

Tecnología de empaques fotoactivos para la extensión de la vida útil de los alimentos

Jhon Alejandro Arboleda Murillo

Director

Qco. PhD. Cristian Camilo Villa Zabala

Codirector

Qco. PhD. Eduart Andrés Gutiérrez Pineda

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI
Maestría en Biotecnología Alimentaria
2025

Tabla de Contenido

Introducción	5
Planteamiento del Problema	7
Justificación	9
Objetivos	11
Objetivo Generales.....	11
Objetivos Específicos.....	11
Marco Teórico.....	12
Empaques.....	12
Curcumina.....	12
Clorofilina	14
Fotosensibilizadores e Inactivación Fotodinámica	15
Películas Fotoactivas.....	16
Microcelulosa.....	17
Metodología	18
Formación de las Películas Fotoactivas	18
Caracterización de las Propiedades Nanomecánicas de las Películas Fotoactivas	18
Caracterización Estructural de las Películas Fotoactivas	19
Análisis de Ángulo de Contacto.	19
Análisis de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas	20
Determinación del Consumo de Oxígeno	20
Evaluación de la Actividad Antifúngica de las Películas Fotoactivas Frente a Esporas de <i>A. Niger</i>	20
Diseño Experimental.....	22
Resultados y Discusión	23
Análisis de las Propiedades Nanomecánicas de las Películas Fotoactivas	23
Análisis Estructural de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas	27
Análisis de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas	34
Análisis de Consumo de Oxígeno y Producción de ERO.....	37
Inhibición de las Esporas de <i>A. Niger</i>	38
Conclusiones.....	41
Referencias.....	42

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura de la curcumina	13
Figura 2. Estructura de la Clorofilina.	14
Figura 3. Esquema de los procesos en la inactivación fotodinámica.....	16
Figura 4. Imágenes por AFM relacionadas con la rugosidad, el módulo elástico, la deformación y la adhesión de las diferentes películas obtenidas.	25
Figura 5. Análisis de fluorescencia en formulaciones con reconstrucción 3D.	28
Figura 6. Ángulo de contacto de las películas con diferentes formulaciones.	30
Figura 7. (A) Espectros FTIR de las películas con diferentes formulaciones. (B) Espectros RAMAN de las películas con diferentes formulaciones.	33
Figura 8. Difractogramas DRX de las películas con diferentes formulaciones.	34
Figura 9. Espectro de absorción UV-Vis de las películas con diferentes formulaciones.	35
Figura 10. Consumo de oxígeno en función del tiempo de irradiación en las diferentes películas.	37
Figura 11. % de Inhibición de las esporas de <i>A. niger</i> sometidas a diferentes tratamientos. L+ con irradiación; L- sin irradiación, P+ en presencia de películas y P- en ausencia de las películas.	39

Índice de Tablas

Tabla 1. Composición de las diferentes películas fotoactivas estudiadas. μ Cel: microcelulosa; Chi: clorofilina; Cur: curcumina. Fuente propia.	18
Tabla 2. Valores c+uantitativos de rugosidad, módulo elástico, adhesión y deformación .	26
Tabla 3. Imágenes de las esporas de <i>A. niger</i> en presencia de diferentes películas fotoactivas y en ausencia y presencia de luz (L+ y L-) obtenidas en microscopia de campo claro (C.C) y de fluorescencia (F) utilizando blanco de calcofluor como marcador.	40

Introducción

La industria alimentaria enfrenta actualmente un doble desafío: por un lado, responder a la creciente demanda de consumidores que exigen alimentos de mayor calidad y duración; y, por otro, reducir el impacto ambiental derivado del uso de empaques plásticos convencionales. En los últimos años, los empaques elaborados a partir de derivados del petróleo representan una de las principales fuentes de contaminación ambiental, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas biodegradables y sostenibles basadas en biopolímeros de origen natural. Entre ellos, materiales como el almidón (Gomes de Menezes et al., 2021a), la celulosa (L. F. Wang et al., 2017), el quitosano (Woszczak et al., 2023a) y el alginato (Karimi Khorrami et al., 2021) han cobrado gran relevancia gracias a sus propiedades de biocompatibilidad, bajo costo y capacidad de formar matrices funcionales.

Sin embargo, el papel de los empaques no se limita únicamente a servir de barrera protectora frente al entorno. En los últimos años se ha propuesto el desarrollo de empaques activos y, más específicamente, de empaques fotoactivos capaces de generar especies reactivas de oxígeno (ERO) cuando son irradiados con luz visible (Sanchez-Castañeda et al., 2025). Esta tecnología se sustenta en el uso de fotosensibilizadores naturales, como la curcumina y la clorofilina, que no solo aportan propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sino que también permiten prolongar la vida útil de los alimentos mediante procesos de inactivación fotodinámica.

El diseño de este tipo de sistemas resulta especialmente relevante en un contexto como el colombiano, donde a pesar de contar con más de 8 millones de hectáreas agrícolas, se pierden anualmente cerca de 9,76 millones de toneladas de alimentos (DANE, 2022). Este desperdicio, que equivale a la alimentación de millones de personas, agrava los índices de inseguridad alimentaria y plantea la necesidad de nuevas estrategias tecnológicas que permitan reducir la

pérdida postcosecha y mejorar la conservación de productos perecederos como frutas y hortalizas.

En este marco, los empaques fotoactivos basados en alginato, curcumina y clorofilina representan una alternativa innovadora y sostenible, pues combinan la biodegradabilidad de los biopolímeros con la capacidad funcional de los fotosensibilizadores. El presente trabajo busca aportar al desarrollo de esta tecnología evaluando sus propiedades estructurales, ópticas y antimicrobianas, con el fin de establecer su potencial en la conservación de alimentos y en la construcción de soluciones más sostenibles para la industria alimentaria.

Planteamiento del Problema

Existen en la actualidad problemáticas ambientales que despiertan un notorio interés en poder reemplazar demasiados empaques que son fabricados con derivados del petróleo y se plantea el ideal de ser reemplazados por productos de origen natural que fácilmente puedan ser biodegradables. Actualmente, la industria alimentaria ha enfocado sus esfuerzos en el desarrollo de películas y recubrimientos comestibles, que constituyen una alternativa de empaque basada en polisacáridos como el almidón, la celulosa, el quitosano, la pectina, las gomas guar y xanthan (Dong et al., 2023a; Gomes de Menezes et al., 2021b).

Paralelamente, el sector agrícola y alimentario colombiano enfrenta una problemática crítica: cada año se pierden aproximadamente 9,76 millones de toneladas de alimentos en distintas etapas de la cadena productiva, a pesar de que el país dispone de más de 8 millones de hectáreas destinadas a la producción agrícola. Estas pérdidas, que afectan especialmente a productos perecederos como frutas y hortalizas, se asocian tanto a deficiencias en la infraestructura como a la ausencia de tecnologías de conservación efectivas, lo que, a su vez, agrava los índices de inseguridad alimentaria. En este contexto, se requieren estrategias innovadoras que no solo reduzcan el desperdicio, sino que también sean sostenibles, de bajo impacto ambiental y económicamente viables para el sector.

