	Puebla	Centro	873
8	San Luis Potosí	Centro-occidente	836
9	Aguascalientes	Centro-occidente	568
10	Oaxaca	Sursureste	419
-	Resto	-	1497

La cáscara de nuez es el subproducto no comestible de la nuez comercial, la cual representa entre un 45% a un 50% del peso total del fruto, por tanto, los residuos

generados durante el procesamiento de la nuez son en exceso abundantes. La cáscara contiene sustancias funcionales y fibras como la celulosa, hemicelulosa y lignina no utilizadas eficientemente. La recuperación de dichas sustancias es un enfoque atractivo para la reducción de residuos y obtención de fitoquímicos antioxidantes con valor agregado [7, 8]. La cáscara de nuez puede servir como materia prima para la obtención de antioxidantes naturales debido a su alto contenido de compuestos fenólicos, además de contar con compuestos con capacidad de inhibición en el crecimiento bacteriano y la proliferación celular, demostrando actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, atribuyendo la actividad antimicrobiana a la presencia de proantocianidinas. La cáscara de nuez entonces es rica en ácidos fenólicos, resveratrol y derivados de ácido gálico, especialmente en proantocianidinas de alto peso molecular. Siendo las proantocianidinas capaces de desencadenar la muerte celular bacteriana por activación de la apoptosis [8]. Recientemente, se ha implementado el uso de la cáscara de nuez como adsorbente para remover iones tóxicos y contaminantes orgánicos de soluciones acuosas. La explotación de la cáscara de nuez como fuente de carbono para la producción de fúngica o bacteriana de bioactivos es otro campo emergente de aplicación de este material de desecho multifacético. Impulsado por estas observaciones, el posible uso de la cáscara de nuez en aplicaciones alimenticias, especialmente direccionadas a empaques antioxidantes activos, inhibición de pardeamiento enzimático en frutas y estabilización de antocianinas ampliamente usadas como colorantes alimenticios es investigado [92]. De acuerdo con Moccia, *et al.* [92], los compuestos extraídos a partir de cáscara nuez pecana por extracción hidroalcohólica muestran una fuerte absorción en la región ultravioleta y la presencia de restos fenólicos y polifenoles, principalmente taninos condensados, considerados como alternativas para suplementos alimenticios, nutraceuticos y, como auxiliares en el tratamiento para diversas patologías, incluido el tratamiento para el cáncer. Los compuestos mostraron una buena biocompatibilidad, actividad antioxidante e inhibición ante el pardeamiento enzimático. Los componentes del pericarpio y la flor de las nueces pecanas son muy similares a los de las cáscaras. Del exocarpo de la nuez se pueden extraer pigmentos marrones, pigmentos comestibles naturales y pigmentos verdes. La cáscara de la nuez puede utilizarse para extraer y purificar pigmento marrón natural [94], estos pigmentos son asociados con la melanina [95].

La mayoría de la actividad antioxidante encontrada en las cáscaras de nuez pecana se atribuye a su alto contenido de compuestos polifenólicos, como taninos, flavonoides y ácidos fenólicos [92]. Los componentes estructurales de las cáscaras de nuez pecana incluyen celulosa y lignina, que contribuyen a la dureza y durabilidad de la cáscara.

Estos biopolímeros son de interés por su potencial en la creación de productos de valor agregado, como biocombustibles, bioplásticos y otros biomateriales [96]. La extracción y utilización de compuestos de las cáscaras de nuez pecana se han explorado para aplicaciones innovadoras en el envasado, enfocándose en los beneficios derivados de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas [8].

La nuez pecanera como alimento, así como sus semillas, son ricas en grasas crudas, aminoácidos, azúcares, nitrógeno, fósforo, magnesio, potasio, calcio y otros elementos minerales. Sus semillas adicionalmente son fuente de fenoles, vitamina E y flavonoides. El aceite proveniente de la nuez es rico en ácidos grasos poliinsaturados, los cuales pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, son reguladores del metabolismo lipídico y el sistema inmune, con presencia de actividad anticancerígena y antioxidante. Todas las partes de la nuez, tales como cáscara, semillas, flores, hojas y el exocarpo tienen ciertas propiedades antioxidantes. Los principales compuestos son polifenoles, los cuales pueden inhibir la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados [94]. El epicarpio y las hojas de las nueces contienen determinados componentes antibacterianos, mostrando potencial en el desarrollo de fungicidas botánicos. Los componentes antibacterianos de las hojas de la nuez son complejos, entre los cuales se encuentra el extracto de n-butanol y acetato etílico teniendo los mejores efectos antibacterianos, inhibiendo bacterias gram-positivas y gram-negativas. El extracto de etanol proveniente de sus hojas posee un efecto inhibitorio significativo sobre *Staphylococcus aureus*, levaduras, *Escherichia coli*, *Penicillium* y *Apergillus niger*. El extracto de metanol del exocarpo de la nuez tiene efectos bactericidas bajo condiciones apropiadas sobre antracnosis en pepinos, *Sclerotinia sclerotiorum*, podredumbre en manzanas, tizón del pimiento, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* [94]. Se ha encontrado que los extractos de cáscaras de nuez pecana, particularmente aquellos obtenidos mediante extracción hidroalcohólica, exhiben propiedades antioxidantes excepcionales. Estos extractos pueden utilizarse en el desarrollo de materiales de envasado activo para mejorar la vida útil y la calidad de los productos alimenticios. Por ejemplo, se ha demostrado que la introducción de extracto de cáscara de nuez pecana en películas de ácido poliláctico (PLA) ofrece ventajas antioxidantes sin alterar significativamente las propiedades mecánicas de las películas. Estas películas tienen la capacidad de retrasar el pardeamiento de productos alimenticios, lo que sugiere que podrían usarse más ampliamente en el envasado de alimentos para mantener la frescura y prolongar la vida de anaquel de estos [92]. La encapsulación de extractos de cáscara de nuez pecana ha sido investigada para la liberación controlada de compuestos bioactivos. La liberación

progresiva de compuestos fenólicos de estos extractos cuando están encapsulados en materiales como micropartículas de zeína puede ser ventajosa en el desarrollo de materiales de envasado con propiedades antioxidantes y potencialmente antibacterianas duraderas. Este enfoque no solo utiliza las propiedades naturales de los extractos de cáscara de nuez pecana, sino que también mejora el valor funcional de los materiales de envasado, contribuyendo al desarrollo de soluciones de envasado activo que pueden interactuar beneficiosamente con el alimento envasado [97].

2.4.3 Melanina

La melanina es una familia de pigmentos poliméricos heterogéneos, presentes en todas las formas de vida en la naturaleza, que proveen a los organismos entre otros, de pigmentación, protección a la radiación y regulación térmica. La melanina es químicamente compleja y pobremente soluble en la mayoría de los solventes. Es posible categorizarlos según su fuente de origen, o bien, como alomelanina, eumelanina, neuromelanina, feomelanina y piomelanina. La eumelanina, feomelanina y neuromelanina (específicamente asociado con el sistema nervioso) son encontrados principalmente en tejidos animales, mientras que, la alomelanina y la piomelanina son mayormente encontradas en plantas y microorganismos [98]. Las fuentes ubicuas de melanina podrían ser responsables de su estructura heterogénea. En términos generales, las melaninas pueden ser categorizadas en eumelaninas (café oscuro/negro), feomelaninas (amarillas/rojas) y alomelaninas específicas del reino vegetal. Tanto la eumelanina como la feomelanina derivan del común precursor dopaquinona, el cual es obtenido a través de la tirosina o la oxidación de L-DOPA (L,3,4-dihidroxifenilalanina) (véase Figura 9 y Figura 10). Como una mezcla de la eumelanina y feomelanina, la neuromelanina es el único pigmento de la melanina el cual no es formado en los melanocitos, sino en las neuronas catecolaminérgicas de la *substantia nigra* y en menor proporción en *locus coeruleus* [99, 100]. Por su parte, las alomelaninas son un grupo heterogéneo libre de nitrógeno como catecoles, 1,8-dihidroxi-naftaleno y, γ -glutaminil-3,4-dihidroxibenzeno, los cuales incluyen la piomelanina, la cual es obtenida a través de la autooxidación y polimerización de ácido homogentísico (véase Figura 11). Además de estas melaninas, también existen melaninas sintéticas que se utilizan con frecuencia como modelo de melanina para estudios biofísicos [99, 100]. Las melaninas pueden formar agregados con fuertes interacciones π - π , los cuales proveen las bases estructurales y químicas para las propiedades únicas de las melaninas [41].

La biosíntesis de la eumelanina y de la feomelanina son muy similares, puesto que ambas comparten la L-Tirosina como precursor, el cual es obtenido a través de la ruta del ácido shikímico. El ácido shikímico es un intermediario hidroaromático clave en la ruta biosintética del shikimato (Figura 7) de aminoácidos aromáticos esenciales (L-fenilalanina, L-tirosina y L-triptófano), lignina y la mayoría de los alcaloides de plantas y microorganismos. También juega un papel principal como precursor de ácidos cinámicos y flavonoides, como flavonas, antocianinas, flavonoles y taninos. Además, es requerido para la asimilación de ácido fólico, alcaloides y vitaminas en esos organismos [101].

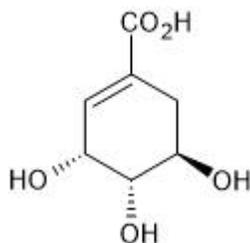


Figura 6. (-)-Ácido shikímico [101].

El ácido shikímico tiene propiedades biológicas interesantes, mostrando actividad como antioxidante, anticoagulante y antitrombótico, antibacteriano, antiinflamatorio y analgésico. Sin embargo, además de ser importante en sí mismo desde el punto de vista farmacológico, el ácido shikímico también desempeña un papel clave en la síntesis de varios compuestos relevantes en la industria farmacológica, habiéndose reportado su uso en la síntesis de agentes anticancerígenos, antibacterianos, hormonas o herbicidas. Pero, la razón por la que el ácido shikímico ha cobrado relevancia en los últimos años es porque se utiliza generalmente como material de partida para la síntesis industrial del antiviral oseltamivir, un medicamento contra el virus de la influenza H5N1 [101].

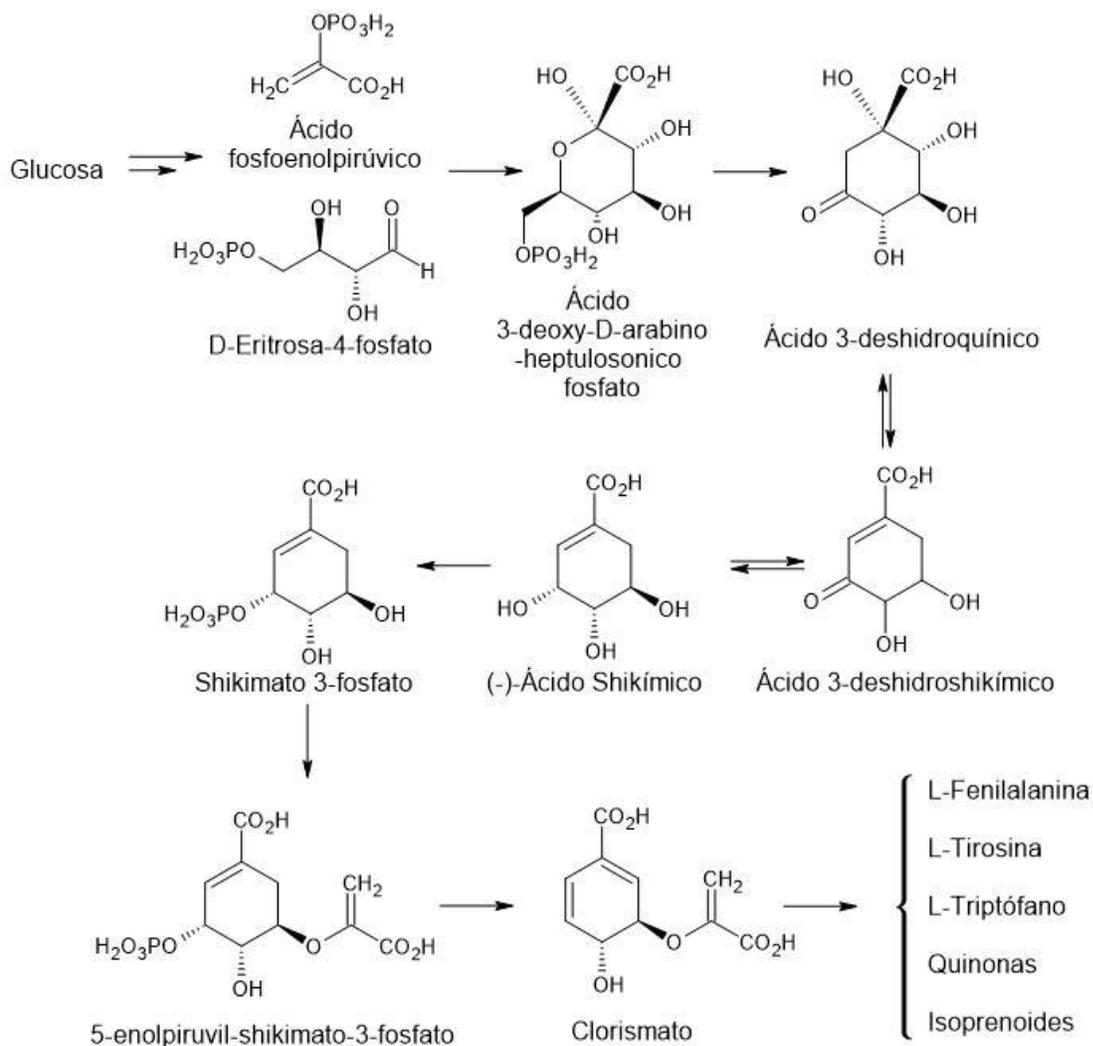


Figura 7. Ruta sintética del shikimato [101].

En resumen, el ácido shikímico se ha convertido en un compuesto de enorme interés en la química medicinal debido a su papel clave en la preparación de antivirales. Se han empleado diferentes procedimientos para acceder al ácido shikímico: aislamiento de fuentes naturales, procedimientos biotecnológicos o síntesis química [101].

Por el contrario de la eumelanina y feomelanina, la alomelanina tiene como precursor al Acetil Coenzima A (Acetil CoA), el cual proviene de la ruta sintética del acetato-malonato. Los productos principales de la ruta del acetato-malonato son los ácidos grasos. Esta ruta también hace una contribución importante a los compuestos alifáticos y aromáticos de las plantas, los cuales se biosintetizan a través de la

formación de policétidos. En todos los organismos vivos existe una reserva metabólica de acetyl CoA que se repone y se consume continuamente. La glucólisis y el catabolismo de ácidos grasos y aminoácidos producen acetyl CoA, mientras que este compuesto es el precursor de una gran cantidad de metabolitos primarios y secundarios, incluyendo ácidos grasos, terpenoides, esteroides, policétidos, compuestos aromáticos, ésteres y amidas de acetyl. La conversión de acetyl CoA en citrato y otros ácidos tricarboxílicos conduce a la formación de aminoácidos y sus productos, tales como ácidos nucleicos y alcaloides [102].

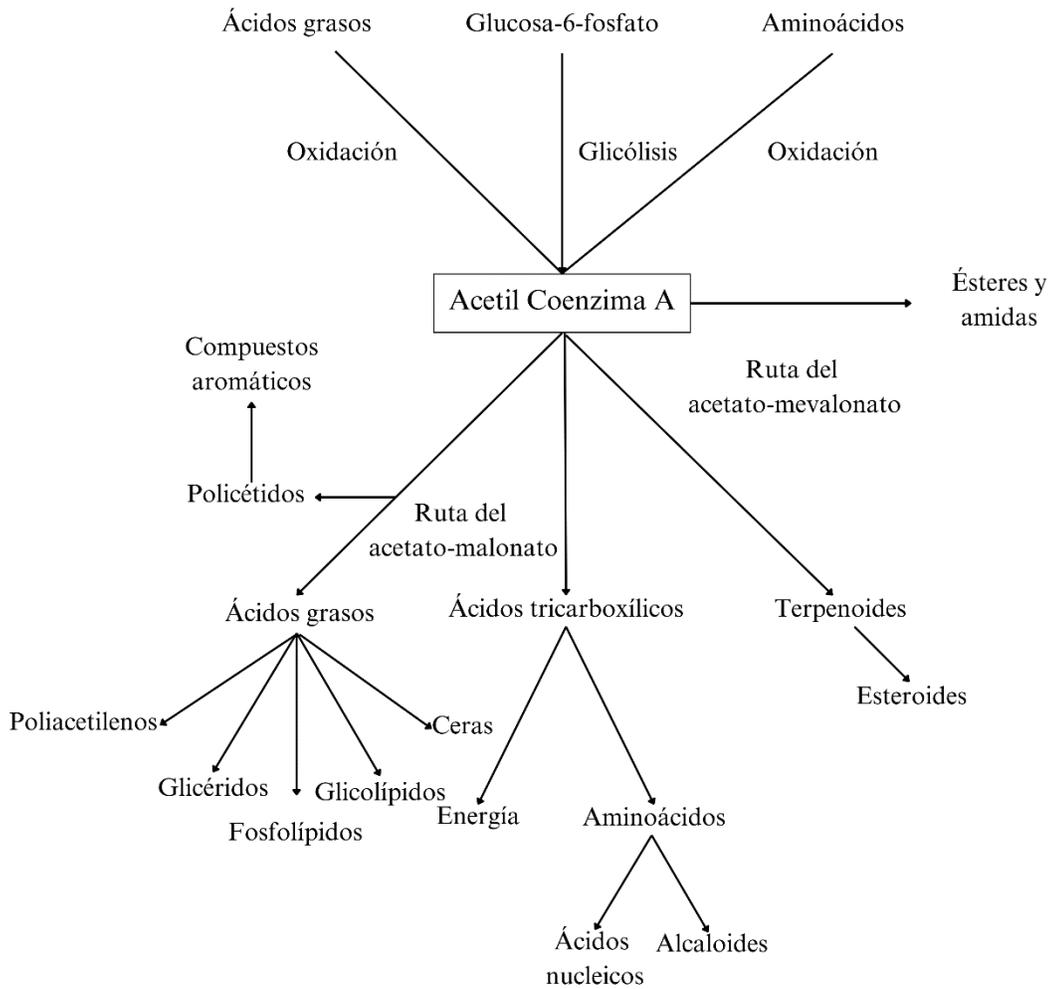


Figura 8. El grupo de metabolitos de acetyl coenzima A [102].

2.4.3.1 Eumelanina

La eumelanina marrón oscuro se obtiene mediante la oxidación de la tirosina o 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) catalizada por la tirosinasa para formar L-Dopaquinona y L-Dopacroma. La L-Dopacroma mediante aromatización genera los intermediarios 5,6-dihidroxiindol (DHI) y ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (DHICA). Como se muestra en la Figura 9, la polimerización de DHI y DHICA da paso a la formación de eumelanina [37].

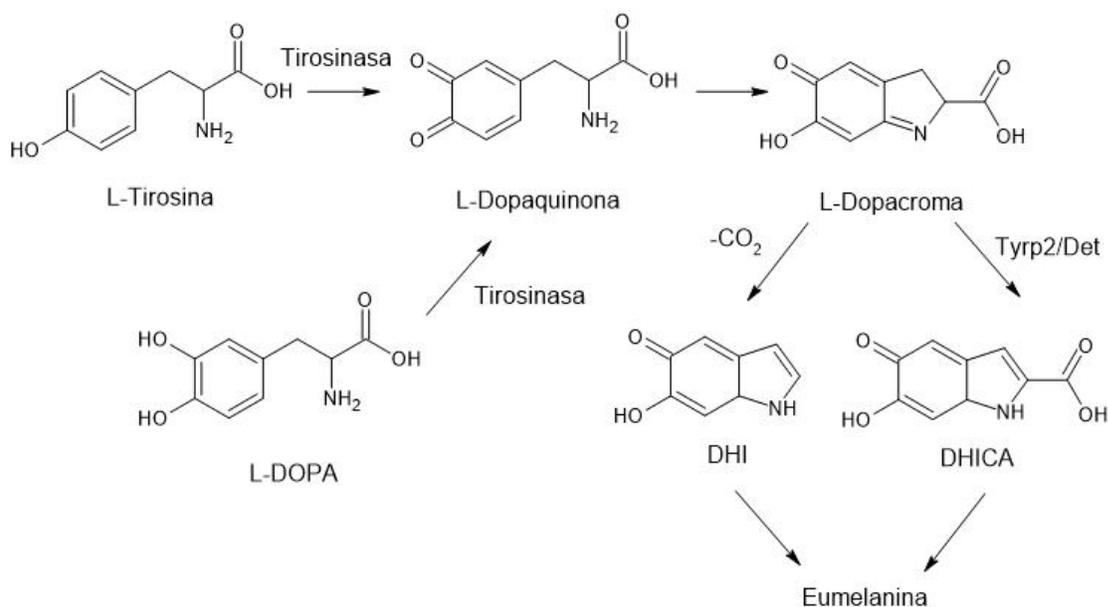


Figura 9. Biosíntesis de la eumelanina [37].

2.4.3.2 Feomelanina

La síntesis de feomelanina, un pigmento que contiene azufre, es el resultado de un cambio metabólico en la vía de la eumelanina. La fase inicial de la vía, que es la oxidación de L-tirosina a L-Dopaquinona, es la misma tanto para la eumelanina como para la feomelanina. Sin embargo, la feomelanina se deriva de L-dopaquinona en presencia de L-cisteína u otros compuestos que contienen tioles, como el glutatión. Como se muestra en la Figura 10, se forman intermediarios de benzotiazina y benzotiazol mediante la oxidación de 5-S-cisteinildopa y 5-S-cisteinildopaquinona, y luego se polimerizan para formar la feomelanina de color amarillo claro [37].