Por otra parte, en concordancia con las nuevas tendencias en el desarrollo de empaques para la industria alimentaria, ha surgido una nueva alternativa en la cual el material de empaque no solo debe proteger de manera pasiva el alimento, es decir, actuar como barrera frente al medio externo, sino que a su vez se puede ejercer una función activa en su conservación, ya sea mediante propiedades antimicrobianas, antioxidantes o a través la liberación de agentes bioactivos (Gomes de Menezes et al., 2021b).

Según cifras del 2020, en Colombia, existen más de 50 millones de personas, con aproximadamente 8 millones de hectáreas dedicadas a la agricultura; cada año se desperdician 9,76 millones de toneladas que podrían ser empleadas para nutrir a más de 3,94 millones de individuos, donde el 71,6 % de la población puede estar en riesgo debido a la inseguridad alimentaria. Esta situación plantea un reto al que puede darse una posible respuesta desde la nanociencia y la nanotecnología, aprovechando el universo nano para generar nuevos materiales mediante el uso de vehículos en esta escala, como nanoemulsiones cargadas con fotosensibilizadores (por ejemplo, curcumina y clorofilina), que permitan la funcionalización de dichos materiales, de modo que los empaques no solo sean biodegradables, sino también activos (Y. Zhang & Jiang, 2023).

En este proyecto se propone, entonces, desarrollar un empaque fotoactivo con capacidad antimicrobiana, potencializable mediante la aplicación de pulsos de luz led azul y verde, de tal forma que constituya un método combinado aplicable a la conservación de alimentos. A partir de lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo afectan las películas fotoactivas de alginato, curcumina y clorofilina la fotoinactivación de microorganismos?

Justificación

En las últimas dos décadas ha habido un creciente interés en el desarrollo de nuevos empaques para la industria alimentaria que permitan reducir costos y, al mismo tiempo, disminuir la contaminación ambiental. Dentro de esta nueva generación de productos, las películas biodegradables elaboradas a partir de materiales comestibles se han convertido en una de las áreas de mayor atractivo (Y. Zhang & Jiang, 2023). En este sentido, se han desarrollado películas biodegradables a partir de biopolímeros de origen natural, como los almidones nativos y modificados, celulosa, quitosano, goma guar y goma xantana, entre otros; del mismo modo, los derivados proteicos han despertado gran interés en el diseño y fabricación de este tipo de empaques.

Las nuevas tendencias en el desarrollo de empaques biodegradables para la industria alimentaria no solo están enfocadas en nuevos materiales, sino también en su funcionalización. En este sentido, se busca diseñar empaques que no solo conserven el alimento protegiéndolo del medio externo, sino que también participen activamente en la disminución de la carga microbiana, de la actividad enzimática y oxidativa, y en el enriquecimiento nutritivo del alimento durante el almacenamiento en anaquel (Kodithuwakku et al., 2022; Nath et al., 2023a). Una de las áreas que más ha aportado al desarrollo y optimización de este tipo de empaques es la nanociencia. Esta área de la ciencia ha permitido desarrollar vehículos capaces de incorporar sustancias bioactivas en los empaques. Entre estos se encuentran las nanopartículas poliméricas obtenidas a partir de biopolímeros como el almidón, la celulosa y el quitosano, y las nanopartículas sólidas lipídicas obtenidas a partir de materiales grasos como la cera de abeja. Otro tipo de agentes funcionalizadores son las nanoemulsiones que permiten la inclusión de aceites esenciales con diferentes actividades biológicas en el empaque (Bilbao-Sáinz et al.,

2010). En este sentido, en este proyecto se propone ir más allá del desarrollo de recubrimientos comestibles activos mediante la inclusión de agentes antimicrobianos, y se busca potencializar su efecto a través de la inactivación fotodinámica empleando pulsos de luz azul y verde. De esta manera, se pretende desarrollar un método combinado para la conservación de alimentos.

Objetivos

Objetivo Generales

Desarrollar empaques fotoactivos a partir de alginato, curcumina y clorofilina para una posible aplicación en frutas.

Objetivos Específicos

Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y estructurales de las películas.

Evaluar las propiedades ópticas y la generación de ERO de las películas.

Estudiar el efecto de las películas en la fotoinactivación de esporas de *Aspergillus niger*, mediante el uso de pulsos de luz led blanca

Marco Teórico

Este proyecto está referenciado en el marco de varios conceptos que serán ampliados a continuación:

Empaques

Los empaques en la industria alimentaria cumplen una función esencial al proteger los productos frente a factores externos como la humedad, el oxígeno, la luz y la acción microbiana, contribuyendo así a preservar la calidad, la seguridad y la vida útil de los alimentos.

Tradicionalmente, estos empaques se han elaborado a partir de polímeros sintéticos derivados del petróleo, que ofrecen excelentes propiedades de barrera y resistencia mecánica, pero generan un fuerte impacto ambiental debido a su baja degradabilidad (Nath et al., 2023b). Como respuesta a esta problemática, en las últimas décadas se ha intensificado la investigación sobre empaques biodegradables elaborados a partir de biopolímeros de origen natural, entre ellos el almidón, la celulosa, el quitosano y el alginato, capaces de formar películas y recubrimientos con potencial para sustituir los plásticos convencionales (Gomes de Menezes et al., 2021a; Karimi Khorrami et al., 2021). Estos materiales no solo reducen la dependencia de fuentes no renovables, sino que también permiten su funcionalización mediante la incorporación de compuestos bioactivos, dando origen a empaques activos o inteligentes que participan directamente en la conservación y la calidad de los alimentos (Cano et al., 2016a; Santos et al., 2022).

Curcumina

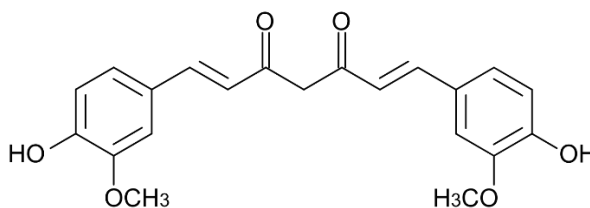
La curcumina es un fitoconstituyente polifenólico de bajo peso molecular, derivado de las raíces de la cúrcuma (*Curcuma longa*). Dichas raíces se han cultivado tradicionalmente en India, Sri Lanka, Filipinas, Indonesia, Jamaica, Trinidad y China. Siendo está ampliamente utilizada en China, India y en otros países asiáticos como especia, colorante, antioxidante y en la medicina

tradicional utilizada en el tratamiento de acné, psoriasis, dermatitis, erupción del pañal, sistema gastrointestinal, cardiovascular, sistema nervioso central; también ha sido utilizada en enfermedades reumáticas, diabetes, infertilidad, estrés y en diferentes condiciones inflamatorias, además de su reconocida actividad antimicrobiana y antifúngica (Brasch et al., 2018; Maghsoudi et al., 2017).

A pesar de sus reconocidas propiedades benéficas, las moléculas de curcumina libres presentan baja solubilidad en agua, lo que a su vez ha dado lugar a una biodisponibilidad reducida y, debido a su baja estabilidad, no ha sido aprobado para su uso como medicamento (Sadeghi et al., 2017). Por lo tanto, los investigadores han intentado mejorar la solubilidad en agua y la biodisponibilidad de la curcumina mediante su carga en nanopartículas poliméricas biodegradables. Por ejemplo, nanoesferas de poli-(ácido láctico-ácido coglicólico) PLGA encapsulando curcumina han sido formuladas como tratamiento para el cáncer de próstata o en el caso almidones encapsulando curcumina con aplicaciones en la industria alimenticia, de igual manera se ha avanzado en la encapsulación de curcumina en nanoemulsiones de diferentes aceites esenciales (Acevedo-Guevara et al., 2018; Maghsoudi et al., 2017; Yu et al., 2022). La estructura de la curcumina se muestra en la Figura 1. De igual manera, se ha establecido que la curcumina puede actuar como fotosensibilizador en procesos de inactivación fotodinámica (Du et al., 2023; Yu et al., 2022).

Figura 1.

Estructura de la curcumina



Fuente: (Rubini et al., 2021)

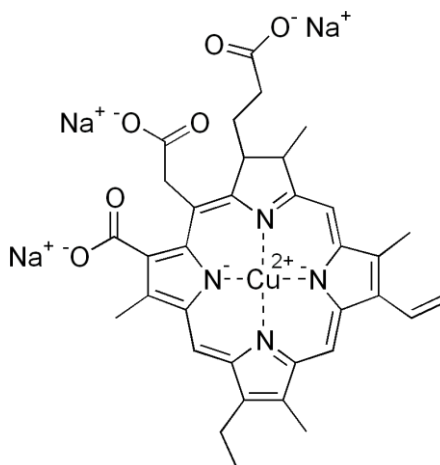
Clorofilina

La clorofilina, un derivado soluble en agua de la clorofila, ha emergido como un compuesto prometedor en el ámbito de la terapia fotodinámica (PDT). La terapia fotodinámica es un enfoque médico que utiliza agentes fotosensibilizadores para generar especies reactivas de oxígeno al activarlos con luz en presencia de oxígeno. La clorofilina, con sus propiedades fotofísicas y fotoquímicas únicas, se ha destacado como un fotosensibilizador potente y seguro para aplicaciones clínicas. Su capacidad para absorber luz en la región del infrarrojo cercano permite una mayor penetración en los tejidos, lo que amplía las posibilidades terapéuticas de la PDT. Además, la clorofilina presenta una baja toxicidad en ausencia de luz, lo que minimiza los efectos secundarios no deseados y mejora la selectividad del tratamiento (Adnane et al., 2022).

La versatilidad de la clorofilina en términos de formulación y administración ofrece ventajas significativas en la terapia fotodinámica. Su capacidad para conjugarse con diversas plataformas de entrega, como nanopartículas y sistemas de liberación controlada, facilita la optimización de su distribución en el organismo y la mejora de la selectividad celular. Este marco conceptual destaca la clorofilina como una herramienta valiosa en la terapia fotodinámica, subrayando su potencial para revolucionar los enfoques clínicos y abrir nuevas puertas en el tratamiento de enfermedades, especialmente aquellas que requieren una precisión y selectividad terapéuticas superiores (Nabi et al., 2023). En la **Figura 2**, se muestra la estructura de la clorofilina.

Figura 2.

Estructura de la Clorofilina.



Fuente: (Jiang et al., 2024).

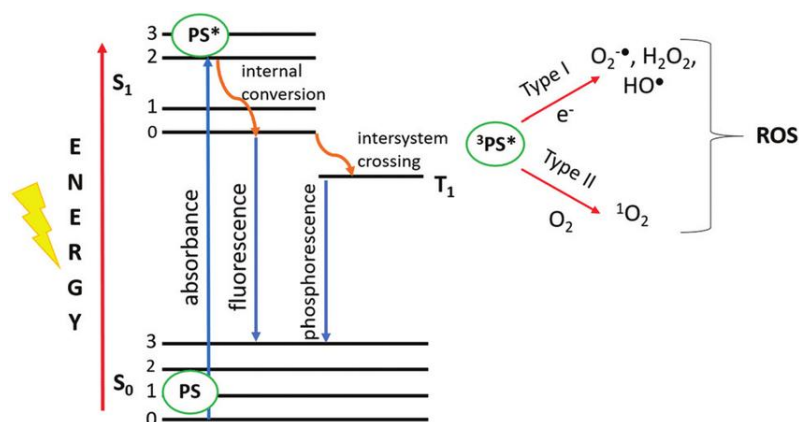
Fotosensibilizadores e Inactivación Fotodinámica

La inactivación fotodinámica es un método en el que se aprovecha la capacidad de algunas moléculas de absorber luz y, una vez en su estado excitado, generar especies radicalarias de oxígeno que pueden ser tóxicas para bacterias y hongos (Rodoni & Lemoine, 2023). El mecanismo de acción de la inactivación fotodinámica (*photodynamic inactivation*, PDI) ha sido ampliamente estudiado, pero aún no se conoce del todo.

Una molécula llamada fotosensibilizador, que presenta una banda de absorción en el rango visible del espectro electromagnético y la capacidad de emitir luz mediante fluorescencia, es excitada en la longitud de onda de su máximo de absorción. Una vez en el estado excitado, la molécula sufre una transferencia electrónica que la lleva a su estado triplete excitado, el cual puede reaccionar con el oxígeno mediante dos mecanismos, llamados tipo 1 y tipo 2. En el primer mecanismo se producen radicales peróxidos y radical hidroxilo, mientras que en el mecanismo tipo 2 se produce oxígeno singlete. Tanto los radicales hidroxilos como el oxígeno singlete, son altamente tóxicos para bacterias, hongos, parásitos e incluso virus (Borghetti-Cardoso et al., 2020; D. Wang et al., 2021). En general, este proceso puede resumirse en un diagrama de Jabloski tal como se muestra en la Figura 3.

Figura 3.

Esquema de los procesos en la inactivación fotodinámica.



Fuente: figura de elaboración propia.

Películas Fotoactivas

Los empaques en la industria alimentaria cumplen una función esencial al proteger los productos frente a factores externos como la humedad, el oxígeno, la luz y la acción microbiana, contribuyendo así a preservar la calidad, la seguridad y la vida útil de los alimentos.

Tradicionalmente, estos empaques se han elaborado a partir de polímeros sintéticos derivados del petróleo, que ofrecen excelentes propiedades de barrera y resistencia mecánica, pero generan un fuerte impacto ambiental debido a su baja degradabilidad (Nath et al., 2023b). Como respuesta a esta problemática, en las últimas décadas se ha intensificado la investigación sobre empaques biodegradables elaborados a partir de biopolímeros de origen natural, capaces de formar películas y recubrimientos con potencial para sustituir los plásticos convencionales (Gomes de Menezes et al., 2021a; L. F. Wang et al., 2017). Estos materiales no solo reducen la dependencia de fuentes no renovables, sino que también permiten su funcionalización mediante la incorporación de compuestos bioactivos, dando origen a empaques activos o inteligentes que

participan directamente en la conservación y la calidad de los alimentos (Cano et al., 2016a; Santos et al., 2022).