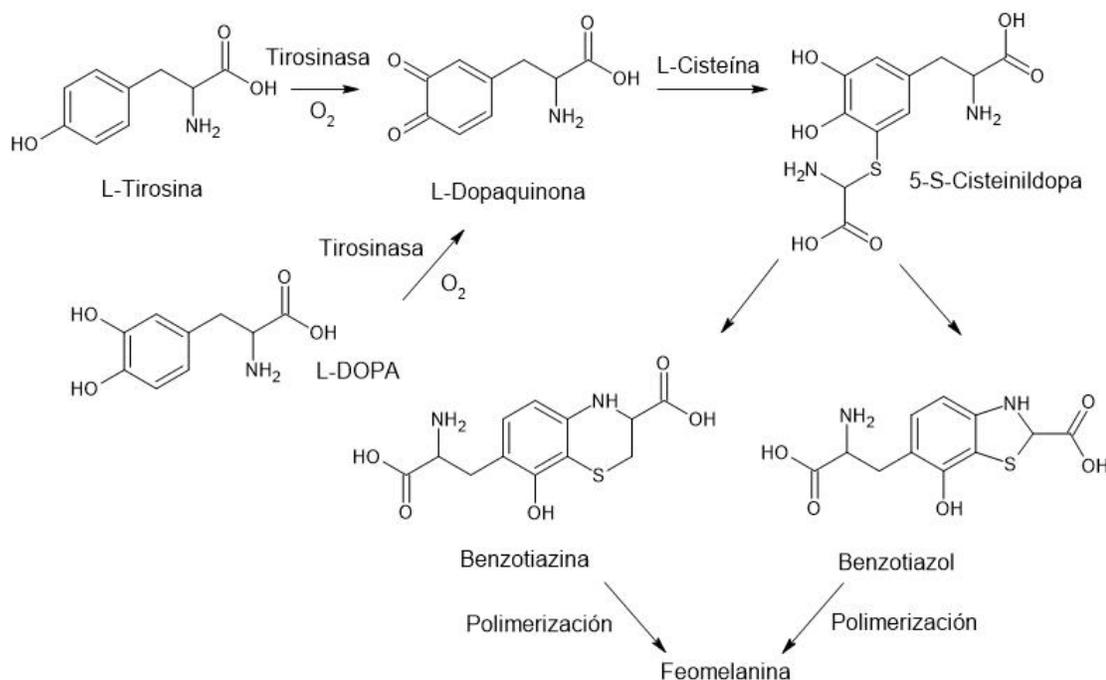


Figura 10. Biosíntesis de la feomelanina [37].

2.4.3.3 Alomelanina

En la vía de síntesis de la alomelanina (o melanina DHN), el malonil CoA o el acetil CoA experimentan una ciclización por la policétido sintasa produce 1,3,6,8-tetrahidroxinaftaleno (THN). Este derivado tetrahidroxilado se transforma en el precursor principal de la melanina, el 1,8-dihidroxinaftaleno (DHN). La lacasa u otra fenol oxidasa puede catalizar la transformación del naftaleno a naftoquinona, y el pigmento final se forma mediante la polimerización del DHN y su forma quinona (Figura 11) [37].

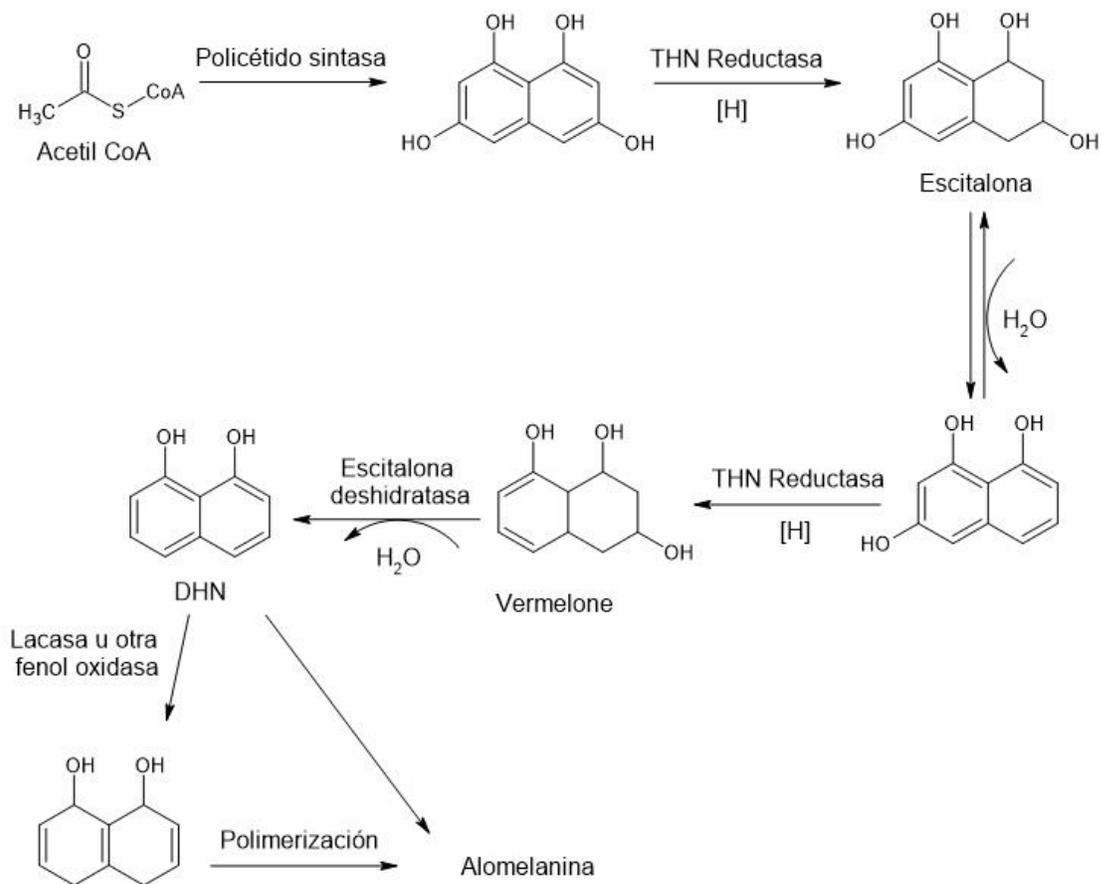


Figura 11. Biosíntesis de la alomelanina [37].

2.4.3.4 Propiedades bioactivas de la alomelanina

Las alomelaninas son pigmentos provenientes de plantas, bacterias y hongos que usan compuestos catecólicos y 1,3,6,8-tetrahidroxinaftaleno como precursores. Son melaninas libres de nitrógenos y a pesar de su potencial debido a sus compuestos bioactivos, se sabe realmente poco acerca de su estructura química [103, 104]. La melanina posee propiedades tales como un alto índice de refracción, un amplio espectro de absorción que abarca desde la radiación ultravioleta hasta la región visible e infrarroja, capacidad para eliminar radicales, quelación de iones metálicos y alta actividad antioxidante debido a su eficiente comportamiento como donador de átomos de hidrógeno [35, 105].

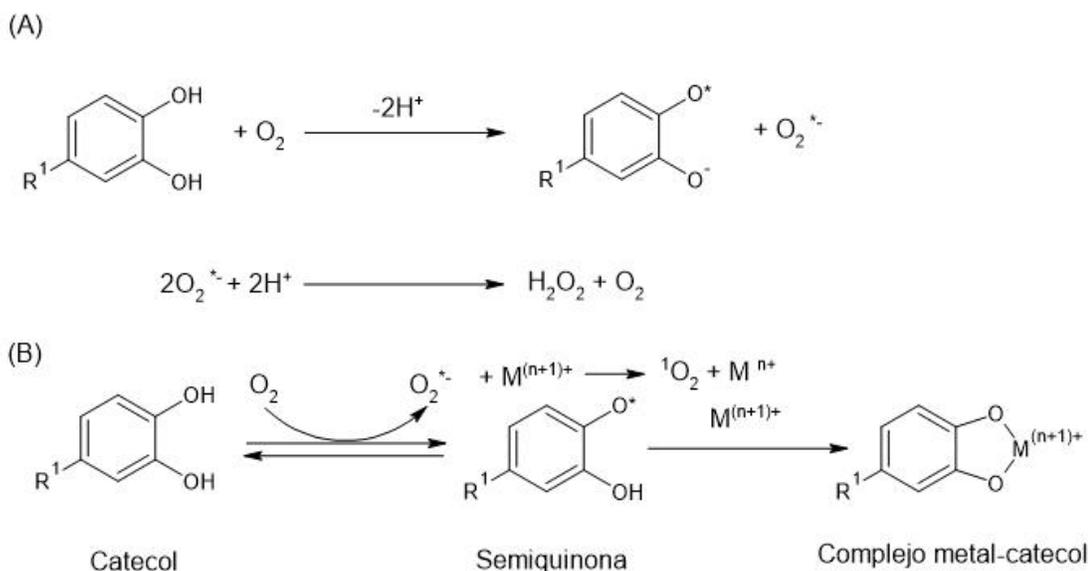


Figura 12. Autooxidación del catecol [106].

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son radicales libres de oxígeno e incluyen a cualquier otra molécula que contenga oxígeno, cuyo átomo de oxígeno tenga mayor reactividad que el oxígeno molecular (O_2) y son capaces de degradar compuestos orgánicos, así como suprimir el crecimiento microbiano. La alta reactividad de las especies reactivas de oxígeno permite que extraigan electrones de los compuestos orgánicos, lo que conduce a la degradación de estos compuestos en agua y dióxido de carbono. Tal reactividad, también puede causar la muerte de microorganismos al dañar su membrana celular, degradándoles a oxígeno y agua. Los compuestos catecólicos son parte fundamental de la estructura de la alomelanina, las especies reactivas de oxígeno pueden ser generadas a partir de la oxidación de los catecoles a través de la autooxidación, la oxidación química o la oxidación usando metales como intermediarios. Estos procesos de oxidación involucran la transferencia de electrones que convierten el O_2 en superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) y posteriormente a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y es, la liberación sustancial de H_2O_2 la responsable de la actividad antimicrobiana y antiviral de las alomelaninas [106].

3

Método o Procedimiento de Investigación

3.1 Descripción del método.

En este capítulo se presenta la metodología efectuada para lograr la caracterización e identificación de la melanina extraída de la cáscara proveniente de nuez pecanera (*Carya illinoensis*), así como su incorporación en fibras electrohiladas a base de policaprolactona y gelatina, con el objetivo de evaluar su actividad antifúngica y antioxidante para su potencial uso en empaques alimenticios. Se detalla, además, los procedimientos empleados para la evaluación de las propiedades de las fibras electrohiladas obtenidas.

3.1.1 Materiales y reactivos

Las nueces pecanas (*Carya illinoensis* Koch) fueron recolectadas de la granja productora de nueces BARHER en Saltillo, México. El ácido acético glacial (AA, 99.7%), cloroformo (CHCl_3 , >99.5%), hidróxido de amonio (NH_4OH , 28.0-30.0%) y ácido clorhídrico (HCl , 36.5-38.0%) fueron adquiridos de KaralTM (Guanajuato, México). El acetato de etilo ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$, $\geq 99.5\%$) fue adquirido de Jalmek (Nuevo León, México). La policaprolactona (PCL) (PM 80000), la gelatina (tipo A de piel de porcino), el ácido fórmico (FA, $\geq 98\%$), el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), el ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbencotiazolina-6- ácido sulfónico), melanina M2649 (CAS 8049-97-6, *Sepia officinalis*), M0418 (CAS 8049-97-6, sintética) e higromicina B (CAS 31282-04-9, *Streptomyces hygroscopicus*) fueron comprados a Sigma-Aldrich Chemical Reagent Co., Ltd. (Saint Louis, USA). Los endófitos fúngicos fueron aislados de fresas comerciales (*Fragaria x ananassa* L.).

3.1.2 Aislamiento y purificación de la melanina

El procedimiento de aislamiento de melanina siguió un método previamente descrito por Sava *et al.* [107] y Wang *et al.* [108] con modificaciones. La cáscara de nuez pecana se lavó con agua corriente en una proporción de volumen de 1:10, para ser añadido $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a una concentración de 10g/100g y ajustar el valor de pH a 10.5 (con una concentración final de 2g/100g). Después de un período de incubación de 24 horas a temperatura ambiente, la mezcla se filtró inicialmente a través de un filtro de nylon de 0.45 mm, y posteriormente se obtuvo el extracto de melanina mediante una filtración adicional. El pH del filtrado se ajustó a 2.5 con HCl 2 M, y se llevó a cabo otro paso de filtración para obtener melanina cruda.

El paso inicial involucró la hidrólisis de la melanina cruda con HCl (7 M) a 100 °C durante 6 horas. Los residuos no hidrolizados se sometieron a centrifugación a 10000 rpm durante 10 minutos y se resuspendieron en NH_3 (5.28 M). Posteriormente, se realizaron tres lavados secuenciales con cloroformo (>99.5%) y acetato de etilo ($\geq 99.5\%$). El sobrenadante resultante se acidificó con HCl 1 M. Finalmente, el residuo filtrado se lavó con agua. El residuo sólido se volvió a disolver en NH_3 (1 M) y se filtró. El sobrenadante se acidificó nuevamente con HCl 1 M, y el residuo filtrado se lavó con agua para obtener melanina purificada.

3.1.3 Solubilidad

El método para determinar el porcentaje de solubilidad del pigmento de melanina en varios disolventes se adaptó de la metodología propuesta por Roy y Rhim [109], con ciertas modificaciones. En este procedimiento, se disolvieron 10 mg de melanina en 1 mL de cada disolvente (incluyendo agua, NaOH 0.1 M y 1 M, Na₂CO₃ 1 M, y algunos disolventes orgánicos comunes como benceno, cloroformo, acetato de etilo, etanol, metanol, ácido acético, éter, éter de petróleo, hexano y acetona) y se agitaron durante 1 hora a 30 °C. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 10000 rpm durante 10 minutos. El sedimento resultante se secó a 60 °C durante 24 horas.

El porcentaje de solubilidad fue calculado mediante la Ecuación (1):

$$\%Solubilidad = \frac{W_1 - W_2}{W_1} * 100 \quad 1$$

Donde W_1 representa el peso inicial de la muestra y W_2 denota el peso de la muestra en seco que permanece insoluble.

3.1.4 Síntesis de fibras electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina

Se siguió la metodología propuesta por Tran-Ly *et al.* [38] con modificaciones. Se disolvieron individualmente PCL (15%, p/p) y gelatina (15%, p/p) en una solución de AA/FA 9:1 (p/p) en agitación durante 24 horas. Las soluciones se mezclaron 1:1 (p/p) permaneciendo en agitación 2 horas a temperatura ambiente antes del hilado. Se llevó a cabo un diseño experimental para el electrohilado de fibras infundidas con melanina utilizando concentraciones de 0.5% (PG0.5), 1.0% (PG1.0), 2.0% (PG2.0), 3.0% (PG3.0) y 4.0% (PG4.0) (p/p). El electrohilado se ejecutó en el dispositivo NE100 Single Nozzle Electrospinning/Spraying Machine (INOVENSO Ltd. Estambul, Turquía), inyectando 6 mL de cada solución polimérica a una velocidad de flujo de 0.3 mL h⁻¹. La solución se proyectó sobre un colector giratorio cubierto con una película de aluminio girando a 300 rpm. La distancia entre la punta y el colector fue de 15 cm con un voltaje de 15 kV.

3.1.5 Caracterización de fibras electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina

En esta sección se describe la caracterización de las membranas electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina. Se llevaron a cabo diversas técnicas analíticas para evaluar las propiedades físicas, químicas y biológicas de las fibras obtenidas. Entre las características analizadas se incluyen la morfología de las fibras y la composición química con el fin de determinar su idoneidad para aplicaciones en empaques alimenticios.

3.1.5.1 Caracterización ultravioleta-visible (UV-VIS)

Para proceder con la caracterización de la melanina, se realizaron mediciones utilizando un espectrofotómetro ultravioleta-visible de doble haz, modelo Evolution 300 de la marca Thermo Scientific (Madison, WI, EE. UU.). Se realizó un barrido espectral desde 190 nm a 800 nm, con un ancho de banda de 2.0 nm, una velocidad de escaneo de 120 nm min⁻¹ y un intervalo de datos de 1.0 nm. La melanina se pretrató moliéndola bajo el precepto de sustancia termolábil y tamizándola a través de una malla 230 (63 μm), luego se disolvió en NaOH 0.1 M. Esto involucró disolver 100 mg de melanina en 10 mL de NaOH y centrifugar durante 15 minutos a 5500 rpm para separar la fase líquida de los sólidos no disueltos. Posteriormente, la solución se midió y ajustó a una concentración del 1%. La medición en blanco se realizó utilizando la matriz de disolución NaOH 0.1 M.

3.1.5.2 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros infrarrojos de la melanina y de las fibras de electrohiladas infusionadas con melanina se obtuvieron utilizando el espectrómetro Nicolet iS10 de la marca Thermo Scientific (Waltham, MA, USA) con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de diamante, siguiendo las directrices de la norma ASTM E573-01(2013). El fondo se recolectó en el aire evitando el contacto con la torre de presión del instrumento. Se realizaron un total de 64 escaneos a una resolución de 4 cm⁻¹ en una región de número de onda desde 4000 cm⁻¹ hasta 400 cm⁻¹.

3.1.5.3 Ángulo de Contacto

Se siguió la metodología propuesta por Ruiz-Rocha *et al.* [110] con modificaciones. Las mediciones se efectuaron en el equipo OCA 15EC (Dataphysic, Filderstadt, Alemania). Los ángulos se midieron 166 ms después de la aplicación de la gota, utilizando un ajuste elíptico, se determinaron los ángulos de contacto derecho e izquierdo (expresados en °) de cada gota a partir de la imagen digital, con un valor de error experimental de 3°. Para garantizar la reproducibilidad, se tomaron cinco puntos de referencia para analizar la interacción del agua con la melanina molida y las fibras de electrohilado respectivamente.

3.1.5.4 Caracterización del color de las fibras

Una parte de las alteraciones físicas observadas en las fibras electrohiladas implica cambios en el color debido a las distintas concentraciones de melanina incorporada. La medición del color se llevó a cabo según lo estipulado en las disposiciones de los iluminantes y observadores estándar ASTM E 308-08. Se utilizó el espectrofotómetro ColorFlex EZ de la marca HunterLab (Virginia, EE. UU.), con una geometría de 45°/0°, excluyendo el componente especular, un diámetro de puerto de 31.8 mm, en un rango espectral de 400 a 700 nm y un ancho de banda de 10 nm. Además, se utilizó el espectrofotómetro UltraScan PRO de la marca HunterLab (Virginia, EE. UU.) con geometría de reflectancia d/8° incluyendo el componente especular, y un puerto de 25 mm, con un rango completo CIE de 350 a 1050 nm y un ancho de banda espectral de 5 nm. Para cada instrumento, se realizaron 10 mediciones con un intervalo de 7 segundos entre lecturas, utilizando un iluminante D65, observador de 10° y escala CIE L*a*b*, obteniendo datos espectrales para cada caso.

3.1.5.5 Microscopía óptica

Todas las mediciones ópticas se determinaron utilizando un microscopio óptico modelo UPRIGHT LX 400 de la marca LABOMED (Labomed Inc., Culver City, CA, EE. UU.) con objetivos acromáticos de 4x (distancia de trabajo 30.0 mm), 10x (distancia de trabajo 4.5 mm), 40x (distancia de trabajo 0.50 mm) y 100x (distancia de trabajo 0.13 mm).

3.1.5.6 Pruebas mecánicas

Las evaluaciones físicas se llevaron a cabo utilizando la máquina de ensayos universal QUASAR 5 de la marca GALDABINI (Cardano al Campo, VA, Italia), siguiendo los protocolos establecidos en el Método de Ensayo Estándar para Propiedades de Tracción de Láminas Plásticas Delgadas (ASTM D882-18). Este estándar refiere a la determinación de propiedades de tracción para plásticos en forma de láminas delgadas con un grosor que no excede los 1.0 mm (0.04 pulgadas). Se realizaron cinco mediciones siguiendo las pautas para fibras isotrópicas. Cada fibra fue seccionada en una forma rectangular, con una longitud de 200 mm y un ancho de 10 mm, posicionada con un espacio de 100 mm entre las mordazas, y sometida a una velocidad de 10 mm min⁻¹.

3.1.5.7 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se realizaron pruebas de DSC en las fibras electrohiladas colocando 1 mg de cada fibra en una bandeja de aluminio. Las pruebas se llevaron a cabo utilizando un instrumento LINSEIS (Messgeräte GmbH, Selb, Alemania) con un rango de temperatura de 10 a 100 °C. Se estableció una línea de corrección de temperatura utilizando una bandeja de aluminio vacía en un rango de -10 a 150 °C con una rampa de 15 °C min⁻¹.

3.1.5.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología superficial de las fibras electrohiladas se realizó en el Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM), Zeiss Sigma (Jena, Alemania), modelo Sigma HD VP, con detector de electrones secundarios (SE) a 2 kV. En todos los casos, fue necesario recubrir las muestras con una fina capa de oro para reducir los problemas asociados con la acumulación de carga electrostática causada por la acumulación de electrones en la superficie de la muestra durante el análisis.

3.1.6 Actividad antioxidante

Se detalla a continuación, la evaluación de la actividad antioxidante de la melanina extraída de la cáscara de nuez pecanera y de las fibras electrohiladas incorporadas con melanina. Para este propósito, se emplearon los métodos de DPPH y ABTS, los cuales permiten medir la capacidad de las muestras para neutralizar radicales libres y así determinar su potencial antioxidante.

3.1.6.1 Actividad antioxidante DPPH

El ensayo se basa en la reducción del radical violeta DPPH a un compuesto de color amarillo pálido por parte de los antioxidantes, medido colorimétricamente a 517 nm. El porcentaje de inhibición en el tiempo del ensayo refleja la capacidad antioxidante de la muestra. Se utilizó la metodología propuesta por Orona-Tamayo *et al.* [111], y Kalantary *et al.* [112] con modificaciones. Se preparó una solución de radical DPPH de 0.000180 mol L⁻¹ en 80/100 mL de metanol. Para la muestra se disolvió 1 mg de cada fibra en 1 mL de solución de AA/FA (9:1, p/p). Se mezclaron 50 µL de muestra y 170 µL de antioxidante en una placa de 96 pozos. La placa se incubó a 37 °C durante 30 minutos en oscuridad. Se leyó la absorbancia de la mezcla a 517 nm utilizando el espectrofotómetro de microplacas Multiskan SkyHigh, Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EE. UU.). El blanco se realizó con 50 µL AA/FA con la fibra PG. Los resultados se calcularon utilizando la Ecuación (2).

$$RSA(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) * 100 \quad 2$$

Donde A_c es la absorbancia del radical sin la muestra, A_i es la absorbancia de la muestra ensayada y A_j es la absorbancia del grupo blanco, ($n = 3$).