Microcelulosa

La microcelulosa (μ -Cel) es un biopolímero derivado de la celulosa, considerado el polisacárido estructural más abundante en la naturaleza al estar presente en plantas, algas y ciertos microorganismos. Formada exclusivamente por unidades de monosacáridos, este material se distingue por su elevada cristalinidad, resistencia mecánica y estabilidad térmica, propiedades que lo convierten en un refuerzo altamente eficiente dentro de matrices poliméricas biodegradables. Este material es relativamente fácil de producir, ya sea a través de hidrólisis mecánica o química que reducen las fibras de celulosa a dimensiones micrométricas o procesos físicos que aumentan su superficie específica y mejorando su capacidad de interacción con otros biopolímeros. La μ -Cel ha sido ampliamente utilizada en el ámbito de los empaques biodegradables para fortalecer películas y recubrimientos, optimizando su rigidez, su barrera al oxígeno y su estabilidad estructural (Cebrián-Lloret et al., 2022; Dong et al., 2023b). De igual manera, su naturaleza renovable y biodegradable la posiciona como un componente clave en el desarrollo de materiales alternativos a los polímeros sintéticos convencionales, especialmente cuando se emplea como agente de refuerzo en biopolímeros como el alginato o el almidón (L. F. Wang et al., 2017).

Metodología

Objetivo específico 1: para cumplir con el objetivo específico número 1, se utilizó la siguiente metodología:

Formación de las Películas Fotoactivas

Para la formación de las películas poliméricas se hizo uso del de alginato de sodio, el cual que fue disuelto en 100 mL de agua para obtener una concentración final del 1,5 % p/v. Para lograr una mejor disolución, se utilizó agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas. Posterior a esto, se adicionó glicerol (1% p/v) y CaCl₂ (0.02% p/v) (Y. Zhang & Jiang, 2023). Finalmente, se adicionaron los distintos componentes de las películas, según la Tabla 1.

Tabla 1.

Composición de las diferentes películas fotoactivas estudiadas.

Código	Composición (%; w/v)			
	Alginato	μCel	Chi	Cur
F1	1	0.25	-	-
F2	1	0.25	0.1	-
F3	1	0.25	-	0.02
F4	1	0.25	0.1	0.02
F5	1	0.25	0.5	0.02

Nota μCel. microcelulosa; Chi: clorofilina; Cur: curcumina.

Fuente: elaboración propia.

Caracterización de las Propiedades Nanomecánicas de las Películas Fotoactivas

Se empleó un microscopio de fuerza atómica multimodo 8 HR (Bruker) para la caracterización nanomecánica de las películas fotoactivas, siguiendo la metodología de (Criado

et al., 2017). Para el análisis, se cortaron piezas de 1×1 cm de las distintas películas y se montaron en el equipo equipado con el controlador NanoScope. Se utilizó una punta RTESPA-150 (Bruker), con un radio nominal de aproximadamente 8 nm y constante elástica nominal de ~ 40 N/m, adaptable para imágenes de alta resolución (tip radius ≈ 8 nm). Las muestras fueron analizadas en modo barrido en aire, registrándose los canales de altura, módulo de rigidez y otras propiedades nanomecánicas. Las imágenes y mapas resultantes se procesaron y cuantificaron mediante el software Gwyddion (versión 3.6), permitiendo obtener valores de rugosidad, módulo de Young local y adhesión de la superficie.

Caracterización Estructural de las Películas Fotoactivas

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se realizó utilizando un espectrofotómetro JASCO 740 equipado con un accesorio de reflexión total atenuada (ATR). Los espectros se registraron en el rango de $4000\text{--}400$ cm^{-1} , con una resolución de 2 cm^{-1} . Los patrones de difracción de rayos X (DRX) se obtuvieron empleando un difractómetro Bruker D8 Advance, equipado con una fuente de radiación $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406$ Å), operando a 40 kV y 40 mA a temperatura ambiente. Los espectros Raman se registraron en un sistema Renishaw inVia Reflex microraman, utilizando un láser de 785 nm y una rejilla de difracción de 1200 líneas/mm.

Análisis de Ángulo de Contacto.

La hidrofiliidad de las películas se evaluó mediante mediciones de ángulo de contacto. Se depositó cuidadosamente una gota de agua de 4 μL sobre la superficie de las películas utilizando un goniómetro de ángulo de contacto KRÜSS, modelo DSA 100. La cámara incorporada del equipo capturó las imágenes y permitió la medición del ángulo correspondiente. Las imágenes se adquirieron cada 10 segundos, y a partir de ellas se calcularon los cambios en el ángulo de contacto en función del tiempo.

Objetivo específico 2: para cumplir con el objetivo específico número 2, se utilizó la siguiente metodología:

Análisis de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas

La caracterización de las propiedades ópticas de las películas se llevó a cabo en un microscopio confocal Zeiss LSM 880 Airyscan y MaiTai DeepSee, utilizando un láser con de Ar, DPSS y HeNe con excitación a 405. También se realizó la medición de transparencia descrita por (Woszczak et al., 2023b) empleando un espectrómetro UV-Vis (Agilent 1230) donde se utilizó una celda vacía como referencia, tomando un blanco de aire y posteriormente, se midieron los valores de absorbancia a 600 nm. El valor de transparencia será calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$Transparencia = \frac{A_{600}}{\delta}$$

Donde A_{600} es la absorbancia a 600 nm y δ es el espesor de la película (mm).

Determinación del Consumo de Oxígeno

Para determinar el consumo de oxígeno por parte de las películas en presencia de luz, se estudió dicho consumo. Para esto, piezas de las películas de 1 cm x 1 cm fueron sumergidas en agua tipo 1 e irradiadas con luz led blanca de 50 W a 10 cm de distancia. La cantidad de oxígeno disuelto en el agua se midió con un sensor de DO de la marca Hanna.

Objetivo específico 3: para cumplir con el objetivo específico número 3, se utilizó la siguiente metodología:

Evaluación de la Actividad Antifúngica de las Películas Fotoactivas Frente a Esporas de *A. Niger*.

Para la evaluación de la actividad antifúngica de las películas fotoactivas, se siguió la metodología establecida por Arboleda-Murillo et al.(2023). Una cepa de *A. niger* (ATCC 16404)

se utilizó como fuente de esporas. Se realizó un cultivo del hongo en malta dextrosa agar y a los 5 días de crecimiento, se recogieron las esporas inundando el cultivo con 10 ml de una solución de Tween 80 al 0,1 %, manteniendo una agitación suave durante 1 minuto. La suspensión resultante fue decantada y centrifugada a 4000 rpm a temperatura ambiente durante 1 minuto, con el fin de concentrar las esporas y reducir la presencia de hifas. El sobrenadante fue descartado y las esporas fueron lavadas dos veces más con una solución de Tween 80 al 0,1 %. Finalmente, las esporas fueron resuspendidas en agua destilada y se ajustó la concentración final a 10^{13} esporas/mL. Finalmente, fueron almacenadas a 4 °C.

Para los ensayos de fotoinactivación, se tomó una pieza de 2x2 cm de cada una de las películas fotoactivas en diferentes pozos de una placa de 12 pozos, posterior a esto a cada uno de los pozos se les añadió 2 mL de una suspensión de esporas (10^9 esporas/mL). Las placas fueron irradiadas utilizando una luz LED pulsada azul y verde de 50 W durante 30 minutos. Se obtuvieron valores de tasa de fluencia de 8 W/cm^2 y una dosis total de luz de 1250 J/cm^2 . Una vez finalizado el proceso de irradiación, se tomaron alícuotas de 100 μL y fueron sembradas en placas de malta dextrosa agar. Las placas fueron incubadas durante 40 horas a 26 °C y se contaron las unidades formadoras de colonia. Se realizaron controles en oscuridad, en los que las películas y las esporas fueron cubiertas de la misma manera, pero sin irradiación.

Se realizó una visualización del efecto de la integridad de la membrana de las esporas utilizando microscopía de fluorescencia y blanco de calcofluor como marcador fluorescente. Para esto se basó en el método descrito por S. Zhang et al., (2024) con algunas modificaciones donde pusieron 100 μL de las suspensiones irradiadas en un vidrio portaobjetos y se mezclaron con una 10 μL de una solución 1:1 (m/v) de blanco de calcofluor en hidróxido de potasio 0.5 M. Se observaron en un microscopio Zeiss Axioscope con sistema de iluminación leds Colibri 5, bajo

una magnificación de 40X, en los modos de campo claro y fluorescencia iluminando con un led de 385 nm.

Diseño Experimental

Todos los experimentos se realizaron en triplicado y los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza multifactorial con un nivel de significancia del 95%, utilizando Statgraphics®Plus versión XV.

Resultados y Discusión

Durante el desarrollo de este proyecto se han obtenido los siguientes resultados. A continuación, se presentan los resultados relacionados con el objetivo específico 1.

Análisis de las Propiedades Nanomecánicas de las Películas Fotoactivas

El análisis de las propiedades estructurales y nanomecánicas de las películas fotoactivas a base de alginato se realizó mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) en modo Mapeo nanomecánico cuantitativo de fuerza máxima por sus siglas en inglés (PF-QNM). Esta técnica permitió evaluar simultáneamente la topografía superficial, la rugosidad, el módulo elástico, la adhesión y la deformación, lo que proporcionó una visión integral del efecto del refuerzo con microcelulosa y de la incorporación de compuestos fotoactivos sobre las propiedades de las películas. En la Figura 4 se presentan los mapas de contorno obtenidos para las formulaciones F1, F4 y F5, mientras que las demás formulaciones se incluyen en el material suplementario. Los valores cuantitativos de rugosidad, módulo elástico, adhesión y deformación se resumen en la Tabla 2.

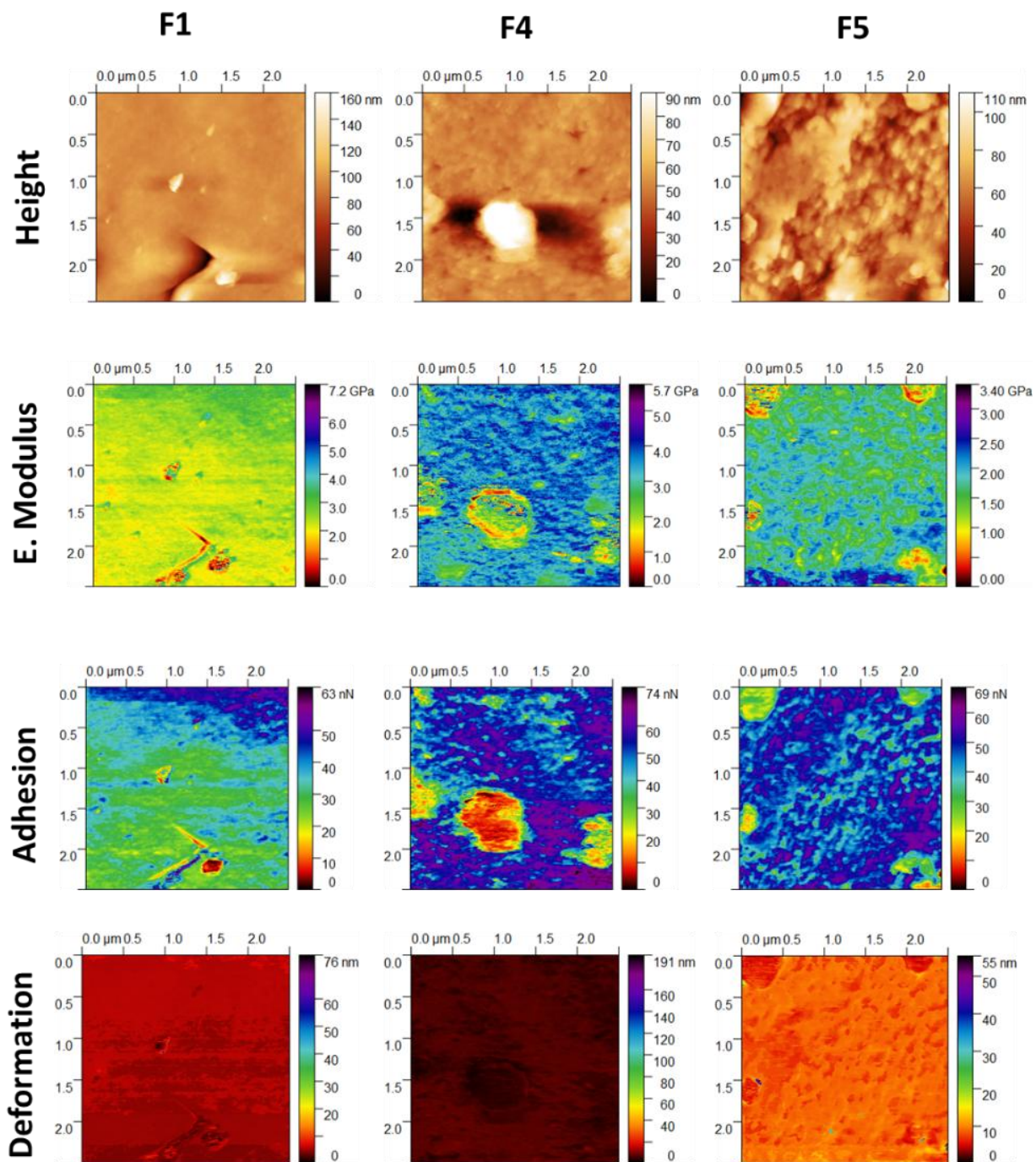
El análisis reveló que la incorporación de curcumina (Cur) y clorofilina (Chi) modificó de manera significativa las propiedades nanomecánicas de las películas. La rugosidad superficial aumentó de 10,52 nm en la película control (F1) a 13,82 nm en F4 y 14,65 nm en F5. Este aumento se atribuye a la distribución heterogénea de los fotosensibilizadores en la matriz polimérica, donde la curcumina y la clorofilina tienden a agregarse, lo que genera irregularidades en la superficie. El efecto fue más pronunciado en F5, lo cual se relaciona con la mayor concentración de clorofilina en esta formulación. El módulo elástico también mostró un incremento progresivo, pasando de 370,2 GPa en F1 a 503,3 GPa en F4 y 674,2 GPa en F5. Este aumento refleja un refuerzo en la rigidez de la matriz de alginato, producido por interacciones de

puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals entre los compuestos fotoactivos y las cadenas poliméricas. En este sentido, la clorofilina, gracias a sus grupos polares, generó una mayor restricción en la movilidad de las cadenas, lo que explica el valor más elevado en la formulación F5.