3.1.6.2 Actividad antioxidante ABTS

La solución de ABTS se generó mediante oxidación química del persulfato de amonio (APS). Para el ensayo, se utilizó la metodología propuesta por Orona-Tamayo *et al.* [111] con modificaciones. La solución de ABTS (0.007 mol L⁻¹, 3 mL) y el APS (0.00245 mol L⁻¹, 15 mL) se disolvieron en agua destilada y se mezclaron en oscuridad a 25 °C, 16 horas antes de su uso. La solución de radical ABTS se ajustó con metanol al 100% a una absorbancia de 0.700 ± 0.02 a 734 nm para realizar mediciones a la misma longitud de onda. Para la preparación de la muestra, se disolvió 1 mg de cada fibra en 1 mL de solución de AA/FA (9:1, p/p), mezclando 50 µL de la muestra en 180 µL de antioxidante. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 6 minutos en oscuridad, y se leyó la absorbancia a 734 nm utilizando el espectrofotómetro de microplacas Multiskan SkyHigh (Waltham, MA, EE. UU.). El blanco se realizó de la misma manera con 50 µL de AA/FA con la fibra PG. Los resultados se calcularon utilizando la Ecuación (2).

3.1.7 Aislamiento fúngico

El aislamiento fúngico se llevó a cabo a partir de fresas comerciales enfermas haciendo cortes en la fruta usando un bisturí estéril. El tejido se colocó en placas de Petri de agar papa dextrosa (PDA) con ampicilina (100 mg L^{-1}). Las placas se incubaron de 5 a 7 días a $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Se realizaron subcultivos para lograr el aislamiento completo de los hongos.

3.1.7.1 Postulados de Koch

Los postulados de Koch se llevaron a cabo en fresas sanas para verificar la patogenicidad de los hongos previamente aislados. Se utilizó la metodología descrita en la norma ASTM D4576-08 con modificaciones. La superficie de los cultivos axénicos de cada hongo se raspó cuidadosamente para recuperar las esporas utilizando solución salina de fosfatos 1X (PBS). Para la infección *in vivo*, se seleccionaron fresas comerciales sanas, turgentes y sin daños a las cuales se les retiraron cuidadosamente los tallos para lavarlas, secarlas al aire sin aplicación de calor externo, pesarlas y medirlas. Posteriormente, las fresas se desinfectaron en una solución de cloro al 0.07% (v/v) durante cinco minutos para posteriormente ser irradiadas con luz ultravioleta a 365 nm. Se utilizaron envases plásticos transparentes desechables para contener las fresas durante el período de infección. Se rociaron 10 mL de una solución de esporas ajustada de cada hongo (10^6 UFC mL^{-1}) en la superficie de las fresas. Las cajas selladas que contenían las frutas se colocaron en un lugar fresco, libre de luz solar directa, corrientes de aire u otras perturbaciones ambientales, a temperatura ambiente durante 7 días. Al final de la infección, los hongos que brotaron durante este período se aislaron de las frutas recién enfermas para obtener cultivos axénicos de hongos inoculados individualmente.

3.1.8 Actividad antifúngica

Se realizó por triplicado el método de difusión en disco para evaluar la eficacia de la melanina pura. Cada papel de filtro (7.0 mm diámetro) se impregnó con 20 μL de solución de melanina (0-3%) disuelta en NaOH 0.1 M, y se colocó en placas de agar PDA previamente inoculadas con 100 μL de suspensión fúngica diluida a una concentración de 10^4 UFC mL^{-1} en solución salina estéril. Se incluyó un control positivo de higromicina B (100 mg L^{-1}) utilizando el mismo procedimiento. Para evaluar las fibras electrohiladas, se cortaron muestras circulares con un diámetro de 7

mm de cada tipo de fibra (PCL, PG, PG1.0 y PG3.0). Además, se estableció un control positivo electrohilando una fibra de policaprolactona y gelatina en AA/FA (9:1 p/p) con higromicina B (100 mg L^{-1}), siguiendo el mismo proceso de inoculación descrito anteriormente. Los diámetros de la zona de inhibición resultante se midieron y registraron para evaluar la actividad antifúngica.

3.1.9 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguida de una prueba de análisis post-hoc de Tukey. Todos los gráficos y análisis se realizaron utilizando el software RStudio v2023.09.1+494 para Windows.

4

Resultados

4.1 Descripción de los resultados.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a lo largo del estudio. Se describen detalladamente los hallazgos de las pruebas realizadas, incluyendo la caracterización de la melanina extraída de la cáscara de nuez pecanera, las propiedades de las fibras electrohiladas de policaprolactona/gelatina con melanina, y la evaluación de su actividad antioxidante y antifúngica. Los resultados se exponen de manera clara y precisa, proporcionando datos y observaciones relevantes que respaldan el potencial uso de estos materiales en empaques alimenticios.

4.1.1 Caracterización de la melanina extraída

En esta sección se describen los resultados obtenidos de la caracterización de la melanina extraída de la cáscara de nuez pecanera. Se incluyen análisis detallados de las propiedades físicas, químicas y estructurales de la melanina, utilizando técnicas como la espectroscopía. Estos estudios permiten comprender mejor la naturaleza de la melanina y su idoneidad para ser incorporada en las nanofibras de policaprolactona y gelatina.

4.1.1.1 Solubilidad

Se midió el porcentaje de solubilidad de la melanina extraída de cáscara de nuez pecana en varios disolventes, los resultados indicaron que es soluble en soluciones alcalinas, pero poco soluble en disolventes orgánicos como metanol, etanol y cloroformo ($23.74 \pm 0.62\%$ en NaOH 0.1 M, $12.33 \pm 1.31\%$ en NaOH 1 M y $16.15 \pm 4.43\%$ en Na_2CO_3) ($P > 0.05$). La solubilidad observada en NaOH fue mayor. Sin embargo, el porcentaje para hidróxido de sodio no fue el previsto, lo cual podría explicarse por los cristales de sal que quedaron después del proceso de secado. Además, la solubilidad en disolventes orgánicos es consistente con el estudio realizado por Yong-Yang *et al.* [113], que indica que la melanina es insoluble en agua y en disolventes orgánicos.

4.1.1.2 Composición química de la melanina extraída.

La melanina extraída a partir de cáscara de nuez mostró una absorbancia máxima en la región espectral ultravioleta (200 a 400 nm) (Figura 13A). La presencia de estructuras moleculares conjugadas complejas en la estructura de la melanina, son las responsables de la absorción de la luz ultravioleta. El fenómeno característico de significancia es el decremento de la absorbancia conforme incrementa la longitud de onda (400 a 800 nm) [114], explicando así, su capacidad de protección contra la radiación basada en su fuerte energía de absorción y habilidad de dispersión.

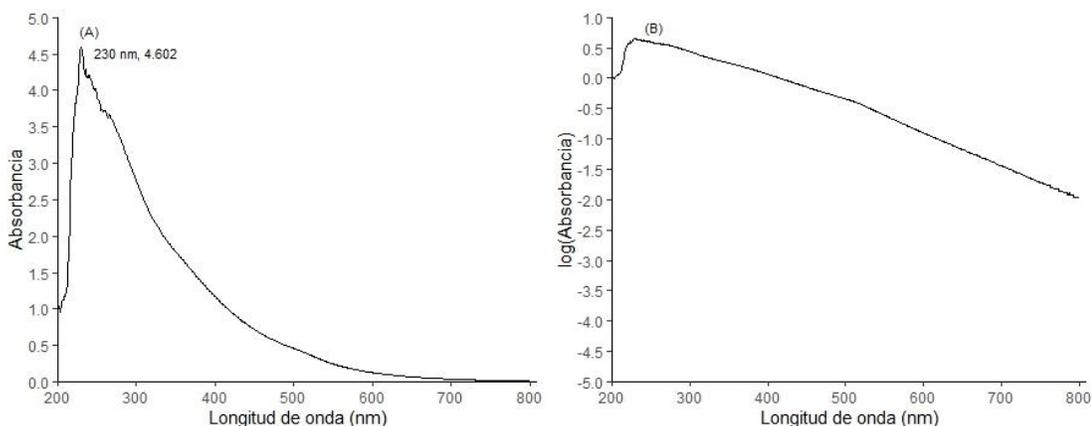


Figura 13. Barrido espectral UV-Vis desde 200 a 800 nm de la melanina proveniente de cáscara de nuez disuelta en NaOH 0.1 M y (B) logaritmo de la absorbancia contra la longitud de onda.

El logaritmo de la absorbancia como una función de la longitud de onda produce una curva lineal con una pendiente negativa característica de la melanina [115-117] representada por la ecuación $y = -0.0043x + 1.6602$ con un coeficiente de correlación $r^2 = 0.9417$, pendiente equiparable a la reportada por Li., *et al.* (Figura 13B).

Se ejecutó un análisis infrarrojo para las melaninas comerciales de origen sintético y proveniente de *Sepia officinalis* con la finalidad de ser comparadas con el espectro generado por la melanina obtenida a partir de cáscara de nuez bajo condiciones de reproducibilidad. Los espectros resultantes son mostrados en la Figura 14.

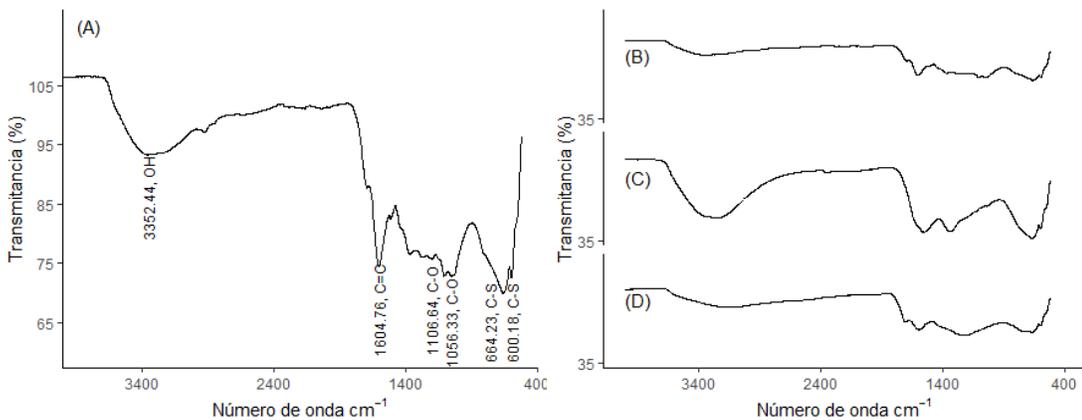


Figura 14. Análisis espectral de melaninas mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de la melanina extraída de cáscara de nuez pecana (A, B) comparada con melaninas comerciales de *Sepia officinalis* (C) y de origen sintético (D).

La eumelanina está constituida por unidades poliméricas de indol-5,6-quinona y 5,6-dihidroxiindol-ácido carboxílico, mientras que la feomelanina está compuesta por

unidades benzotiazinas y benzotiazoles en su estructura. Debido a las diferencias en los grupos funcionales presentes en los anillos heterocíclicos, las bandas de absorción infrarroja características en el espectro permiten la fácil diferenciación de la melanina. Los picos característicos comunes entre la eumelanina y la feomelanina están localizados entre 3500 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} para los grupos hidroxilo (-OH) y los radicales aminos (-NH₂), mientras que los grupos C=C se observan en un rango de número de onda de 1645 cm^{-1} y 1631 cm^{-1} . Permitiendo así, la diferenciación de los picos característicos entre la feomelanina y la eumelanina, tales como los enlaces C-S observados en 600 cm^{-1} y 700 cm^{-1} (Figura 2, C y D) [115]. La melanina extraída de nuez pecana exhibe un espectro similar al reportado por Singla *et al.* [118], donde los picos característicos (1034 cm^{-1} , 1069 cm^{-1} y 1110 cm^{-1}) son atribuidos a los enlaces C-O. El rango espectral comprendido entre 3500 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} se sobrepone a los picos característicos reportados para la eumelanina y la feomelanina, al igual que el rango en la región de 1645 cm^{-1} y 1631 cm^{-1} , picos característicos asociados a alomelanina libre de nitrógeno. Esto se refuerza debido a que, la alomelanina usualmente se encuentra presente en plantas y hongos [119], así como el color café particular del compuesto.

4.1.2 Nanofibras PG-Melanina

En esta sección se presenta la investigación sobre las nanofibras compuestas de policaprolactona (PCL) y gelatina (GT), incorporadas con melanina extraída de la cáscara de nuez pecanera. Se analizan sus propiedades físicas y químicas. Además, se evalúa la actividad antioxidante y antifúngica de las nanofibras, destacando su potencial aplicación en el desarrollo de empaques alimenticios innovadores y funcionales.

4.1.2.1 Morfología y dimensiones de las fibras

Las membranas obtenidas se presentan en la Figura 4. Todas las membranas fueron sintetizadas con una dimensión aproximada de 255 cm^2 , con un grosor de $0.10 \pm 0.01\text{ mm}$, $0.13 \pm 0.03\text{ mm}$, $0.08 \pm 0.01\text{ mm}$, $0.19 \pm 0.09\text{ mm}$, $0.24 \pm 0.06\text{ mm}$, $0.18 \pm 0.10\text{ mm}$ y $0.23 \pm 0.09\text{ mm}$ para las fibras de PCL, PG (policaprolactona y gelatina), PG0.5 (policaprolactona, gelatina y melanina 0.5% p/p), PG1.0 (policaprolactona, gelatina y melanina 1.0% p/p), PG2.0 (policaprolactona, gelatina y melanina 2.0% p/p), PG3.0 (policaprolactona, gelatina y melanina 3.0% p/p) y PG4.0 (policaprolactona, gelatina y melanina 4.0% p/p) respectivamente (Figura 15).

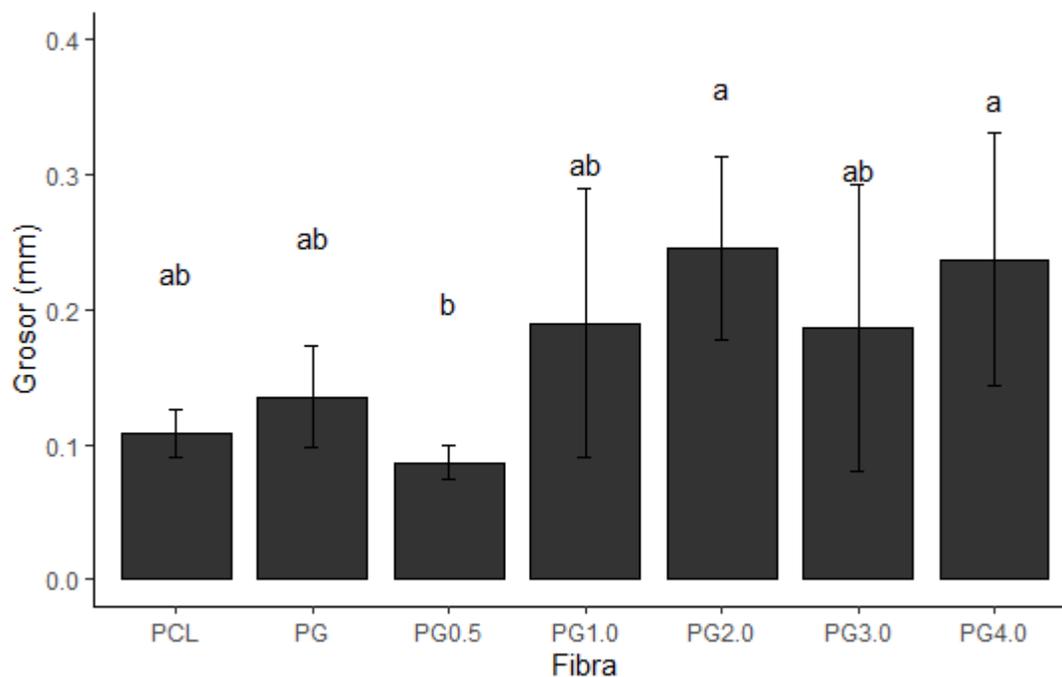


Figura 15. Grosor de las películas electrohiladas de PCL, PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0.

La variabilidad en el grosor de las membranas electrohiladas de policaprolactona (PCL) y las diferentes formulaciones de policaprolactona-gelatina (PG) (PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0) es notable, con valores oscilando entre 0.08 mm y 0.24 mm. Este rango amplio puede reflejar diferencias en la uniformidad del proceso de electrohilado y en la composición de las soluciones precursoras utilizadas. Las membranas más delgadas, como las de PCL y PG0.5, podrían sugerir una mejor compactación de las fibras durante el proceso de deposición, posiblemente relacionado con condiciones optimizadas de electrohilado. En contraste, las membranas más gruesas, como las de PG3.0 y PG4.0, podrían indicar una mayor acumulación de material durante la deposición electrostática, quizás debido a una viscosidad más alta o a la formación de aglomerados de fibras. Estas observaciones subrayan la importancia de controlar cuidadosamente las condiciones de fabricación para lograr membranas consistentes en términos de grosor. La Figura 16 muestra imágenes representativas de las fibras producidas mediante electrohilado, observadas a nivel macroscópico y mediante microscopio óptico, destacando las características morfológicas de cada muestra.