Los valores de adhesión aumentaron de 7,41 nN en F1 a 10,11 nN en F4 a 14,49 nN en F5. Este comportamiento indica que la presencia de curcumina y clorofilina favorece interacciones superficiales más intensas con la punta del microscopio, probablemente debido a su carácter polar. Por otro lado, la deformación también aumentó de 955,2 nm en F1 a 1074,7 nm en F4 y 1470,2 nm en F5. Aunque este resultado podría parecer contradictorio con el incremento del módulo elástico, se explica por la distribución heterogénea de los compuestos fotoactivos, que generan regiones más blandas y fácilmente deformables dentro de la matriz.

Figura 4.

Imágenes por AFM relacionadas con la rugosidad, el módulo elástico, la deformación y la adhesión de las diferentes películas obtenidas.



Fuente: elaboración propia.

Tabla 2.

Valores cuantitativos de rugosidad, módulo elástico, adhesión y deformación.

Película	Rugosidad media R_s (nm)	Módulo Elástico (GPa)	Deformación (nm)	Adhesión (nN)
F1	10,52	370,2	955,2	7,41
F2	2,18	229,7	715,5	2,77
F3	5,86	349,6	825,3	8,79
F4	13,82	503,3	1074,7	10,11
F5	14,65	674,2	1470,2	14,49

Fuente: elaboración propia.

Los resultados de AFM mostraron un aumento de la rugosidad superficial de las películas con la incorporación de curcumina y clorofilina, lo cual coincide con lo reportado en estudios previos, en los que la adición de aditivos funcionales genera microheterogeneidades en la matriz polimérica. Por ejemplo, Joshi et al., (2022) describen que, en biopolímeros e hidrogeles, la incorporación de nanopartículas o pigmentos fotoactivos produce un incremento en la rugosidad debido a la formación de dominios agregados. De forma similar, Rubini et al., (2021) reportaron que la inclusión de curcumina en matrices de gelatina indujo una mayor irregularidad superficial, favoreciendo la heterogeneidad topográfica. Esto sugiere que los valores obtenidos en las formulaciones F4 y F5 no solo son coherentes con la literatura, sino que también reflejan una integración efectiva de los compuestos fotoactivos en la matriz de alginato.

Por otro lado, los valores de adhesión y deformación también aumentaron en presencia de los compuestos fotoactivos, lo cual, aunque pudiera parecer contradictorio con el incremento del módulo elástico, es coherente con lo observado en otros sistemas de biopolímeros heterogéneos. Joshi et al., (2022) señalan que la coexistencia de regiones rígidas y blandas dentro de una misma matriz conduce a un comportamiento nanomecánico complejo, en el que las zonas enriquecidas

con aditivos polares tienden a presentar mayor adhesión y deformabilidad localizada. Estos hallazgos refuerzan la idea de que las películas diseñadas no solo presentan una mayor resistencia mecánica global, sino también una microestructura heterogénea que puede ser beneficiosa para aplicaciones de empaques activos, ya que facilita tanto la estabilidad física como la interacción con agentes externos durante la fotoinactivación.

En cuanto al módulo elástico, se observó un incremento significativo desde 370,2 GPa en la película control (F1) hasta 674,2 GPa en la formulación con mayor concentración de clorofilina (F5). Este comportamiento es consistente con lo señalado por Ramesan et al., (2025), quienes demostraron que la adición de nanocurcumina a matrices poliméricas mejoró la rigidez y resistencia mecánica debido a interacciones moleculares entre los grupos polares del aditivo y la red polimérica. De manera complementaria, Karimi Khorrami (et al., 2021) también reportaron un refuerzo mecánico en películas de alginato funcionalizadas con nanostructured lipid carriers, atribuyendo la mejora al incremento de las interacciones secundarias. En este contexto, los resultados indican que la clorofilina desempeña un papel dominante en la mejora de la rigidez al establecer interacciones adicionales que restringen la movilidad de las cadenas de alginato.

Análisis Estructural de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas

El análisis de la distribución de la microcelulosa dentro de las películas fotoactivas se realizó mediante microscopía confocal de barrido láser (CLSM). Esta técnica permitió la visualización selectiva de la microcelulosa, la cual exhibió una fluorescencia intensa bajo excitación ultravioleta, apareciendo como regiones brillantes dentro de la matriz polimérica. Como se muestra en la Figura 5.

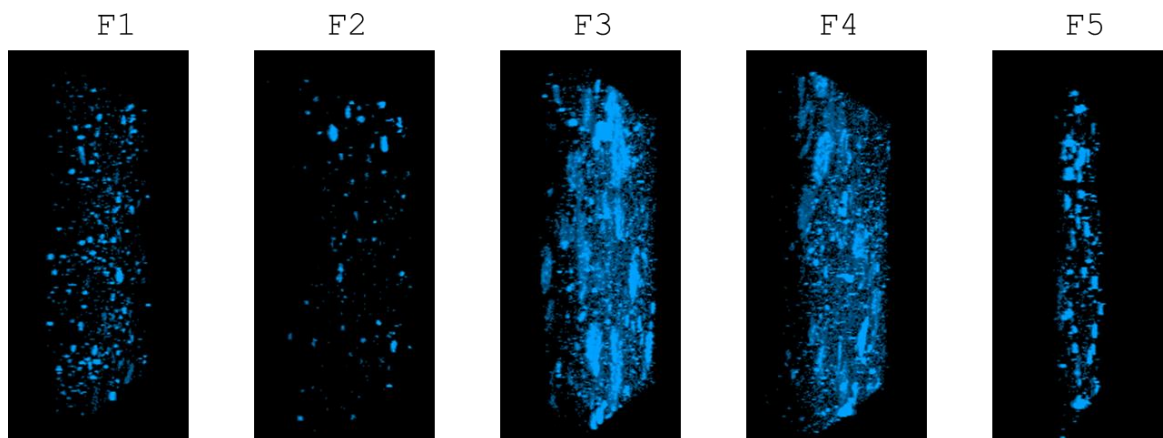
En la película control (F1), compuesta únicamente por alginato y microcelulosa, las imágenes mostraron una distribución relativamente homogénea de las partículas, caracterizada

por regiones fluorescentes uniformemente dispersas en la matriz. Esta distribución uniforme sugiere una integración adecuada de la microcelulosa, lo que favorece la formación de una red de refuerzo consistente y contribuye al mantenimiento de la integridad mecánica del material. Por el contrario, en las películas que incorporaron compuestos fotoactivos como la curcumina y la clorofilina (F3, F4 y F5), se observó una distribución heterogénea de la microcelulosa. En la formulación F3, que contiene únicamente curcumina, la microcelulosa apareció en regiones brillantes dispersas, con cierta tendencia a formar pequeños conglomerados. Este resultado sugiere que la naturaleza hidrofóbica de la curcumina podría haber influido en la dispersión de la microcelulosa, favoreciendo la formación de microdominios.