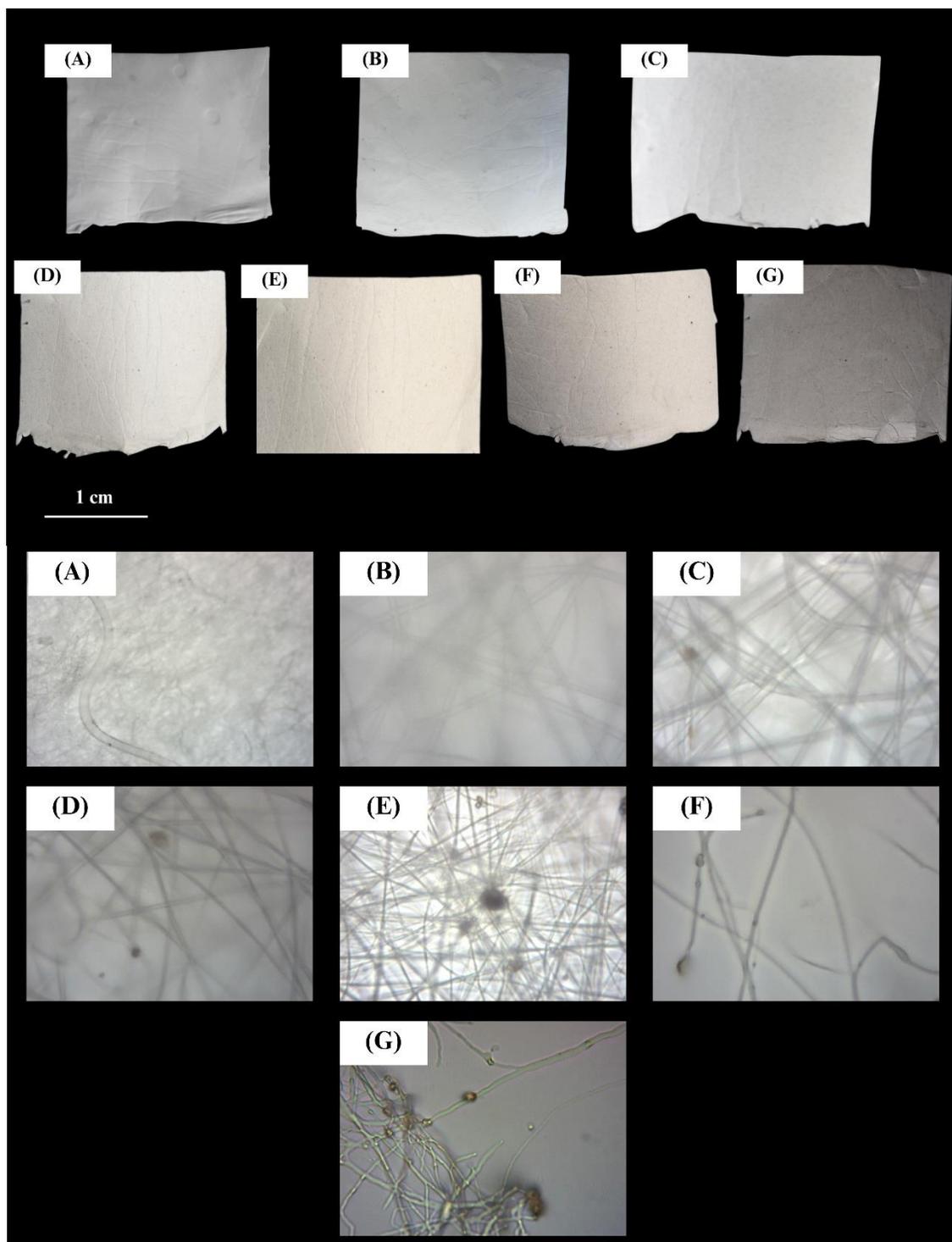
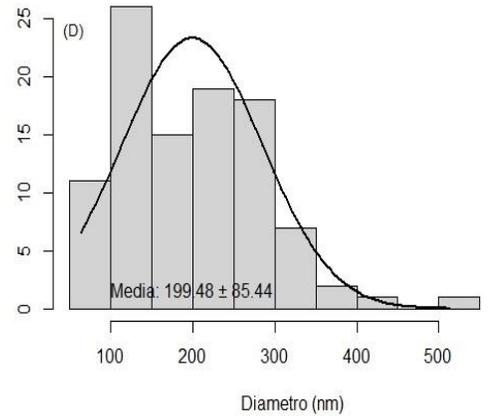
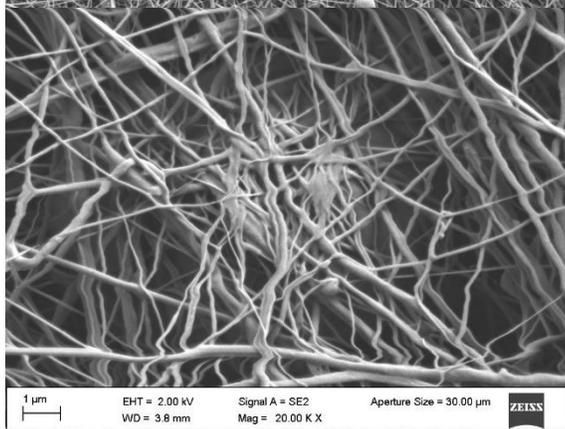
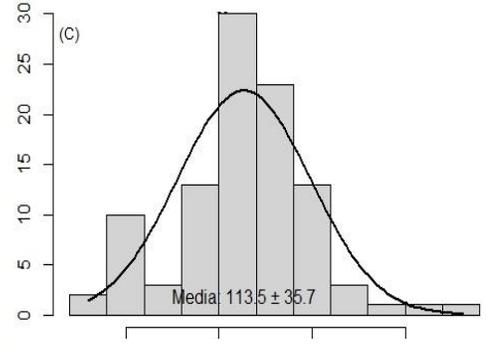
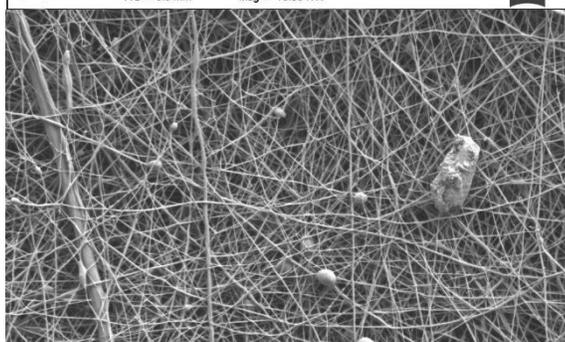
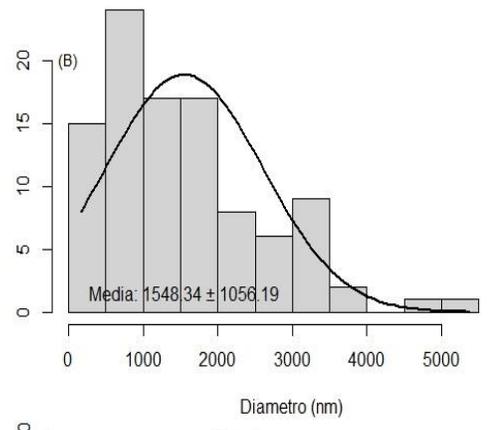
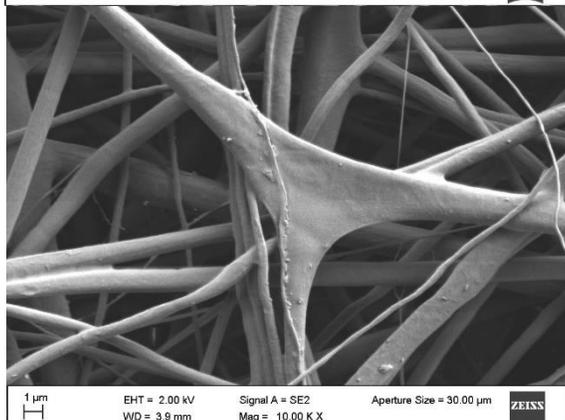
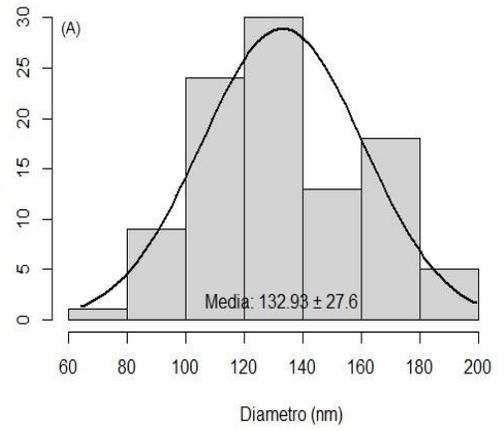
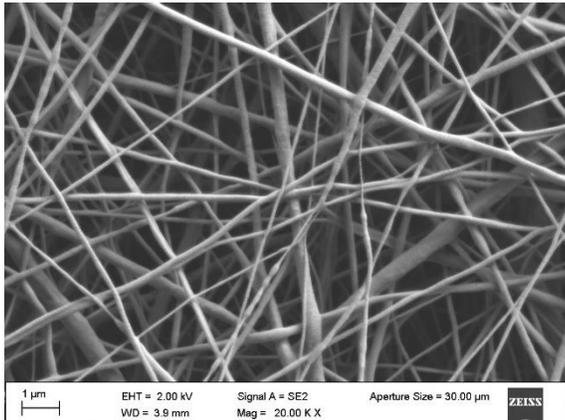


Figura 16. Imágenes representativas de las fibras producidas a través de electrohilado vistas a nivel macroscópico y mediante el microscopio óptico objetivo 100x, (A) PCL, (B) PG, (C) PG0.5, (D) PG1.0, (E) PG2.0, (F) PG3.0 y (G) PG4.0.



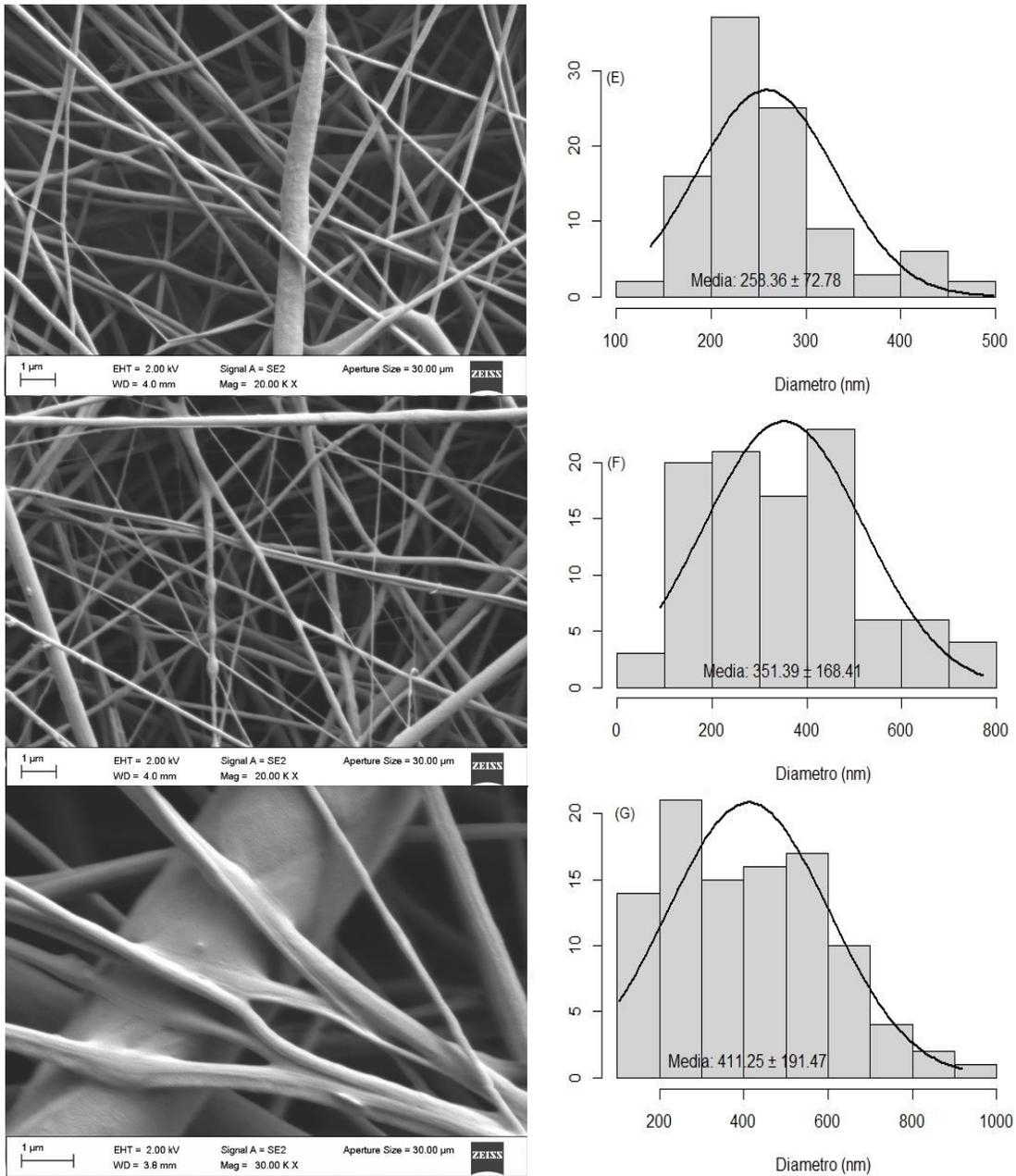


Figura 17 Caracterización del material electrohilado a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las fibras PCL (A), PG (B), PG0.5(C), PG1.0 (D), PG2.0 (E), PG3.0 (F) y PG4.0 (G) y sus respectivos histogramas de distribución del tamaño de los diámetros de las fibras ($n = 100$).

Las fibras de PCL (Figura 17A) exhiben una distribución rígida y uniforme con un diámetro de 132.93 ± 27.6 nm, mientras que las fibras de PG (Figura 17B) muestran que la adición de gelatina a la PCL conduce a un engrosamiento de las fibras electrohiladas con un diámetro de 1548.34 ± 1056.19 nm, así como la impartición de

flexibilidad de la estructura. El notable aumento en el grosor de las fibras se atribuye a una porción sustancial de gelatina que permanece en la superficie de la fibra y se funde debido a su naturaleza hidrofílica. La inclusión de melanina en la mezcla de policaprolactona y gelatina produce fibras heterogéneas con un mayor adelgazamiento, con diámetros registrados de 113.5 ± 35.7 nm (PG0.5, Figura 17C), 199.48 ± 85.44 nm (PG1.0, Figura 17D), 258.36 ± 72.78 nm (PG2.0, Figura 17E), 351.39 ± 168.41 nm (PG3.0, Figura 17F) y 411.25 ± 191.47 nm (PG4.0, Figura 17G).

Aunque inicialmente la incorporación de melanina puede causar un adelgazamiento de las fibras, se observa que a medida que se incrementa la cantidad de melanina añadida, se produce un leve aumento en el diámetro de las fibras electrohiladas. Este fenómeno sugiere que la presencia de melanina podría influir en la viscosidad y la tensión superficial de las soluciones precursoras utilizadas en el proceso de electrohilado, afectando así las propiedades morfológicas de las nanofibras resultantes. Este hallazgo es crucial para entender cómo la concentración de melanina puede modular las características físicas y estructurales de las nanofibras de policaprolactona/gelatina, y su impacto potencial en las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de los empaques alimenticios desarrollados.

4.1.3 Propiedades químicas de las fibras con melanina

La Figura 18 muestra los espectros FTIR obtenidos de las fibras electrohiladas de PCL y sus variantes con adición de gelatina y diferentes concentraciones de melanina. Estos espectros proporcionan información crucial sobre las interacciones moleculares y las características estructurales de los materiales.

En la figura, se observan los espectros correspondientes a las muestras de PCL puro (A), PCL con gelatina (PG) (B), y las muestras de las fibras electrohiladas de policaprolactona-gelatina con adiciones crecientes de melanina, 0.5% (PG0.5) (C), 1.0% (PG1.0) (D), 2.0% (PG2.0) (E), 3.0% (PG3.0) (F) y 4.0% (PG4.0) (G). Estos datos permiten analizar cómo la incorporación de gelatina y melanina afecta las propiedades químicas y estructurales de las fibras.

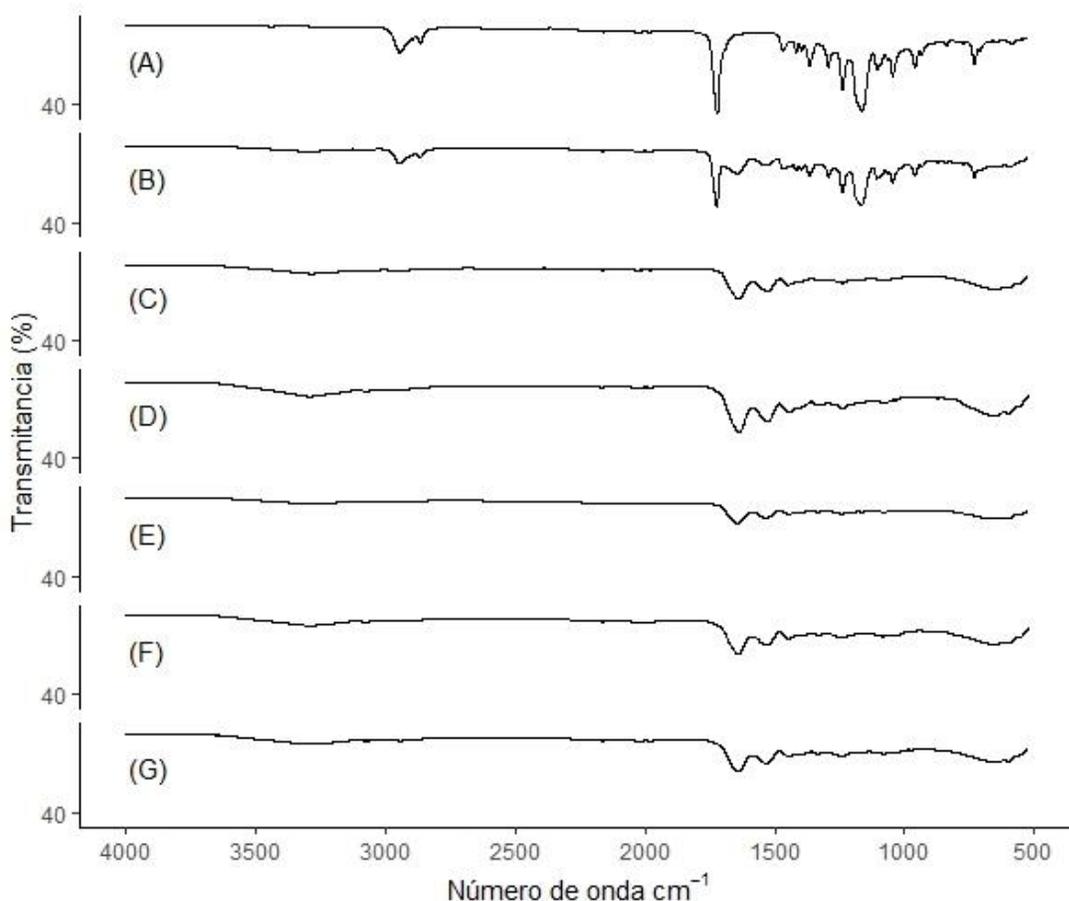


Figura 18. Espectros infrarrojos obtenidos de todas las muestras realizadas de las fibras de (A) policaprolactona, (B) policaprolactona-gelatina y (C-G) policaprolactona-gelatina y melanina en el infrarrojo medio en un rango de 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} .

La Figura 19A muestra los espectros infrarrojos de las fibras PG y PCL, mostrando las bandas de absorción infrarroja características en las gráficas, los cuales son equiparables con los resultados obtenidos por Kuppen, *et al.* [120] en el cual, se reportan las bandas de absorción en 1729 cm^{-1} relacionados a los grupos carbonilo, 1652 cm^{-1} y 1551 cm^{-1} relacionados a los grupos amidas. Por otro lado, para la fibra de PCL se han reportados bandas de absorción en 2939 cm^{-1} y 2868 cm^{-1} relacionados con enlaces CH_2 asimétricos, 1294 cm^{-1} asociados con los enlaces C-O y C-C, mientras que 1239 cm^{-1} es consistente con los enlaces C-O-C. Adicionalmente, las diferencias significativas pueden ser observadas entre las bandas de absorción características en números de onda comprendidos desde 1689 cm^{-1} hasta 1491 cm^{-1} .

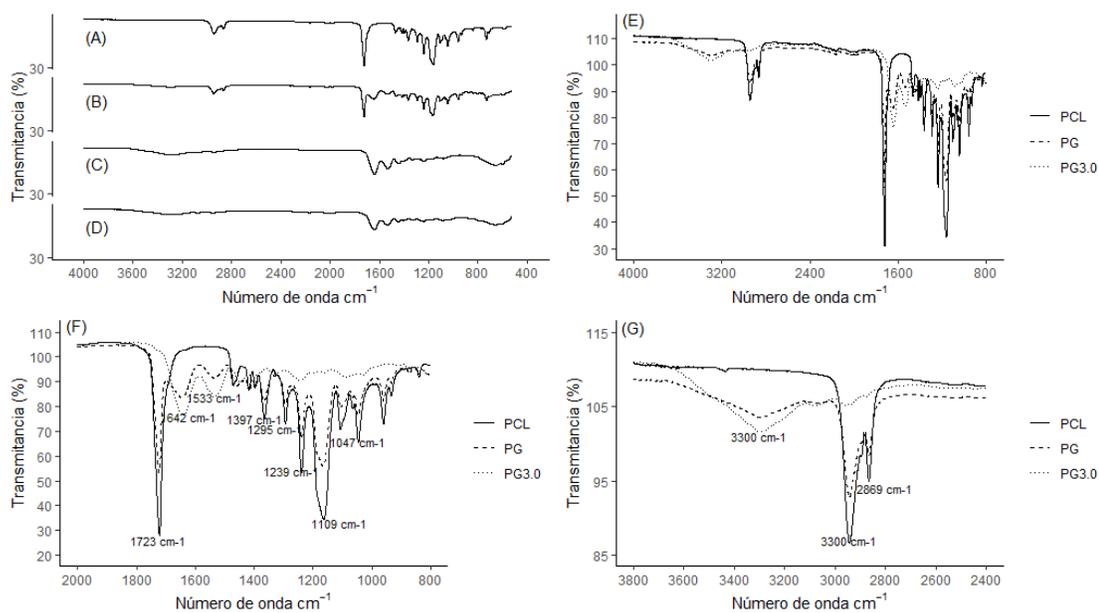


Figura 19. Espectros FTIR obtenidos de las fibras electrohiladas de policaprolactona (PCL) (A), PCL y gelatina (B) y, PCL, gelatina y 1.0% (C) y 3.0% (D) melanina, (E) muestra la superposición de FTIR de las fibras PCL, PG y PG3.0 en un rango de 4000 cm^{-1} a 800 cm^{-1} , (F) muestra los grupos funcionales observados en la fibra PCL y (G) muestra los grupos funcionales OH en las fibras PCL, PG y PG3.0.

En la Figura 19E, las bandas características de absorción de la PCL pueden ser observadas a 1723 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del grupo carbonilo, los estiramientos simétricos y asimétricos de los grupos CH_2/CH_3 en 2946 cm^{-1} y 2868 cm^{-1} , respectivamente. Las bandas características de absorción infrarroja de la gelatina son observadas alrededor de 3330 cm^{-1} para el grupo funcional OH, así como el estiramiento del N-H de la amida desde 1550 cm^{-1} hasta 1500 cm^{-1} . Los espectros infrarrojos de los materiales de PG está representada por la suma de las bandas de absorción para la PCL y la gelatina. Se observó un ligero decremento en la intensidad de las bandas de absorción en el material PG asociado a la interacción entre los grupos amina y amida de la gelatina y los grupos ésteres de la PCL, consistente con lo reportado en literatura [121].

Conforme se incorpora una mayor cantidad de melanina en la mezcla de policaprolactona-gelatina (Figura 19F), un cambio significativo en los espectros infrarrojos de los materiales es observado. Entre los cambios más notables, se observa la desaparición de la banda en 1723 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo de la PCL, junto con un aumento en la intensidad de la banda en 3300 cm^{-1} , que puede atribuirse a un aumento en el grupo -OH o -RNH-R, lo que potencialmente lleva al material a

exhibir una mayor afinidad con el agua. Las bandas de absorción infrarroja correspondientes al PCL en 1725 cm^{-1} , atribuidas al estiramiento asimétrico del grupo carbonilo, y la banda de absorción en 1170 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento simétrico del grupo C-O-C, desaparecen. Además, se observó la desaparición de bandas de absorción infrarroja alrededor de 1300 cm^{-1} , que pueden estar relacionadas estrechamente con el estiramiento de los grupos C-O y C-C en la fase cristalina de la PCL, según Gorodzha, *et al.* [122]. Esto es un indicio de una fuerte interacción entre los materiales, lo que puede interferir con el proceso de cristalización de la PCL. La desaparición de las bandas de absorción infrarroja correspondientes al grupo carbonilo de la PCL sirve como indicador de una fuerte interacción del material. La gelatina, al ser una proteína compleja incorporada en la mezcla, es un polímero que consiste en unidades monoméricas de aminoácidos con múltiples grupos funcionales $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y grupos NH_2 que pueden interactuar con la PCL, causando que la señal del grupo carbonilo a 1725 cm^{-1} desaparezca. Por último, en la región de 3800 cm^{-1} a 2600 cm^{-1} , se observa un aumento en la banda de absorción del grupo $-\text{OH}$, lo que posiblemente explica el aumento en la hidrofiliidad de los compuestos (Figura 19G).

4.1.4 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto es una técnica ampliamente reconocida para evaluar el comportamiento de humectación o no humectación de diversos materiales, incluidos metales, no metales y polímeros. Una mayor hidrofiliidad, que indica una mayor capacidad de humectación, se asocia con valores bajos de ángulo de contacto, mientras que los valores más altos sugieren superficies hidrofóbicas resistentes a la humectación. La capacidad de humectación de las superficies sólidas es una propiedad crucial influenciada tanto por la composición química como por la microestructura geométrica de la superficie. Las superficies con ángulos de contacto con el agua inferiores a 60° se clasifican como hidrofílicas, mientras que aquellas con ángulos de contacto superiores a 90° se consideran hidrofóbicas, y las superficies con ángulos de contacto superiores a 120° se denominan superhidrofóbicas [123] (Figura 20 y Figura 21). La humectabilidad de un material depende de múltiples factores, tal como la composición química, topografía de la superficie, entre otros. Como la superficie de cualquier material difiere del interior, el entendimiento de las características superficiales de los materiales es esencial para correlacionar las propiedades de contacto con el agua [123].