En la formulación F4, que combina curcumina y clorofilina, la microcelulosa mostró una tendencia marcada a la agregación, con la formación de cúmulos visibles en las imágenes confocales. Este efecto fue aún más pronunciado en la formulación F5, que contiene una mayor concentración de clorofilina, en la que se evidenció la presencia de grandes conglomerados densos. La interacción de la clorofilina con la matriz de alginato, sumada a sus propiedades de absorción de luz, parece favorecer la separación de fases y la aglomeración de la microcelulosa.

Figura 5.

Análisis de fluorescencia en formulaciones con reconstrucción 3D.



Fuente: elaboración propia.

El análisis por microscopía confocal reveló que la distribución de la microcelulosa fue homogénea en la película control (F1), mientras que la incorporación de curcumina y clorofilina en las formulaciones F3, F4 y F5 promovió la formación de dominios heterogéneos y cúmulos fluorescentes, especialmente marcados en F5. Este comportamiento es coherente con lo descrito por Cano et al. (2016), quienes reportaron que la adición de nanopartículas metálicas en matrices de almidón generó microdominios dispersos que alteraron la uniformidad del polímero. De forma similar, Cebrián-Lloret et al. (2022) señalaron que la integración de derivados de celulosa en películas de alginato puede inducir zonas de agregación dependiendo de la naturaleza del aditivo, lo cual afecta tanto la morfología como la distribución interna del refuerzo. Además, Urrutia et al. (2023) demostraron que la co-incorporación de curcumina y clorofilina en sistemas antimicrobianos tiende a potenciar la heterogeneidad estructural, favoreciendo la generación de microambientes diferenciados con mayor capacidad fotoactiva. En conjunto, estos resultados sugieren que la microscopía confocal no solo confirma la presencia de microcelulosa y fotosensibilizadores en la matriz, sino que también evidencia cambios morfológicos que explican el aumento de la rugosidad y de la actividad fotoactiva observada en las películas desarrolladas.

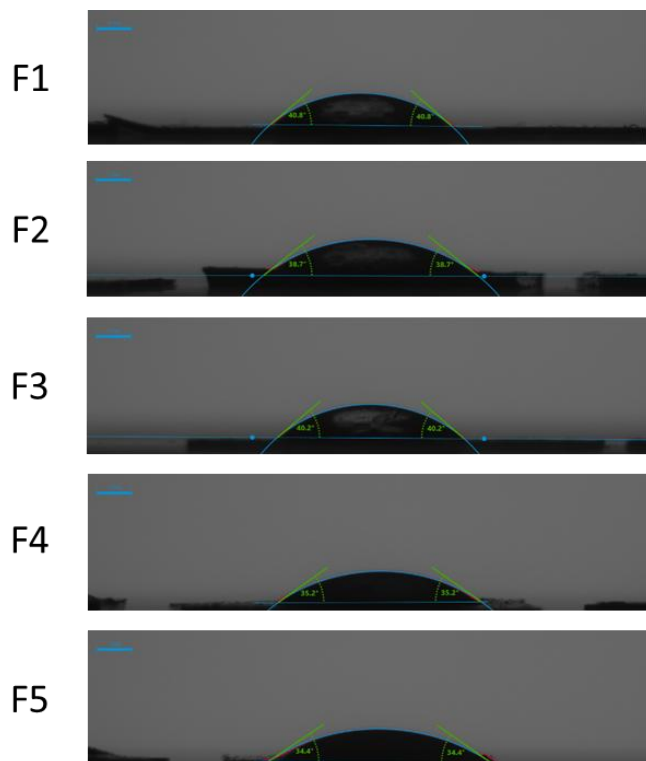
El análisis de la mojabilidad superficial de las películas se evaluó mediante la medición del ángulo de contacto con gotas de agua, lo cual permite estimar el grado de hidrofobicidad del material, que se muestra en la Figura 6. En la película control (F1), elaborada únicamente con alginato y microcelulosa, se registró un ángulo de contacto de $40,48^\circ$, lo que indica una superficie moderadamente hidrofílica, coherente con la naturaleza polar del alginato, compuesto por grupos hidroxilo y carboxilato capaces de interactuar con el agua. Al incorporar clorofilina en la formulación F2, el ángulo de contacto disminuyó a $38,66^\circ$, reflejando un incremento en la

hidrofilia del material. Este resultado se atribuye al carácter polar de la clorofilina, cuyas funciones químicas facilitan la interacción con moléculas de agua. Por el contrario, la adición de curcumina en la formulación F3 no generó cambios significativos en el valor del ángulo de contacto ($38,92^\circ$), lo que sugiere que este compuesto, de carácter más hidrofóbico, permanece mayoritariamente disperso en el interior de la matriz sin afectar de manera evidente la superficie.

En las formulaciones F4 y F5, que contienen simultáneamente curcumina y clorofilina, se observó un descenso más marcado en el ángulo de contacto, alcanzando valores de $35,22^\circ$ y $34,42^\circ$ respectivamente. Esta disminución refleja un aumento de la hidrofilia superficial, atribuible principalmente a la mayor concentración de clorofilina en estas formulaciones y a su tendencia a ubicarse en la superficie de la película, donde sus grupos polares interactúan directamente con el agua. Además, la mayor rugosidad superficial observada en los análisis de AFM para estas películas puede haber potenciado este efecto, favoreciendo una mayor interacción con el líquido.

Figura 6.

Ángulo de contacto de las películas con diferentes formulaciones.



Fuente: elaboración propia.

El análisis de la mojabilidad reveló que la incorporación de clorofilina disminuyó significativamente el ángulo de contacto en las formulaciones F2, F4 y F5, lo que indica un aumento de la hidrofilia superficial de las películas. Este resultado es consistente con lo observado por L. F. Wang et al. (2017), quienes reportaron que la adición de nanocelulosa a películas de alginato incrementa la polaridad superficial y reduce el ángulo de contacto, favoreciendo la interacción con el agua. De manera similar, Santos et al., (2022) mostraron que la inclusión de extractos fenólicos en películas biodegradables de alginato generó superficies más hidrofílicas, lo que se tradujo en una mejor permeabilidad al vapor de agua. Por otro lado, Jiang et al. (2024) señalaron que la clorofilina, debido a su naturaleza hidrosoluble y a la presencia de grupos funcionales polares, tiende a acumularse en la superficie de los materiales, lo que aumenta su afinidad por el agua. En conjunto, estas comparaciones destacan que la clorofilina desempeña un papel determinante en la modificación de la mojabilidad de las películas,

reforzando su potencial para aplicaciones en empaques activos que requieren control de la interacción con la humedad.