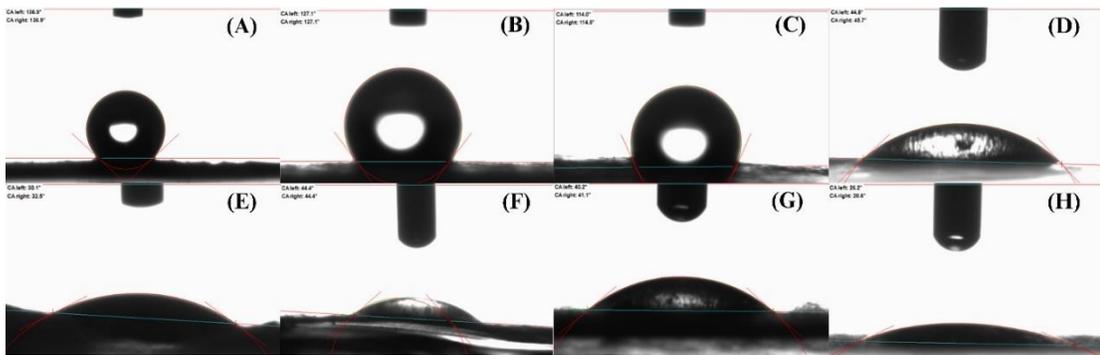


Figura 20. Ángulo de contacto de la melanina en estado sólido (A) y las fibras electrohiladas de PCL (B), PG (C), PG0.5 (D), PG1.0 (E), PG2.0 (F), PG3.0 (G) y PG4.0 (H).

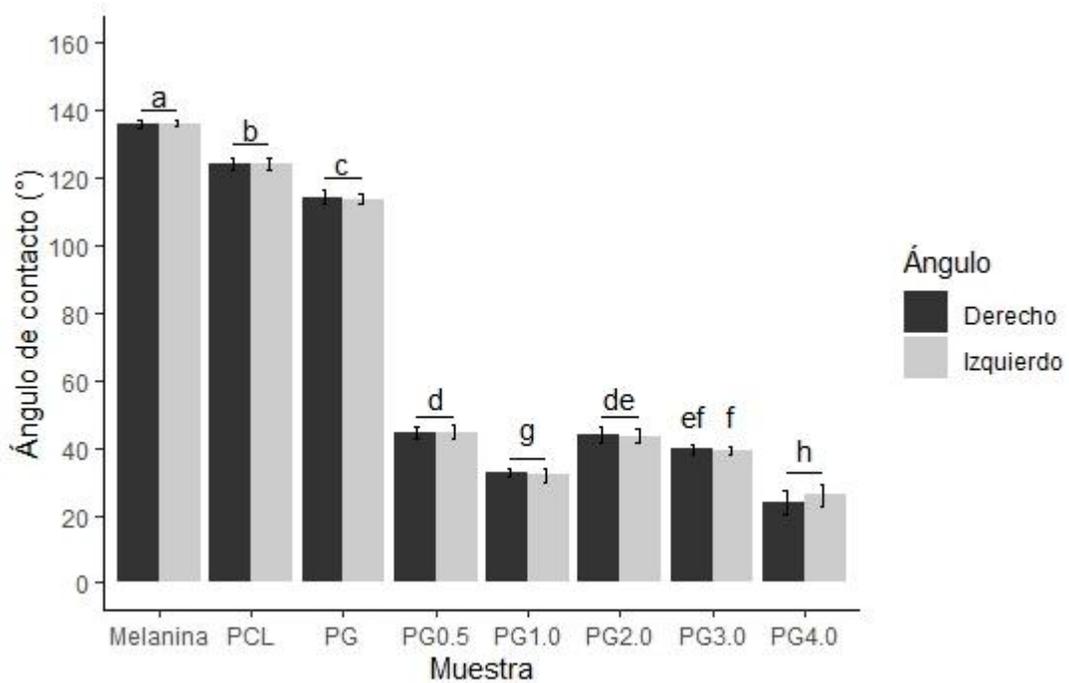


Figura 21. Análisis estadístico de los resultados obtenidos del ángulo de contacto de la melanina en estado sólido (A) y las fibras electrohiladas de PCL (B), PG (C), PG1.0 (D) y PG3.0 (E), $n = 5$.

En el interior, los átomos se encuentran en equilibrio, y las fuerzas de interacción atómicas entre los átomos adyacentes en la estructura cristalina se encuentran en balance. Situación que no es posible en la superficie debido que no existen interacciones interatómicas de los átomos que se encuentran en la superficie externa. Por lo tanto, se crea una diferencia de energía entre un átomo de la superficie y un átomo en el interior, el cual es llamado de energía libre. El decremento en el ángulo de contacto de cualquier material es atribuido al incremento de la energía libre superficial

y la rugosidad del material. Las fibras PCL y PG exhibieron una mayor hidrofobicidad en comparación con las fibras adicionadas con melanina. Esta disparidad puede atribuirse a la conductividad y cargas superficiales de melanina presentes en las nanofibras [39]. La presencia de grupos funcionales OH y compuestos catecólicos en la melanina permiten la interacción con las moléculas de agua, facilitando la transición de un comportamiento altamente hidrofóbico a hidrofílico[42].

4.1.4.1 Caracterización colorimétrica de las fibras electrohiladas

La escala de color CIELAB ($L^*a^*b^*$) se basa en la teoría de colores opuestos, donde a^* es positivo en la dirección roja y negativo en la dirección verde, y b^* es positivo en la dirección amarilla y negativo en la dirección azul. Por otro lado, el valor L^* se refiere a la luminosidad que varía dentro de un rango de 0 (negro) a 100 (blanco). El iluminante D65 es un iluminante colorimétrico que representa la luz del día correlacionada con una temperatura de color de 6504 K. Finalmente, el observador de 10° corresponde al campo de visión en un ángulo de este valor en la retina [124]. A medida que aumenta la concentración de melanina en las fibras electrohiladas hechas de policaprolactona y gelatina, hay una disminución en el valor L^* , lo que sirve como un indicador de la presencia de melanina en la fibra y proporciona una representación clara del color de la fibra. La Figura 22 ilustra los valores de L^* de las fibras sintetizadas, medidos bajo dos configuraciones geométricas distintas, $45^\circ/0^\circ$ y $d/8^\circ$. Los valores de L^* proporcionan información sobre cómo la incorporación de melanina afecta la luminosidad de las fibras electrohiladas. La geometría $45^\circ/0^\circ$ se utiliza para evaluar el color en condiciones que simulan la percepción humana en ángulos específicos, mientras que la geometría $d/8^\circ$ permite una evaluación más difusa del color, reduciendo el efecto de la dirección de la luz. Al analizar los cambios en L^* bajo estas dos configuraciones, se puede determinar cómo la melanina influye en la percepción visual de las fibras en diferentes condiciones de iluminación, lo que es esencial para aplicaciones en empaques alimenticios donde la apariencia visual es importante. Dado que el color se utiliza frecuentemente como un criterio de calidad en la fabricación de materiales, una medición precisa del color puede ayudar a lograr fibras repetibles, lo que hace posible evaluar los cambios de coloración en las mismas. La determinación de mediciones colorimétricas no solo permite una mejora estética en la apariencia del producto final, sino que también permite detectar cualquier cambio que pueda surgir durante el proceso de producción [124].

Existe una tendencia de respuesta lineal de la escala de color L^* (y) a medida que aumenta la adición de melanina (x) en las fibras electrohiladas (Figura 22). La

pendiente negativa en la ecuación de la línea indica una disminución en la escala L^* a medida que aumenta la cantidad de melanina añadida, representada por la ecuación $y = -4.185x + 91.596$ con un coeficiente de determinación $r^2 = 0.9354$ para la geometría de $45^\circ/0^\circ$ y $y = -4.2573x + 92.983$ con $r^2 = 0.959$ para la geometría $d/8^\circ$.

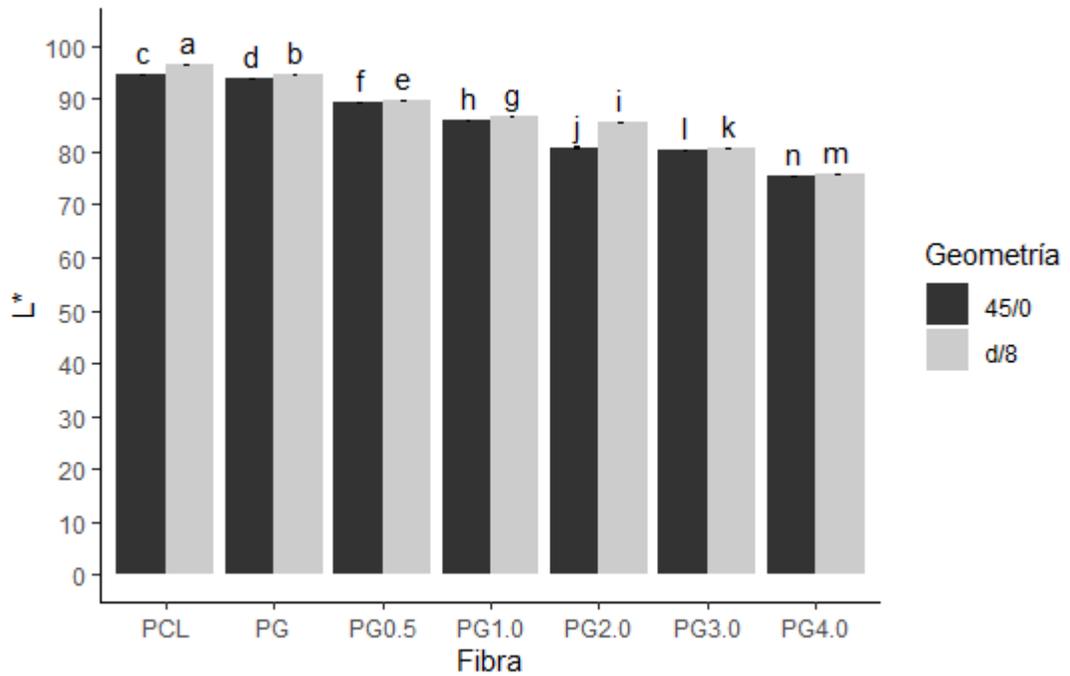


Figura 22. Mediciones colorimétricas de las fibras electrohiladas en la escala de color $L^*a^*b^*$ utilizando las geometrías $45^\circ/0^\circ$ y $d/8^\circ$ ($n = 10$)

Para las escalas a^* y b^* (Figura 23) en la geometría $45/0$, los valores de a^* y b^* muestran una tendencia clara de incremento con el aumento de la concentración de las muestras. Los valores de a^* aumentan desde valores negativos para las fibras de PCL y PG, pasando por valores positivos en concentraciones más bajas como PG0.5, hasta alcanzar valores significativamente positivos en concentraciones más altas como PG4.0. Esto indica que las muestras con mayor concentración tienden a ser más rojas (a^* positivo). De manera similar, los valores de b^* muestran un incremento desde los valores más bajos para las fibras de PCL y PG, pasando por incrementos graduales con cada aumento de concentración, hasta alcanzar los valores más altos en las muestras de PG3.0, lo que sugiere que las muestras con mayor concentración tienden a ser más amarillas (b^* positivo).

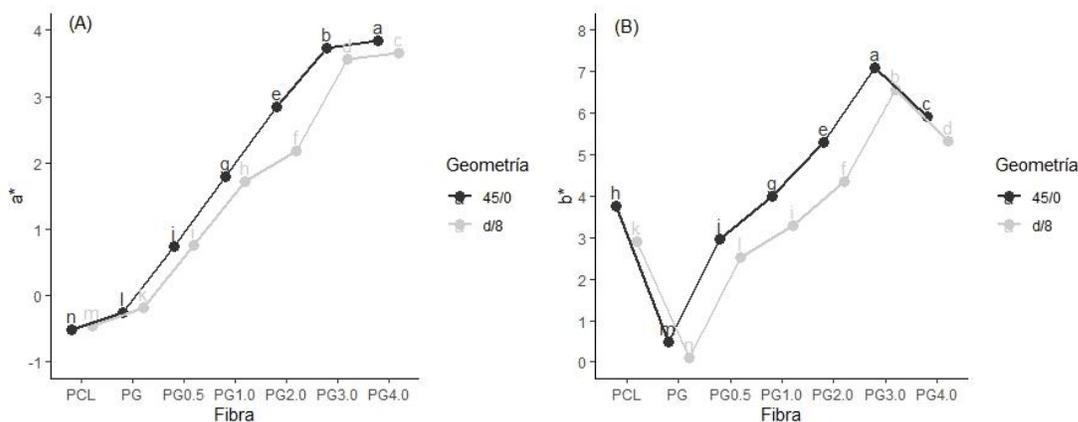


Figura 23. Análisis de color de las fibras electrohiladas en la escala $L^*a^*b^*$, mostrando únicamente los resultados de a^* y b^* en las geometrías 45/0 y d/8, ($n = 10$).

En la geometría d/8, se observa una tendencia similar en los valores de a^* y b^* , con incrementos claros a medida que aumenta la concentración de las muestras. Los valores de a^* también aumentan desde valores negativos en las fibras de PCL y PG, hasta valores significativamente positivos en las concentraciones más altas como PG4.0. Los valores de b^* también aumentan con la concentración, comenzando desde valores muy bajos para las fibras de PG y aumentando gradualmente en cada nivel de concentración, alcanzando los valores más altos en las muestras de PG3.0. Cabe destacar que los valores de a^* y b^* tienden a ser ligeramente más altos en la geometría d/8 en comparación con 45/0 para concentraciones similares, sugiriendo que d/8 es más sensible a los cambios de color debido a una mayor integración de la luz reflejada desde diferentes ángulos.

4.1.5 Propiedades mecánicas de las fibras

La cristalinidad y la fase amorfa de los materiales poliméricos están directamente relacionadas con sus propiedades mecánicas (Figura 24). Un material mayormente amorfo es más flexible que un polímero del mismo tipo con mayor cristalinidad.

La resistencia a la tracción de la policaprolactona disminuye con la incorporación de gelatina (PG) y la presencia de melanina en las formulaciones (PG1.0 a PG4.0).



Figura 24. Evaluación de las propiedades mecánicas de las fibras electrohiladas utilizando la máquina universal de ensayos.

Este comportamiento mecánico es coherente con los resultados de los análisis DSC y FTIR, que demostraron una fuerte interacción entre los materiales. Esta interacción reduce la fase cristalina en la policaprolactona y la gelatina, haciendo que el material sea mayormente amorfo y, por lo tanto, mucho más flexible. Se obtuvo una resistencia a la tensión de 3.60 ± 1.04 MPa, 2.42 ± 0.40 MPa, 1.32 ± 0.09 MPa, 1.90 ± 0.97 MPa, 0.72 ± 0.35 MPa y 2.04 ± 0.41 MPa para las fibras de PCL, PG, PG1.0, PG2.0 PG3.0 y PG4.0 respectivamente (Figura 25). No se analizó la fibra PG0.5 en las pruebas mecánicas debido a la delgadez de la fibra. Por otro lado, la resistencia a la tensión refiere a la capacidad del material para soportar fuerzas de tracción antes de romperse. La estructura y la morfología de las fibras electrohiladas, como el diámetro de las fibras y la presencia de defectos o irregularidades, afectan significativamente sus propiedades mecánicas. Las fibras más uniformes tienden a mostrar una mayor resistencia a la tracción debido a una distribución más homogénea de las tensiones [125]. La fase cristalina del material desempeña un papel crucial. La policaprolactona electrohilada con una alta cristalinidad exhibe una mayor resistencia a la tensión. Sin embargo, si el proceso de electrohilado induce una mayor fase amorfa, como lo es el caso al adicionar gelatina, el material se vuelve más flexible, pero con menor resistencia a la tracción.

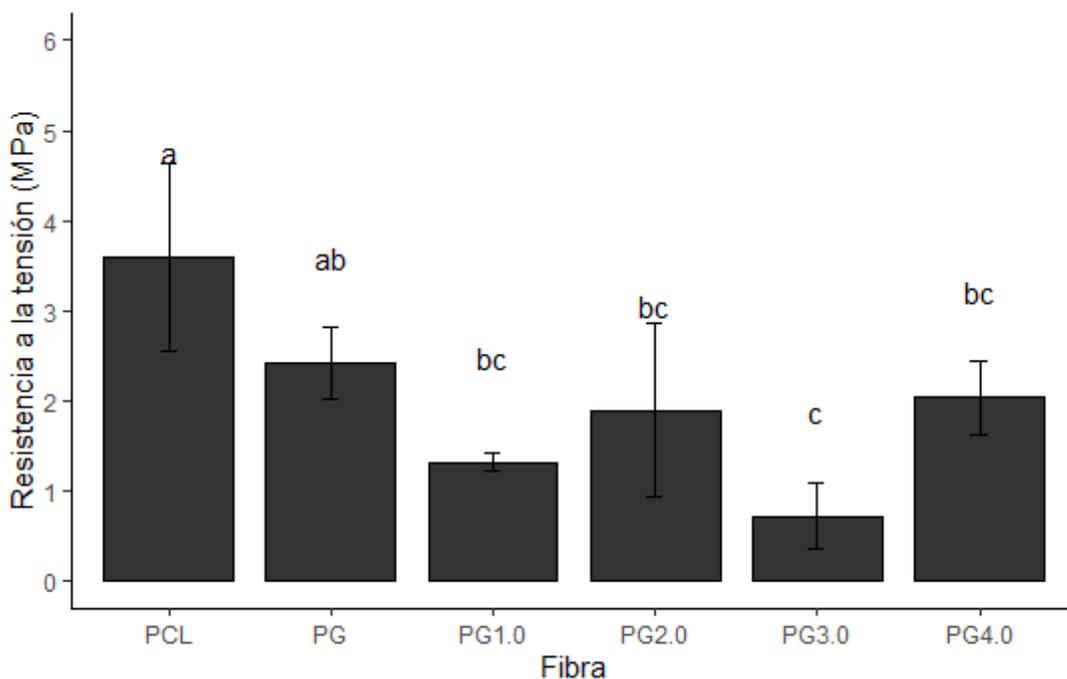


Figura 25. Resistencia a la tensión de fibras electrohiladas, $n = 5$.

Por otro lado, el módulo de Young se define como la relación $E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{F/A}{L/l}$ donde σ es la resistencia a la tensión (definida como la fuerza aplicada por unidad de área), ε es la deformación (definida como el desplazamiento por unidad de longitud), F es la fuerza aplicada a lo largo, A es el área de la sección transversal de la muestra, L es el desplazamiento total, y l es la longitud de prueba que inicialmente estaba entre las dos mordazas del dispositivo. Esta relación define como una muestra del material se deforma en respuesta a una fuerza que se aplica a lo largo. En la modelización matemática de fenómenos de elasticidad, esto se conoce como elasticidad lineal. Dado que E se define como la relación entre la resistencia a la tensión y la deformación, el módulo de Young se puede encontrar tomando la pendiente de la curva esfuerzo-deformación (Figura 26A-F). Esto solo es aplicable cuando el gráfico es lineal, ya que el módulo de Young no es válido fuera de la región elástica lineal. El punto donde el gráfico deja de ser lineal se llama límite elástico. En este punto, el material se deforma lo suficiente como para que se introduzcan efectos no lineales y no pueda volver a su longitud original [126]. La Figura 26G muestra el módulo de Young de las fibras electrohiladas que exhibió valores de 4.32 ± 0.66 MPa, 3.95 ± 2.34 MPa, 4.92 ± 0.50 MPa, 1.68 ± 0.69 MPa, 2.53 ± 1.81 MPa y 1.55 ± 0.29 MPa para las fibras de PCL, PG, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0 respectivamente

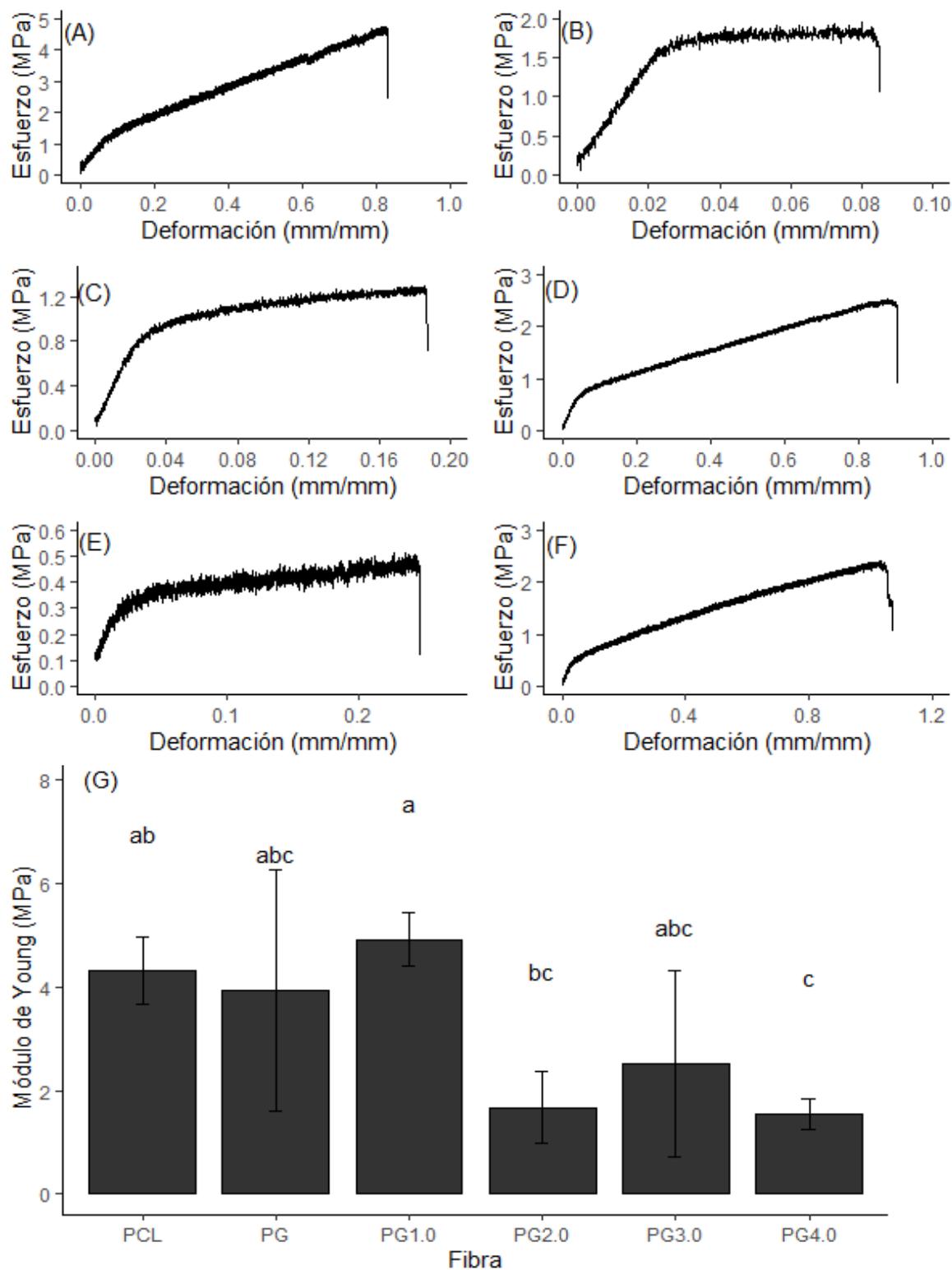


Figura 26. Relación deformación-esfuerzo de las fibras electrohiladas de PCL (A), PG (B), PG1.0 (C), PG2.0 (D), PG3.0 (E), PG4.0 (F) y su respectivo módulo de Young (G), $n = 5$.

Las fibras de policaprolactona (PCL) tienen un módulo de Young relativamente alto, lo cual es esperado debido a las propiedades mecánicas inherentes de la PCL, que es un polímero resistente y flexible. La adición de gelatina a la PCL resulta en una ligera disminución del módulo de Young. La gelatina, siendo un biopolímero menos rígido en comparación con la PCL, puede contribuir a esta reducción de la rigidez. La alta desviación estándar (2.34 MPa) indica una variabilidad significativa en la distribución de gelatina en las fibras o en la homogeneidad de las muestras. Curiosamente, la adición del 1% (p/p) de melanina a la mezcla de PCL y gelatina aumenta el módulo de Young a 4.92 MPa. Esto sugiere que, en bajas concentraciones, la melanina puede mejorar las propiedades mecánicas de las fibras, posiblemente actuando como un agente de refuerzo que mejora la rigidez. Sin embargo, una mayor concentración de melanina no necesariamente mejora las propiedades mecánicas, tal como puede ser observado con los resultados de las fibras PG2.0 a PG4.0. Esto podría ser causado por un exceso de melanina que provoca aglomeraciones y defectos estructurales dentro de las fibras.

4.1.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) proporciona información cuantitativa sobre los cambios entálpicos en el polímero.

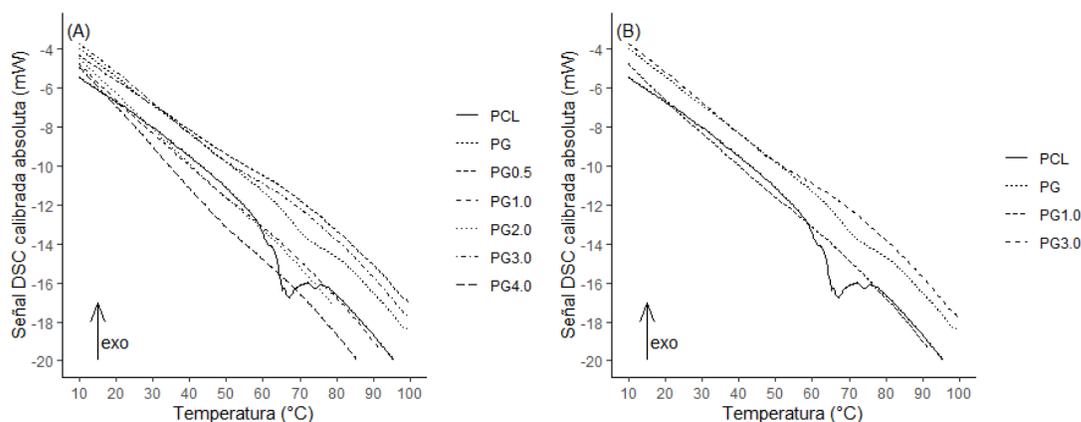


Figura 27. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de las fibras electrohiladas PCL y PG (0.00-4.0) (A) y DSC de las fibras de PCL, PG, PG1.0 y PG3.0 (B).

La policaprolactona (PCL) es un poliéster alifático semicristalino, altamente dúctil, cuyas propiedades finales dependen en gran medida del historial térmico experimentado. Las características moleculares del material pueden influir en su proceso de cristalización. Este proceso es crucial en los polímeros semicristalinos, ya

que variaciones en la nucleación de esferulitas, el crecimiento, la velocidad de cristalización o el espesor lamelar pueden provocar cambios significativos en las propiedades térmicas y mecánicas finales. En el termograma de DSC (Figura 27), la temperatura de fusión (T_m) de la policaprolactona como membrana se observa como una endoterma alrededor de 68 °C, consistente con la literatura [127]. En el termograma correspondiente a la mezcla de policaprolactona y gelatina (PG), se observó una transición de fusión térmica de menor intensidad en comparación con la T_m de la policaprolactona, lo cual podría indicar una reducción en los cristales, o bien, presencia de cristales más pequeños o imperfectos en el material debido a la intervención de la gelatina en el proceso de cristalización de la policaprolactona a través de uno de los siguientes mecanismos: a) la gelatina disminuye el tamaño de los cristales de la PCL, afectando el mecanismo de cristalización; b) la gelatina afecta los núcleos críticos para la cristalización de la PCL; o c) mediante interacciones físicas que causan desorden en la PCL, como se evidencia en el análisis de grupos funcionales vía FTIR. En el análisis DSC realizado, no se observa ninguna transición más allá de 100 °C, sin embargo, la temperatura de fusión reportada para la gelatina pura está alrededor de 110 °C [128]. La transición correspondiente a la fusión de la gelatina en la fibra PG se observa alrededor de 70 °C, posiblemente debido a las fuertes interacciones policaprolactona y gelatina y al solapamiento con la T_m de la policaprolactona. Al incorporar diferentes concentraciones de melanina (Figura 27B), las interacciones aumentan, lo que puede inducir desorden o impedir un arreglo ordenado tanto en la policaprolactona como en la gelatina. En consecuencia, el termograma de los materiales no muestra ninguna transición correspondiente a la T_m , lo que sugiere que el material es mayormente amorfo.

4.1.7 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de la melanina pura no mostró diferencias significativas relevantes entre las concentraciones de 0.5% hasta 4.0% (Figura 28A), con valores de actividad de captación de radicales (RSA, %) de 99.1 ± 0.19 , 99.1 ± 0.79 , 99.1 ± 0.62 , 99.0 ± 0.39 y 98.7 ± 0.46 para ABTS y 93.5 ± 0.30 , 95.4 ± 2.78 , 91.6 ± 2.37 , 93.4 ± 0.54 y 97.1 ± 2.40 para DPPH en las concentraciones 0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0% y 4.0% de melanina respectivamente. Cuando la melanina se encuentra presente en las fibras de policaprolactona y gelatina, su actividad antioxidante es equiparable a la observada en la melanina pura (Figura 28B). Este aumento es proporcional a la cantidad de melanina presente en las fibras. Las fibras de PCL muestran una actividad antioxidante

más baja en comparación con las muestras que contienen melanina, con valores de actividad de 20.01 ± 0.67 para ABTS y 57.37 ± 0.62 para DPPH, respectivamente, mientras que las fibras adicionadas con gelatina y melanina mostraron actividades de 86.84 ± 0.22 , 79.69 ± 1.39 , 87.20 ± 1.82 , 80.05 ± 1.98 , 89.78 ± 0.64 y 82.93 ± 2.07 para ABTS y 84.00 ± 0.34 , 80.71 ± 1.04 , 84.93 ± 0.52 , 78.33 ± 2.66 , 92.11 ± 0.84 y 76.90 ± 2.43 para DPPH en las fibras PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0 respectivamente. Este análisis proporciona una clara comprensión de cómo la presencia y cantidad de melanina afectan la actividad antioxidante en las diferentes muestras evaluadas. Aun cuando las fibras muestran un comportamiento similar en DPPH y ABTS, una mayor adición de melanina genera un mejor resultado antioxidante, debido a que la melanina posee una capacidad antioxidante asociada con un comportamiento eficiente como donador de átomos de hidrógeno, lo que a su vez elimina los radicales libres y otras sustancias generadas por la exposición a la radiación [35, 36].

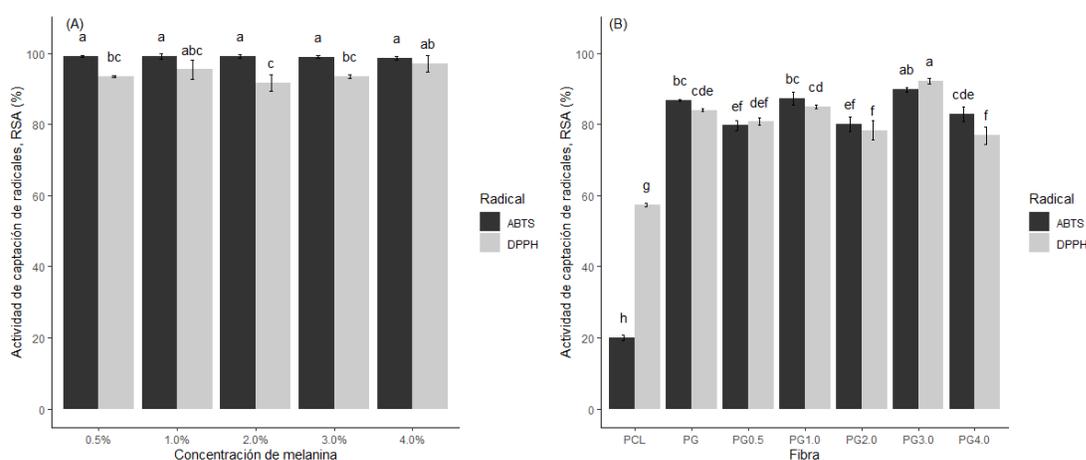


Figura 28. Resultados de la actividad de captación de radicales (RSA) conducidos en melanina pura (A) y las fibras PCL, PG, PG0.5, PG1.0, PG2.0, PG3.0 y PG4.0 (B) para ABTS y DPPH, $n = 3$.

4.1.8 Actividad antifúngica de la melanina

La Figura 29 ilustra las fresas comerciales sanas y su posterior cambio posterior a 7 días sin refrigeración, el tejido enfermo fue sustraído para la realización de las pruebas antifúngicas.

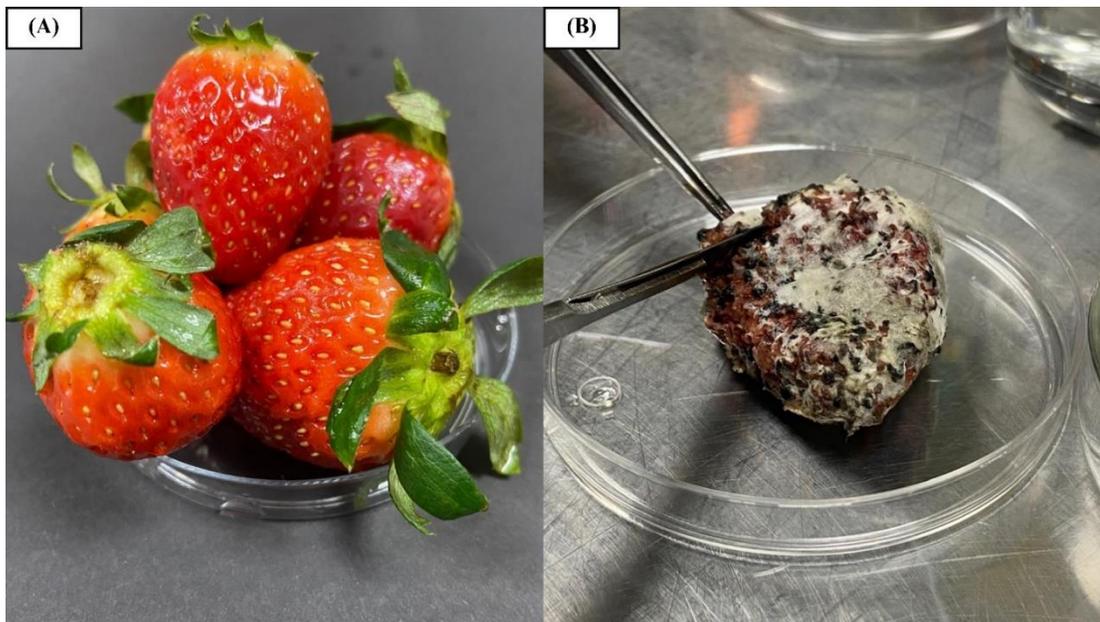


Figura 29. Fresas comerciales sanas (A) y fresa comercial posterior a 7 días sin refrigeración (B).

Los postulados de Koch son un conjunto de criterios para establecer si un organismo es el agente causante de una enfermedad específica [129]. Los cuatro postulados se cumplieron con éxito (Figura 30).

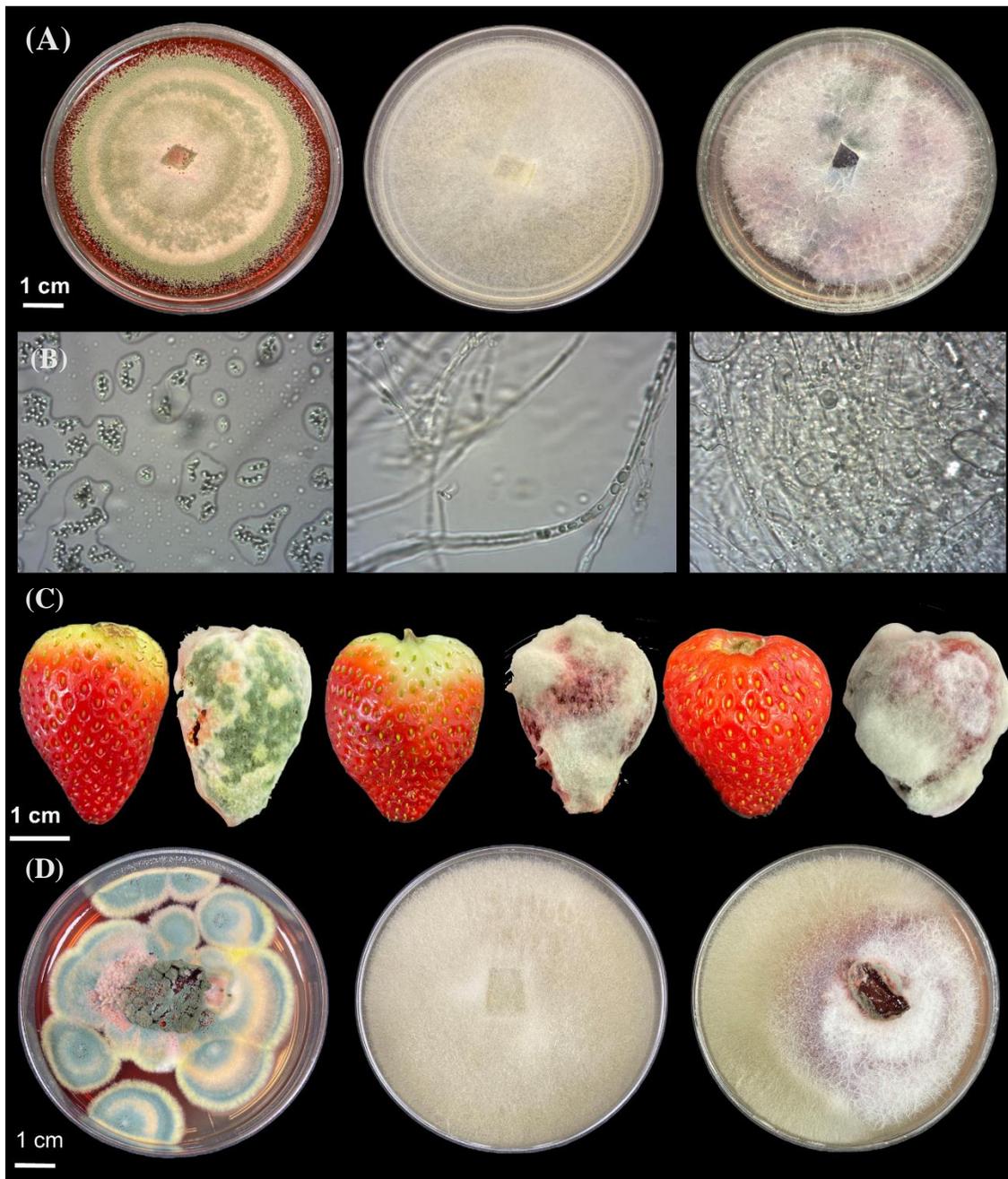


Figura 30. Cultivos axénicos generados a partir del tejido superficial obtenido de fresas (A), su identificación morfológica a través de un microscopio óptico en objetivo 100 x (B), la aplicación de los postulados de Koch mediante la infección in vivo en fresas sanas (C), y el aislamiento del agente patógeno tras la infección (D).

El microorganismo fue aislado y cultivado en un medio de cultivo después de ser encontrado en fresas enfermas y estar ausente en frutos sanos. Posteriormente, se demostró que el microorganismo es la causa de la enfermedad al infectar un fruto sano,

el cual resultó contener el mismo microorganismo que había sido aislado del primer fruto enfermo.

La concentración inhibitoria mínima (MIC, por sus siglas en inglés) para los aislados fúngicos fue confirmada a través de los resultados obtenidos mediante el ensayo de difusión en disco, el cual mostró nula actividad antifúngica en el control negativo representado por el disco de papel de filtro, así como en el disco embebido con solución de NaOH 0.1 M sin melanina.

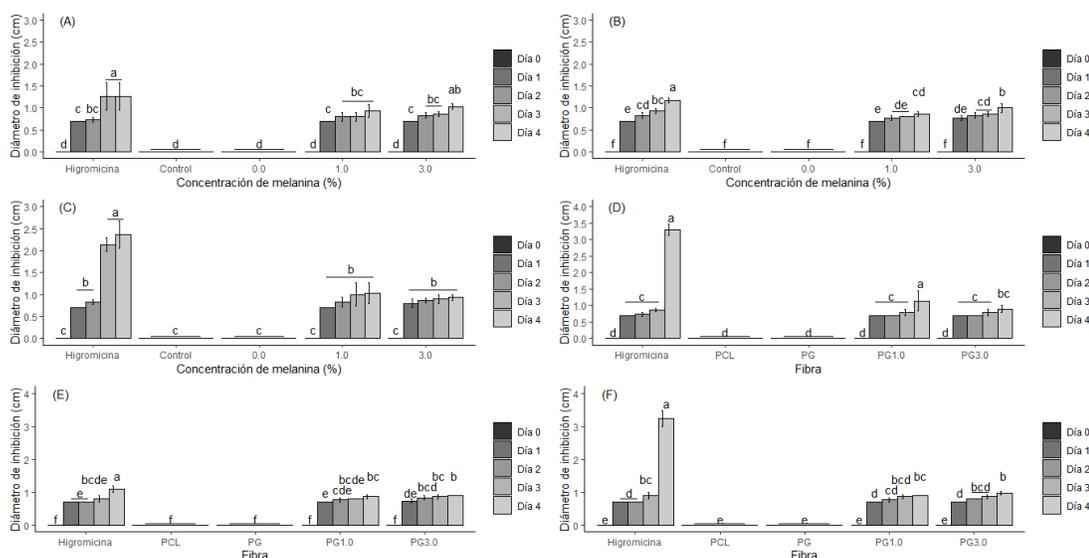


Figura 31. Actividad antifúngica de la melanina disuelta en NaOH 0.1 M mostrada como diámetro de inhibición para los hongos aislados 1.1 (A), 1.3 (B) y 1.4 (C) y las fibras de higromicina, PCL, PG, PG1.0 y PG3.0 para los hongos aislados 1.1 (D), 1.3 (E) y 1.4 (F), n = 3.

Se observó inhibición fúngica (Figura 31) para los tres aislados a partir de una concentración del 1.0% (p/p) de melanina. Además, se observó que la capacidad inhibitoria aumentó conforme incrementa la concentración de melanina. A una mayor concentración de melanina, existe un efecto inhibitorio en un menor tiempo representado en días. Los grupos catecólicos son componentes clave funcionales de los elementos estructurales de la melanina que ejercen efectos antimicrobianos. La oxidación de grupos catecólicos implica la transferencia de electrones que convierten el O_2 en superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Los radicales libres de oxígeno y cualquier otra molécula que contenga oxígeno en la cual un átomo de oxígeno exhiba una reactividad más alta que el oxígeno molecular (O_2) se consideran especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). La liberación de H_2O_2 a partir de la oxidación de catecoles es responsable de la actividad antimicrobiana. Las ROS pueden degradar compuestos orgánicos y así funcionar como inhibidores del

crecimiento bacteriano. La alta reactividad permite que las ROS extraigan electrones de compuestos orgánicos, lo que conduce a la degradación de compuestos bacterianos al dañar su membrana o pared celular [37, 106]. Los radicales libres pueden desempeñar un papel disruptivo, ya que son responsables del daño oxidativo de biomoléculas, lo que conduce a la degradación de proteínas, lípidos e incluso ácidos nucleicos [130].

La Figura 32 muestra los diámetros de inhibición fúngica posterior a un periodo de incubación de 4 días, donde las placas A, C y E fueron probadas con las fibras electrohiladas de higromicina (100 mg L^{-1}) (1), la fibra de policaprolactona (PCL) (2), la fibra de policaprolactona y gelatina (PG) (3) y las fibras adicionadas con melanina PG1.0 (4) y PG3.0 (5), así como la melanina disuelta en hidróxido de sodio 0.1 M (B, D y F) donde se utilizaron discos de papel filtro como control (2), así como embebidos con $100 \mu\text{L}$ de higromicina (100 mg L^{-1}) (1) como control positivo, NaOH 0.1 M como control negativo (3) y melanina en concentraciones de 1% (p/p) (4) y 3% (p/p) (5) respectivamente.

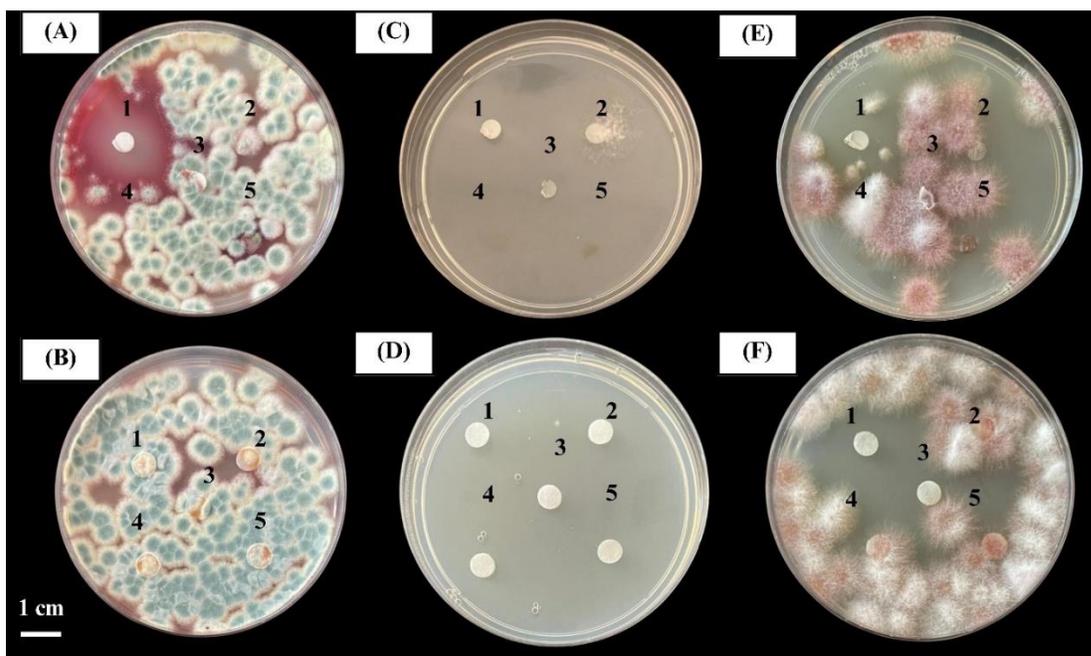


Figura 32. Diámetros de inhibición fúngica reportados al cuarto día, en placa PDA para las fibras electrohiladas (A, C y D) y la melanina disuelta en NaOH 0.1 M (B, D y F).

5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

Se desarrolló un polímero de policaprolactona/gelatina con melanina mediante electrohilado, mostrando una actividad antioxidante y antifúngica significativa. La técnica de electrohilado y la integración de melanina destacan la novedad del trabajo, mejorando las propiedades bioactivas del material. Las propiedades antioxidantes y antifúngicas se evaluaron mediante métodos DPPH, ABTS y ensayos de concentración mínima inhibitoria (MIC), respectivamente. La melanina alteró las propiedades físicas y químicas de las fibras, incrementando la hidrofiliidad y afectando las propiedades mecánicas. Este estudio valida la eficacia del polímero para inhibir el deterioro fúngico y la oxidación de alimentos, confirmando su potencial en aplicaciones de empaque de alimentos.

5.2 Recomendaciones

Se sugiere considerar las siguientes actividades como perspectivas del proyecto.

Estudios relevantes a largo plazo incluyen la evaluación *in vivo* de las fresas con el material desarrollado y el diseño del empaque, así como la evaluación de la biodegradabilidad de las fibras en distintos ambientes, como suelos y aguas residuales, esto permitirá una mejor comprensión sobre su impacto ambiental y confirmar su sostenibilidad. La optimización de la concentración de melanina que maximice las propiedades antioxidantes y antimicrobianas sin comprometer las propiedades

mecánicas y la procesabilidad de las fibras. Ampliación a otros alimentos, no solo fresas, para evaluar su eficacia en la prolongación de la vida útil y la preservación de calidad en una variedad más amplia de productos perecederos. Estudios clínicos y toxicológicos. Aunque la melanina ha demostrado ser eficaz como agente antioxidante y antifúngico, es crucial realizar estudios clínicos y toxicológicos para asegurar su seguridad en contacto con alimentos, garantizando que no existan riesgos para la salud de los consumidores. Explorar otras propiedades físicas y químicas de las fibras, como su resistencia térmica y su interacción con diferentes condiciones de almacenamiento, para proporcionar un perfil más completo de sus capacidades y limitaciones. Y, por último, avanzar hacia el desarrollo de prototipos de empaque basados en las fibras de policaprolactona/gelatina con melanina para evaluar su rendimiento y funcionalidad en situaciones prácticas, así como el estudio a profundidad la interacción PCL-gelatina para explicar algunos de los resultados.

Referencias

- [1] D. Yu, Z. Yu, W. Zhao, J.M. Regenstein, W. Xia, Advances in the application of chitosan as a sustainable bioactive material in food preservation, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 62(14), 2022, <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1869920>.
- [2] S. Roy and J. W. Rhim, "New insight into melanin for food packaging and biotechnology applications," *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 62, no. 17, pp. 4629–4655, 2022, <http://doi.org/10.1080/10408398.2021.1878097>.
- [3] X. Li, Y. Peng, Y. Deng, F. Ye, C. Zhang, X. Hu, Y. Liu, and D. Zhang, "Recycling and reutilizing polymer waste via electrospun micro/nanofibers: A review," *Nanomaterials*, vol. 12, no. 10, p. 1663, 2022, <http://doi.org/10.3390/nano12101663>.
- [4] F. Ortega, F. Versino, O.V. López, M.A. García, "Biobased composites from agro-industrial wastes and by-products," *Emergent Mater*, vol. 5, pp. 873–921, 2022, <http://doi.org/10.1007/s42247-021-00319-x>.
- [5] J. Villasante, E. Pérez-Carrillo, E. Heredia-Olea, I. Metón, and M.P. Almajano, "In Vitro Antioxidant Activity Optimization of Nut Shell (*Carya illinoensis*) by Extrusion Using Response Surface Methods," *Biomolecules*, vol. 9, no. 12, p. 883, 2019, <http://doi.org/10.3390/biom9120883>.
- [6] "Publicaciones SIAP." Accessed: Jun. 17, 2024. Available: https://nube.siap.gob.mx/panorama_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021
- [7] D.C. Martínez-Casillas, I. Mascorro-Gutiérrez, C.E. Arreola-Ramos, H.I. Villafán-Vidales, C.A. Arancibia-Bulnes, V.H. Ramos-Sánchez, A.K. Cuentas-Gallegos, "A sustainable approach to produce activated carbons from pecan nutshell waste for environmentally friendly supercapacitors," *Carbon*, vol. 148, pp. 403-412, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2019.04.017>.
- [8] R.A. Flores-Estrada, N. Gámez-Meza, L.A. Medina-Juárez, L.G. Castellón-Campaña, C.C. Molina-Domínguez, L.A. Rascón-Valenzuela, A. García-Galaz. Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Wastes from Pecan Nut [*Carya illinoensis* (Wagenh) K. Koch]. *Waste Biomass Valor*, 2020, 11:3419–3432. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00681-2>
- [9] F. Hemmati, A. Bahrami, A. Faridi Esfanjani, H. Hosseini, D. J. McClements, L. Williams. Electrospun antimicrobial materials: Advanced packaging

- materials for food applications. *Trends Food Sci Technol*, 111, 520-533, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.014>
- [10] J. B. Moreira, M. G. de Moraes, E. G. de Moraes, B. S. Vaz, J. A. V. Costa (2018). Chapter 14 - Electrospun Polymeric Nanofibers in Food Packaging. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Handbook of Food Bioengineering: Impact of Nanoscience in the Food Industry* (pp. 387-417). Academic Press. ISBN 9780128114414. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811441-4.00014-5>.
- [11] M. Gagaoua, V.Z. Pinto, G. Göksen, L. Alessandroni, M. Lamri, A.L. Dib, F. Boukid. Electrospinning as a Promising Process to Preserve the Quality and Safety of Meat and Meat Products. *Coatings*, 2022, 12(5), 644. <https://doi.org/10.3390/coatings12050644>.
- [12] K. Ohkawa, D. Cha, H. Kim, A. Nishida, H. Yamamoto. Electrospinning of chitosan. *Macromol Rapid Commun*, vol. 25, no. 18, pp. 1600–1605, 2004. <https://doi.org/10.1002/marc.200400253>.
- [13] M. Arkoun, F. Daigle, R. A. Holley, M. C. Heuzey, A. Aji. Chitosan-based nanofibers as bioactive meat packaging materials. *Packaging Technol Sci*, vol. 31, no. 4, pp. 185–195, 2018. <https://doi.org/10.1002/pts.2366>.
- [14] M.A. Moreno, M.E. Orqueda, L.G. Gómez-Mascaraque, M.I. Isla, A. López-Rubio. Crosslinked electrospun zein-based food packaging coatings containing bioactive chito fruit extracts. *Food Hydrocolloids*, vol. 95, pp. 496-505, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.001>.
- [15] Z. Aytac, S. Ipek, E. Durgun, T. Tekinay, T. Uyar. Antibacterial electrospun zein nanofibrous web encapsulating thymol/cyclodextrin-inclusion complex for food packaging. *Food Chem*, vol. 233, pp. 117-124, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.095>.
- [16] F. Hosseini, M.A. Miri, M. Najafi, S. Soleimanifard, M. Aran. Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique. *J Food Sci*, vol. 86, pp. 4070-4086, 2021. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15876>.
- [17] D. Yu, Y.-Y. Feng, J.-X. Xu, B.-H. Kong, Q. Liu, H. Wang. Fabrication, characterization, and antibacterial properties of citric acid crosslinked PVA electrospun microfibre mats for active food packaging. *Packaging Technol Sci*, vol. 34, no. 6, pp. 361–370, 2021. <https://doi.org/10.1002/pts.2566>.
- [18] E. Kowsalya, K. MosaChristas, P. Balashanmugam, A. Tamil Selvi, I. Jaquiline Chinna Rani. Biocompatible silver nanoparticles/poly(vinyl alcohol) electrospun nanofibers for potential antimicrobial food packaging applications. *Food Packag Shelf Life*, vol. 21, 100379, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100379>.
- [19] L. Zhao, G. Duan, G. Zhang, H. Yang, S. He, S. Jiang. Electrospun Functional Materials toward Food Packaging Applications: A Review. *Nanomaterials*, vol. 10, no. 1, 150, 2020. <https://doi.org/10.3390/nano10010150>.
- [20] D.A. Schmatz, J.A.V. Costa, M.G. de Moraes. A novel nanocomposite for food packaging developed by electrospinning and electrospraying. *Food Packag Shelf Life*, vol. 20, 100314, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100314>.

- [21] B. Feng, H. Tu, H. Yuan, H. Peng, Y. Zhang. Acetic-Acid-Mediated Miscibility toward Electrospinning Homogeneous Composite Nanofibers of GT/PCL. *Biomacromolecules*, vol. 13, no. 12, pp. 3917–3925, 2012. <https://doi.org/10.1021/bm3009389>.
- [22] A. Espíndola-González, A.L. Martínez-Hernández, F. Fernández-Escobar, V.M. Castaño, W. Brostow, T. Datashvili, C. Velasco-Santos. Natural-Synthetic Hybrid Polymers Developed via Electrospinning: The Effect of PET in Chitosan/Starch System. *Int J Mol Sci*, vol. 12, no. 3, pp. 1908-1920, 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms12031908>.
- [23] U.S. Sajeev, K. Anoop Anand, D. Menon, S. Nair. Control of nanostructures in PVA, PVA/chitosan blends and PCL through electrospinning. *Bull Mater Sci*, vol. 31, no. 3, pp. 343-351, 2008. <https://doi.org/10.1007/s12034-008-0054-9>.
- [24] K.J. Figueroa-Lopez, J.L. Castro-Mayorga, M.M. Andrade-Mahecha, L. Cabedo, J.M. Lagaron. Antibacterial and Barrier Properties of Gelatin Coated by Electrospun Polycaprolactone Ultrathin Fibers Containing Black Pepper Oleoresin of Interest in Active Food Biopackaging Applications. *Nanomaterials*, vol. 8, p. 199, 2018. <https://doi.org/10.3390/nano8040199>.
- [25] Yu Du, Y. Zhang, J. Pang. Electrospun konjac glucomannan-gelatin/polycaprolactone bilayer nanofibrous films with improved hydrophobicity and mechanical properties for food packaging. *Food Bioscience*, vol. 61, p. 104544, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104544>.
- [26] F. Shanbehzadeh, S.S. Saei-Dehkordi, D. Semnani, "Fabrication and characterization of electrospun nanofibrous mats of polycaprolactone/gelatin containing ZnO nanoparticles and cumin essential oil and their anti-staphylococcal potency in white cheese," *Food Biosci.*, vol. 49, p. 101904, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101904>.
- [27] Y. Liu, X. Liang, S. Wang, W. Qin, Q. Zhang. Electrospun antimicrobial polylactic acid/tea polyphenol nanofibers for food-packaging applications. *Polymers*, vol. 10, no. 5, 561, 2018. <https://doi.org/10.3390/polym10050561>.
- [28] J. B. Moreira, L.-T. Lim, E. da R. Zavareze, A. R. G. Dias, J. A. V. Costa, M. G. de Moraes. Antioxidant ultrafine fibers developed with microalga compounds using a free surface electrospinning. *Food Hydrocolloids*, vol. 93, pp. 131-136, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.015>.
- [29] A. Aydogdu, E. Yildiz, Y. Aydogdu, G. Sumnu, S. Sahin, Z. Ayhan. Enhancing oxidative stability of walnuts by using gallic acid loaded lentil flour based electrospun nanofibers as active packaging material. *Food Hydrocolloids*, vol. 95, pp. 245-255, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.020>.
- [30] S. G. Kuntzler, A. C. A. de Almeida, J. A. V. Costa, M. G. de Moraes. Polyhydroxybutyrate and phenolic compounds microalgae electrospun nanofibers: A novel nanomaterial with antibacterial activity. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 113, pp. 1008-1014, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.002>.
- [31] S. C. Coelho, F. Rocha, B. N. Estevinho. Electrospinning of Microstructures Incorporated with Vitamin B9 for Food Application: Characteristics and

- Bioactivities. *Polymers*, vol. 14, no. 20, p. 4337, 2022. <https://doi.org/10.3390/polym14204337>.
- [32] M. Ferri, K. Papchenko, M. Degli Esposti, G. Tondi, M. G. De Angelis, D. Morselli, P. Fabbri. Fully Biobased Polyhydroxyalkanoate/Tannin Films as Multifunctional Materials for Smart Food Packaging Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 15, no. 23, pp. 28594–28605, Jun. 2023. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c04611>.
- [33] S. A. Siddiqui, S. Khan, M. Mehdizadeh, N. A. Bahmid, D. N. Adli, T. R. Walker, R. Perestrelo, J. S. Câmara. Phytochemicals and bioactive constituents in food packaging - A systematic review. *Heliyon*, vol. 9, iss. 11, e21196, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21196>.
- [34] A. M. Pisoschi, A. Pop, C. Cimpeanu, V. Turcuş, G. Predoi, F. Iordache. Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity - A critical view. *Eur J Med Chem*, vol. 157, pp. 1326-1345, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.076>.
- [35] P. Manini, V. Lino, P. Franchi, G. Gentile, T. Sibillano, C. Giannini, E. Picardi, A. Napolitano, L. Valgimigli, C. Chiappe, and M. d'Ischia, "A Robust Fungal Allomelanin Mimic: An Antioxidant and Potent π -Electron Donor with Free-Radical Properties that can be Tuned by Ionic Liquids," *Chempluschem*, vol. 84, no. 9, pp. 1331–1337, 2019. <https://doi.org/10.1002/cplu.201900195>.
- [36] H. Zhang, C. Huang, J. Zhang, C. Wang, T. Wang, S. Shi, Z. Gu, Y. Li, "Synthetic fungal melanin nanoparticles with excellent antioxidative property," *Giant*, vol. 12, pp. 100120, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.giant.2022.100120>.
- [37] T. R. Eliato, "Melanin pigments as antibacterial agents," *Doctoral Dissertations*, May 2022, Accessed: Apr. 15, 2024. [Online]. Available: <https://scholars.unh.edu/dissertation/2690>.
- [38] A. N. Tran-Ly, J. Ribera, F. W. M. R. Schwarze, M. Brunelli, G. Fortunato, "Fungal melanin-based electrospun membranes for heavy metal detoxification of water," *Sustainable Materials and Technologies*, vol. 23, p. e00146, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2019.e00146>.
- [39] M. Nune, S. Manchineella, T. Govindaraju, K. S. Narayan, "Melanin incorporated electroactive and antioxidant silk fibroin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 94, pp. 17-25, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.09.014>.
- [40] P. Srisuk, D. K. Bishi, F. V. Berti, C. J. R. Silva, I. K. Kwon, V. M. Correlo, R. L. Reis, "Eumelanin Nanoparticle-Incorporated Polyvinyl Alcohol Nanofibrous Composite as an Electroconductive Scaffold for Skeletal Muscle Tissue Engineering," *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 1, no. 6, pp. 1893-1905, 2018, <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00465>.
- [41] D. Kai, M. P. Prabhakaran, G. Jin, and S. Ramakrishna, "Biocompatibility evaluation of electrically conductive nanofibrous scaffolds for cardiac tissue engineering," *J Mater Chem B*, vol. 1, no. 17, pp. 2305–2314, 2013, <https://doi.org/10.1039/C3TB00151B>.
- [42] J. Avossa, G. Pota, G. Vitiello, A. Macagnano, A. Zanfardino, M. Di Napoli, A. Pezzella, G. D'Errico, M. Varcamonti, G. Luciani, Multifunctional mats by

- antimicrobial nanoparticles decoration for bioinspired smart wound dressing solutions, *Mater. Sci. Eng. C*, 123, 111954, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111954>.
- [43] Y. Liang, Y. Zhao, H. Sun, J. Dan, Y. Kang, Q. Zhang, Z. Su, Y. Ni, S. Shi, J. Wang, W. Zhang, Natural melanin nanoparticle-based photothermal film for edible antibacterial food packaging, *Food Chem.*, 401, 134117, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134117>.
- [44] J. D. Nosanchuk, A. Casadevall, Impact of Melanin on Microbial Virulence and Clinical Resistance to Antimicrobial Compounds, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 50(11), 3519-3528, 2006, <https://doi.org/10.1128/aac.00545-06>.
- [45] V. Salomi, A. A. Alfaris, P. Saranraj, M. S. Swetha, K. Gayathri, Extraction of fungal pigment melanin from *Aspergillus niger* and analysis of its antimicrobial activity, *Eur. Chem. Bull.*, 2023, 12 (Special Issue 11), 431-438, <https://doi.org/10.48047/ecb/2023.12.Si11.038>.
- [46] A. Zerrad, J. Anissi, J. Ghanam, K. Sendide, and M. El Hassouni, "Antioxidant and antimicrobial activities of melanin produced by a *Pseudomonas balearica* strain," *J Biotechnol Lett*, vol. 5, no. 1, pp. 87–94, 2014.
- [47] C.G. Kumar, P. Mongolla, S. Pombala, A. Kamle, J. Joseph. Physicochemical characterization and antioxidant activity of melanin from a novel strain of *Aspergillus bridgeri* ICTF-201. *Lett. Appl. Microbiol.*, 53(3), 350-358, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03116.x>.
- [48] X. Liu, R. Hou, D. Wang, M. Mai, X. Wu, M. Zheng, J. Fu. Comprehensive utilization of edible mushroom *Auricularia auricula* waste residue—Extraction, physicochemical properties of melanin and its antioxidant activity. *Food Sci Nutr*, 7(11), 3774-3783, Nov. 2019. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1239>.
- [49] Z. Wu, M. Zhang, H. Yang, H. Zhou, H. Yang. Production, physico-chemical characterization and antioxidant activity of natural melanin from submerged cultures of the mushroom *Auricularia auricula*. *Food Bioscience*, 26, 49-56, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.09.008>.
- [50] E. Minasyan, A.E. Aghajanyan, K. Karapetyan, N. Khachaturyan, G. Hovhannisyanyan, K. Yeghyan, A. Tsaturyan, "Antimicrobial Activity of Melanin Isolated from Wine Waste," *Indian J Microbiol*, 2023, <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01155-9>.
- [51] P. Manivasagan, J. Venkatesan, K. Senthilkumar, K. Sivakumar, S.K. Kim, Isolation and characterization of biologically active melanin from *Actinoalloteichus* sp. MA-32, *Int. J. Biol. Macromol.*, 58, 263-74, 2013, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.041>.
- [52] S. Roy, J.-W. Rhim, Agar-based antioxidant composite films incorporated with melanin nanoparticles, *Food Hydrocoll.*, 94, 391-398, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.038>.
- [53] W. Zhao, Z. Liu, X. Liang, S. Wang, J. Ding, Z. Li, L. Wang, Y. Jiang, Preparation and characterization of epigallocatechin-3-gallate loaded melanin nanocomposite (EGCG @MNPs) for improved thermal stability, antioxidant and antibacterial activity, *LWT*, 154, 112599, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112599>.

- [54] M. Ye, Y. Wang, G.-y. Guo, Y.-l. He, Y. Lu, Y.-w. Ye, Q.-h. Yang, P.-z. Yang, Physicochemical characteristics and antioxidant activity of arginine-modified melanin from *Lachnum YM-346*, *Food Chem.*, 135(4), 2490-2497, 2012, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.120>.
- [55] D. Zhang, X. Chen, N. Bu, L. Huang, H. Lin, L. Zhou, R. Mu, L. Wang, J. Pang, Biosynthesis of Quercetin-Loaded Melanin Nanoparticles for Improved Antioxidant Activity, Photothermal Antimicrobial, and NIR/pH Dual-Responsive Drug Release, *Foods*, 12(23), 4232, 2023, <https://doi.org/10.3390/foods12234232>.
- [56] N.A. El-Naggar, S. El-Ewasy, Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H, *Sci. Rep.*, 7, 42129, 2017, <https://doi.org/10.1038/srep42129>.
- [57] M.I. Sheefaa, P. Sivaperumal, Antioxidant activities from melanin pigment produced by marine actinobacterium of *Streptomyces* species, *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, 13(Suppl 1), S84-S87, 2022, https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_338_22.
- [58] E. Messinese, O. Pitirollo, M. Grimaldi, D. Milanese, C. Sciancalepore, A. Cavazza, By-Products as Sustainable Source of Bioactive Compounds for Potential Application in the Field of Food and New Materials for Packaging Development, *Food Bioprocess Technol.*, 17, 606–627, 2024, <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03158-2>.
- [59] N. Leyva-López, C.E. Lizárraga-Velázquez, C. Hernández, E.Y. Sánchez-Gutiérrez, Exploitation of Agro-Industrial Waste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture, *Foods*, 9(7), 843, 2020, <https://doi.org/10.3390/foods9070843>.
- [60] M. Oleszek, I. Kowalska, T. Bertuzzi, W. Oleszek, Phytochemicals Derived from Agricultural Residues and Their Valuable Properties and Applications, *Molecules*, 28(1), 342, 2023, <https://doi.org/10.3390/molecules28010342>.
- [61] L.C. Freitas, J.R. Barbosa, A.L.C. da Costa, F.W.F. Bezerra, R.H.H. Pinto, R.N. de Carvalho Junior, From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products?, *Resour. Conserv. Recycl.*, 169, 105466, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105466>.
- [62] S. Supta and K. Aparna, “Food Packaging and Storage,” in *Research Trends in Home Science and Extension*, vol. 3, AkiNik Publications, 2020, pp. 27–51. <https://doi.org/10.22271/ED.BOOK.959>.
- [63] J. Shin and S. E. M. Selke, “Food Packaging,” Wiley Blackwell 6, vol. 9780470671146, pp. 249–273, Jun. 2014, <https://doi.org/10.1002/9781118846315.CH11>.
- [64] L.K. Ncube, A.U. Ude, E.N. Ogunmuyiwa, R. Zulkifli, I.N. Beas, An Overview of Plastic Waste Generation and Management in Food Packaging Industries, *Recycling*, 6(1), 12, 2021, <https://doi.org/10.3390/recycling6010012>.
- [65] K. Marsh, B. Bugusu, Food packaging--roles, materials, and environmental issues, *J. Food Sci.*, 72(3), R39-R55, 2007, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>.

- [66] P. Singh, S. Saengerlaub, A. Abas Wani, H. Langowski, Role of plastics additives for food packaging, *Pigment Resin Technol.*, 41(6), 368-379, 2012, <https://doi.org/10.1108/03699421211274306>.
- [67] A.A. Wani, P. Singh, H.C. Langowski, Food Technologies: Packaging, in *Encyclopedia of Food Safety*, vol. 3, Elsevier, 2014, pp. 211-218, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00273-0>.
- [68] G. Mahesh Kumar, A. Irshad, B.V. Raghunath, G. Rajarajan, Waste Management in Food Packaging Industry, in *Integrated Waste Management in India*, M. Prashanthi, R. Sundaram (eds.), Springer, Cham, 2016, https://doi.org/10.1007/978-3-319-27228-3_24.
- [69] H. Sundqvist-Andberg, M. Åkerman, Sustainability governance and contested plastic food packaging – An integrative review, *J. Clean. Prod.*, 306, 127111, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127111>.
- [70] K.Y. Perera, A.K. Jaiswal, S. Jaiswal, Biopolymer-Based Sustainable Food Packaging Materials: Challenges, Solutions, and Applications, *Foods*, 12(12), 2422, 2023, <https://doi.org/10.3390/foods12122422>.
- [71] V. Savkovic, F. Flämig, M. Schneider, K. Sülflow, T. Loth, A. Lohrenz, M.C. Hacker, M. Schulz-Siegmund, J.-C. Simon, Polycaprolactone fiber meshes provide a 3D environment suitable for cultivation and differentiation of melanocytes from the outer root sheath of hair follicle, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 104(1), 26-36, 2016, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35536>.
- [72] K. Ren, Y. Wang, T. Sun, W. Yue, H. Zhang, Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes, *Mater. Sci. Eng. C*, 78, 324-332, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.084>.
- [73] I.S. Arvanitoyannis, L. Bosnea, Migration of Substances from Food Packaging Materials to Foods, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 44(2), 63-76, 2004, <https://doi.org/10.1080/10408690490424621>.
- [74] N. Gontard, H. Angellier-Coussy, P. Chalier, S. Peyron, "Food Packaging Applications of Biopolymer-Based Films," in *Biopolymers - New Materials for Sustainable Films and Coatings*, Apr. 2011, pp. 211–232, <https://doi.org/10.1002/9781119994312.CH10>.
- [75] J.W. Han, L. Ruiz-Garcia, J.P. Qian, X.T. Yang, Food Packaging: A Comprehensive Review and Future Trends, *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Saf.*, 17(4), 860-877, Jul. 01, 2018, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>.
- [76] M.G. Kontominas, A.V. Badeka, I.S. Kosma, C.I. Nathanailides, Recent Developments in Seafood Packaging Technologies, *Foods*, 10(5), 940, 2021, <https://doi.org/10.3390/foods10050940>.
- [77] M. García-Mahecha, H. Soto-Valdez, E. Carvajal-Millan, T.J. Madera-Santana, M.G. Lomelí-Ramírez, C. Colín-Chávez, Bioactive Compounds in Extracts from the Agro-Industrial Waste of Mango, *Molecules*, 28(1), 458, 2023, <https://doi.org/10.3390/molecules28010458>.
- [78] U. Choudhary, B. Kumar Bhinchhar, V. Kumar Paswan, S. Kharkwal, S. Prakash Yadav, P. Singh, Utilization of Agro-Industrial Wastes as Edible

- Coating and Films for Food Packaging Materials, IntechOpen, 2022, <https://doi.org/10.5772/intechopen.99786>.
- [79] L.J. Bastarrachea, D.E. Wong, M.J. Roman, Z. Lin, J.M. Goddard, *Active Packaging Coatings*, *Coatings*, 5(4), 771-791, 2015, <https://doi.org/10.3390/coatings5040771>.
- [80] I. Majid, G.A. Nayik, S.M. Dar, V. Nanda, Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective, *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, 17(4), 454-462, 2018, <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.003>.
- [81] U. Altaf, I. Varsha Kanojia, I. Correspondence Varsha Kanojia, V. Kanojia, and A. Rouf, "Novel packaging technology for food industry," ~ 1618 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 7, no. 1, pp. 1618–1625, 2018.
- [82] A. Ayoub, F. Hameed, J. D. Bandral, *Food Packaging Technology and its Emerging Trends: A Review*, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 7(10), 390-396, 2018, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.390>.
- [83] R. Singh, S. Dutt, P. Sharma, A. K. Sundramoorthy, A. Dubey, A. Singh, S. Arya, "Future of Nanotechnology in Food Industry: Challenges in Processing, Packaging, and Food Safety," *Global Challenges*, vol. 7, no. 4, pp. 220020, Apr. 01, 2023, <https://doi.org/10.1002/gch2.202200209>.
- [84] M. A. Cerqueira, A. A. Vicente, L. M. Pastrana, "Nanotechnology in food packaging: Opportunities and challenges," *Nanomaterials Food Packag. Mater. Process. Technol. Saf. Issues*, vol. 1, pp. 1-11, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51271-8.00001-2>.
- [85] N. Bhardwaj, S. C. Kundu, "Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 3, pp. 325-347, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>.
- [86] J.-S. Park, "Electrospinning and its applications," *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 1, no. 4, p. 043002, 2011. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/1/4/043002>.
- [87] M. A. Bonakdar and D. Rodrigue, "Electrospinning: Processes, Structures, and Materials," *Macromol*, vol. 4, no. 1, pp. 58-103, 2024. <https://doi.org/10.3390/macromol4010004>.
- [88] H. M. Ibrahim and A. Klingner, "A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications," *Polymer Testing*, vol. 90, p. 106647, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106647>.
- [89] Y. Guo, X. Wang, Y. Shen, K. Dong, L. Shen, A. A. A. Alzalab, "Research progress, models and simulation of electrospinning technology: a review," *J Mater Sci*, vol. 57, pp. 58–104, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10853-021-06575-w>.
- [90] G. F. El Fawal, "Polymer Nanofibers Electrospinning: A review," *Egypt. J. Chem.*, vol. 63, no. 4, pp. 1279–1303, 2020. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.14837.1898>.
- [91] S. Kailasa, M. S. B. Reddy, M. R. Maurya, B. G. Rani, K. V. Rao, K. K. Sadasivuni, "Electrospun Nanofibers: Materials, Synthesis Parameters, and Their Role in Sensing Applications," *Macromol. Mater. Eng.*, vol. 306, no. 11, Nov. 01, 2021. <https://doi.org/10.1002/mame.202100410>.

- [92] F. Moccia, S. Agustin-Salazar, A.-L. Berg, B. Setaro, R. Micillo, E. Pizzo, F. Weber, N. Gamez-Meza, A. Schieber, P. Cerruti, L. Panzella, and A. Napolitano, "Pecan (*Carya illinoensis* (Wagenh.) K. Koch) Nut Shell as an Accessible Polyphenol Source for Active Packaging and Food Colorant Stabilization," *ACS Sustainable Chem. Eng.*, vol. 8, pp. 6700–6712, 2020. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c00356>.
- [93] M. G. Cervantes-Vázquez, I. O. Castillo, C. V. Vázquez, M. F. Hernández, and J. de J. Espinoza Arellano, "Análisis comparativo de huertos de nuez pecanera (*Carya illinoensis* Koch en la Comarca Lagunera)," *Rev. Mex. Cienc. Agríc.*, vol. 9, no. 1, pp. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i1.845>.
- [94] H. Wei, Y. Chen, Q. Ouyang, S. Liu, Y. Jiang, and F. Lv, "Progress in comprehensive development and utilization of pecan resources," *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, vol. 705, 012032, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/705/1/012032>.
- [95] R. Argenziano, F. Moccia, R. Esposito, G. D'Errico, L. Panzella, A. Napolitano, "Recovery of Lignins with Potent Antioxidant Properties from Shells of Edible Nuts by a Green Ball Milling/Deep Eutectic Solvent (DES)-Based Protocol," *Antioxidants*, vol. 11, no. 10, pp. 1860, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11101860>.
- [96] M. S. N. dos Santos, G. L. Zabet, M. A. Mazutti, and M. V. Tres, "Potential applications of pecan residual biomasses: a review," *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 10, pp. 5524-5531, 2020. <https://doi.org/10.33263/BRIAC103.524531>.
- [97] I. Kureck, P. de Brito Policarpi, I. M. Toaldo, M. V. de Oliveira Brisola Maciel, M. T. Bordignon-Luiz, P. L. M. Barreto, and J. M. Block, "Chemical Characterization and Release of Polyphenols from Pecan Nut Shell [*Carya illinoensis* (Wagenh.) C. Koch] in Zein Microparticles for Bioactive Applications," *Plant Foods Hum. Nutr.*, vol. 73, pp. 137-145, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0667-0>.
- [98] W. Cao, X. Zhou, N. C. McCallum, Z. Hu, Q. Z. Ni, U. Kapoor, C. M. Heil, K. S. Cay, T. Zand, A. J. Mantanona, A. Jayaraman, A. Dhinojwala, D. D. Deheyn, M. D. Shawkey, M. D. Burkart, J. D. Rinehart, and N. C. Gianneschi, "Unraveling the Structure and Function of Melanin through Synthesis," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 143, no. 7, pp. 2622-2637, 2021. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c12322>.
- [99] I.-E. Pralea, R.-C. Moldovan, A.-M. Petrache, M. Ilieș, S.-C. Hegheș, I. Ielciu, R. Nicoară, M. Moldovan, M. Ene, M. Radu, A. Uifălean, and C.-A. Iuga, "From Extraction to Advanced Analytical Methods: The Challenges of Melanin Analysis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 16, article 3943, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20163943>.
- [100] S. Singh, S. B. Nimse, D. E. Mathew, A. Dhimmarr, H. Sahastrabudhe, A. Gajjar, V. A. Ghadge, P. Kumar, and P. B. Shinde, "Microbial melanin: Recent advances in biosynthesis, extraction, characterization, and applications," *Biotechnol. Adv.*, vol. 53, pp. 107773, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107773>.

- [101] A. M. Estévez and R. J. Estévez, "A short overview on the medicinal chemistry of (-)-shikimic acid," *Mini Rev. Med. Chem.*, vol. 12, no. 14, pp. 1443-1454, Dec. 2012. <https://doi.org/10.2174/138955712803832735>.
- [102] M. Vickery and B. Vickery, "The Acetate-Malonate Pathway," 1981, doi: https://doi.org/10.1007/978-1-349-86109-5_3.
- [103] I. Marcovici, D. Coricovac, I. Pinzaru, I. G. Macasoï, R. Popescu, R. Chioibas, I. Zupko, and C. A. Dehelean, "Melanin and Melanin-Functionalized Nanoparticles as Promising Tools in Cancer Research—A Review," *Cancers*, vol. 14, no. 7, article 1838, 2022. <https://doi.org/10.3390/cancers14071838>.
- [104] X. Zhou, N. C. McCallum, Z. Hu, W. Cao, K. Gnanasekaran, Y. Feng, J. F. Stoddart, Z. Wang, and N. C. Gianneschi, "Artificial Allomelanin Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 13, no. 10, pp. 10980–10990, 2019. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b02160>.
- [105] S. Singla, K. Z. Htut, R. Zhu, A. Davis, J. Ma, Q. Z. Ni, M. D. Burkart, C. Maurer, T. Miyoshi, and A. Dhinojwala, "Isolation and Characterization of Allomelanin from Pathogenic Black Knot Fungus—a Sustainable Source of Melanin," *ACS Omega*, vol. 6, no. 51, pp. 35514–35522, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05030>.
- [106] Z. Zhang, X. He, C. Zhou, M. Reaume, M. Wu, B. Liu, and B. P. Lee, "Iron Magnetic Nanoparticle-Induced ROS Generation from Catechol-Containing Microgel for Environmental and Biomedical Applications," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 12, no. 19, pp. 21210–21220, Feb. 2020. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05030>.
- [107] V. M. Sava, B. N. Galkin, M.-Y. Hong, P.-C. Yang, and G. S. Huang, "A novel melanin-like pigment derived from black tea leaves with immuno-stimulating activity," *Food Res. Int.*, vol. 34, no. 4, pp. 337-343, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00173-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00173-3).
- [108] H. Wang, Y. Pan, X. Tang, and Z. Huang, "Isolation and characterization of melanin from *Osmanthus fragrans* seeds," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 39, no. 5, pp. 496-502, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.04.001>.
- [109] S. Roy and J.-W. Rhim, "Carrageenan-based antimicrobial bionanocomposite films incorporated with ZnO nanoparticles stabilized by melanin," *Food Hydrocolloids*, vol. 90, pp. 500-507, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.056>.
- [110] J. E. Ruiz Rocha, K. R. Moreno Tovar, R. N. Mendoza, S. Gutiérrez Granados, S. Cavaliere, D. Giaume, P. Barboux, and J. S. J. Ferrer, "Critical Electrospinning Parameters for Synthesis Control of Stabilized Polyacrylonitrile Nanofibers," *Nanomaterials*, vol. 13, no. 19, p. 2648, 2023. <https://doi.org/10.3390/nano13192648>.
- [111] D. Orona-Tamayo, M. E. Valverde, B. Nieto-Rendón, O. Paredes-López, "Inhibitory activity of chia (*Salvia hispanica* L.) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 64, no. 1, pp. 236-242, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.033>.

- [112] S. Kalantary, F. Golbabaie, M. Latifi, M. A. Shokrgozar, M. Yaseri, "Feasibility of Using Vitamin E-Loaded Poly(ϵ -caprolactone)/Gelatin Nanofibrous Mat to Prevent Oxidative Stress in Skin," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 20, no. 6, pp. 3554-3562, 2020. <https://doi.org/10.1166/jnn.2020.17486>.
- [113] Y.-g. Tu, Y.-z. Sun, Y.-g. Tian, M.-y. Xie, J. Chen, "Physicochemical characterisation and antioxidant activity of melanin from the muscles of Taihe Black-bone silky fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson)," *Food Chem.*, vol. 114, no. 4, pp. 1345-1350, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.015>.
- [114] V. Singh, P. Zaman, and J. Meher, "Postharvest Technology of Fruits and Vegetables: An Overview," *Journal of Postharvest Technology*, vol. 02, no. 02, pp. 124–135, 2014.
- [115] J. Xie, H. Li, H. Che, X. Dong, X. Yang, W. Xie, "Extraction, physicochemical characterisation, and bioactive properties of ink melanin from cuttlefish (*Sepia esculenta*)," *Int J Food Sci Technol*, vol. 56, no. 7, pp. 3627–3640, 2021. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14992>.
- [116] N. Kollias, A. H. Baqer, "Absorption mechanisms of human melanin in the visible, 400-720 nm," *J Invest Dermatol*, vol. 89, no. 4, pp. 384-388, 1987. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12471764>.
- [117] C. Li, Y. Chen, B. Tang, "Physicochemical Properties and Biological Activities of Melanin Extracted from Sunflower Testae," *Food Sci Technol Res*, vol. 24, no. 6, pp. 1029-1038, 2018. <https://doi.org/10.3136/fstr.24.1029>.
- [118] S. Singla, K. Z. Htut, R. Zhu, A. Davis, J. Ma, Q. Z. Ni, M. D. Burkart, C. Maurer, T. Miyoshi, A. Dhinojwala, "Isolation and Characterization of Allomelanin from Pathogenic Black Knot Fungus—a Sustainable Source of Melanin," *ACS Omega*, vol. 6, no. 51, pp. 35514–35522, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05030>.
- [119] E. Sansinenea and A. Ortiz, "Melanin: a photoprotection for *Bacillus thuringiensis* based biopesticides," *Biotechnol Lett*, vol. 37, no. 3, pp. 483–490, Mar. 2015. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1726-8>
- [120] P. Kuppan, S. Sethuraman, and U. M. Krishnan, "PCL and PCL-gelatin nanofibers as esophageal tissue scaffolds: optimization, characterization and cell-matrix interactions," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 9, no. 9, pp. 1540-1555, Sep. 2013. <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1653>.
- [121] G. El Fawal, H. Hong, X. Mo, and H. Wang, "Fabrication of scaffold based on gelatin and polycaprolactone (PCL) for wound dressing application," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 63, p. 102501, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102501>.
- [122] S. N. Gorodzha, M. A. Surmeneva, and R. A. Surmenev, "Fabrication and characterization of polycaprolactone cross-linked and highly-aligned 3-D artificial scaffolds for bone tissue regeneration via electrospinning technology," *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, vol. 98, p. 012024, 2015. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012024>.
- [123] R. S. Hebbar, A. M. Isloor, A. F. Ismail, "Chapter 12 - Contact Angle Measurements," in N. Hilal, A. F. Ismail, T. Matsuura, D. Oatley-Radcliffe

- (Eds.), Membrane Characterization, Elsevier, 2017, pp. 219-255. ISBN 9780444637765. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00012-7>.
- [124] C. Kumah, N. Zhang, K. Rafiu Raji, and R. Pan, "Color Measurement of Segmented Printed Fabric Patterns in Lab Color Space from RGB Digital Images," *J. Text. Sci. Technol.*, vol. 05, no. 01, pp. 1-18, 2019. <https://doi.org/10.4236/jtst.2019.51001>.
- [125] Z. Asvar, E. Mirzaei, N. Azarpira, B. Geramizadeh, and M. Fadaie, "Evaluation of electrospinning parameters on the tensile strength and suture retention strength of polycaprolactone nanofibrous scaffolds through surface response methodology," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 75, pp. 369-378, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.08.004>.
- [126] H. Williams, "Measuring Young's modulus with a tensile tester," *Phys. Educ.*, vol. 57, no. 2, p. 025016, Jan. 2022. <https://doi.org/10.1088/1361-6552/ac3f75>
- [127] A. Fernández-Tena, R. A. Pérez-Camargo, O. Coulembier, L. Sangroniz, N. Aranburu, G. Guerrica-Echevarria, G. Liu, D. Wang, D. Cavallo, and A. J. Müller, "Effect of Molecular Weight on the Crystallization and Melt Memory of Poly(ϵ -caprolactone) (PCL)," *Macromolecules*, vol. 56, no. 12, pp. 4602-4620, Jun. 2023. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.3c00234>.
- [128] I. Mukherjee and M. Rosolen, "Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities," *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 114, pp. 1161-1166, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10973-013-3086-9>.
- [129] J. J. Berman, "Changing how we think about infectious diseases," in *Taxonomic Guide to Infectious Diseases*, 2019, pp. 321-365. Published online Jun 7, 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-817576-7.00008-0.
- [130] A. Mavridi-Printezi, A. Menichetti, D. Mordini, R. Amorati, and M. Montalti, "Recent Applications of Melanin-like Nanoparticles as Antioxidant Agents," *Antioxidants*, vol. 12, no. 4, p. 863, Apr. 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12040863>.