El análisis estructural de las películas se llevó a cabo mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía Raman y difracción de rayos X (DRX), con el fin de evaluar posibles interacciones químicas, la incorporación de los compuestos fotoactivos y el grado de organización molecular de las formulaciones. En los espectros de FTIR (Figura 7) se identificaron las bandas características del alginato, incluyendo una señal ancha alrededor de 3300 cm^{-1} asociada al estiramiento O–H, picos en 1600 y 1410 cm^{-1} correspondientes al estiramiento asimétrico y simétrico de los grupos carboxilato (COO^-), así como una banda en 1030 cm^{-1} atribuida al estiramiento C–O–C de la estructura polisacárida. Estas señales se mantuvieron constantes en posición e intensidad en todas las formulaciones, lo que demuestra que la incorporación de curcumina y clorofilina no produjo modificaciones químicas detectables en la matriz. En consecuencia, se infiere que los compuestos fotoactivos se encuentran principalmente dispersos de manera física en la red polimérica, sin establecer enlaces covalentes ni interacciones de coordinación que alteren la estructura del alginato.

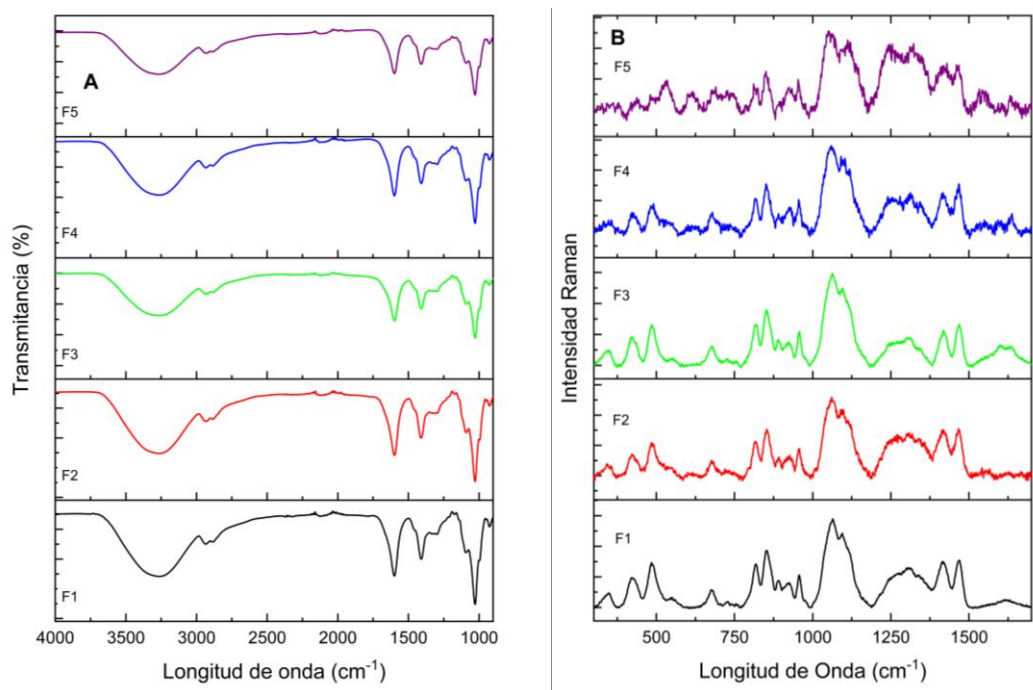
Los espectros Raman (Figura 7) aportaron información complementaria sobre la presencia de los compuestos fotoactivos dentro de la matriz. En las películas que contenían clorofilina (F2, F4 y F5) se observaron bandas características, entre ellas una señal amplia alrededor de 1770 cm^{-1} asociada al estiramiento C=O y otra en torno a 1530 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C=C del sistema porfirínico. También se identificaron bandas en la región de bajas frecuencias ($600\text{--}400\text{ cm}^{-1}$), vinculadas a vibraciones de los anillos pirrólicos y enlaces C–N. Estas señales confirman de manera directa la incorporación de la clorofilina en la matriz de alginato. En contraste, las señales atribuibles a la curcumina no fueron evidentes en los

espectros Raman, posiblemente debido a la baja actividad Raman del grupo carbonilo en su estructura β -dicetona conjugada, así como a la formación de interacciones de puentes de hidrógeno con el alginato, que reducen la intensidad vibracional.

Los patrones de DRX (Figura 8) mostraron que todas las películas (F1 a F5) presentaron una estructura predominantemente amorfa, con dos bandas anchas centradas alrededor de 22° y 40° (2θ). La ausencia de picos definidos indica un bajo grado de cristalinidad, característico de biopolímeros como el alginato. Además, la incorporación de curcumina y clorofilina no generó señales adicionales ni modificó la morfología de las existentes, lo que confirma que estos compuestos permanecen dispersos en fase amorfa dentro de la matriz, sin formar dominios cristalinos separados.

Figura 7.

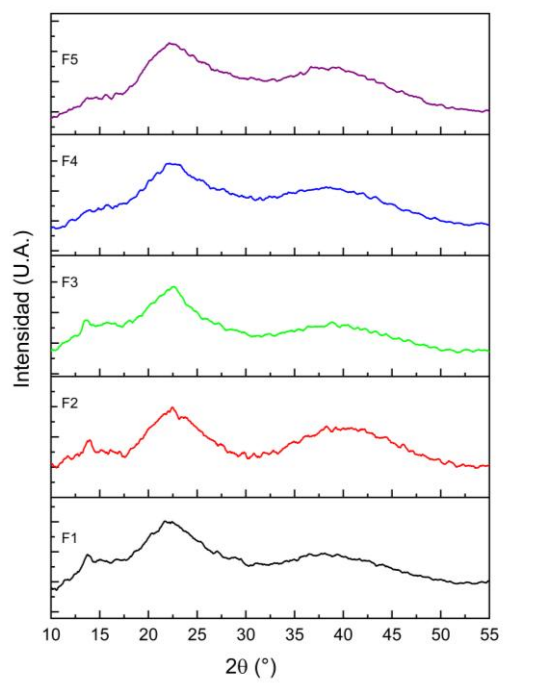
(A) Espectros FTIR de las películas con diferentes formulaciones. (B) Espectros RAMAN de las películas con diferentes formulaciones.



Fuente: elaboración propia.

Figura 8.

Difractogramas DRX de las películas con diferentes formulaciones.



Fuente: elaboración propia.

Los resultados obtenidos en el desarrollo del objetivo específico 2 se muestran a continuación.

Análisis de las Propiedades Ópticas de las Películas Fotoactivas

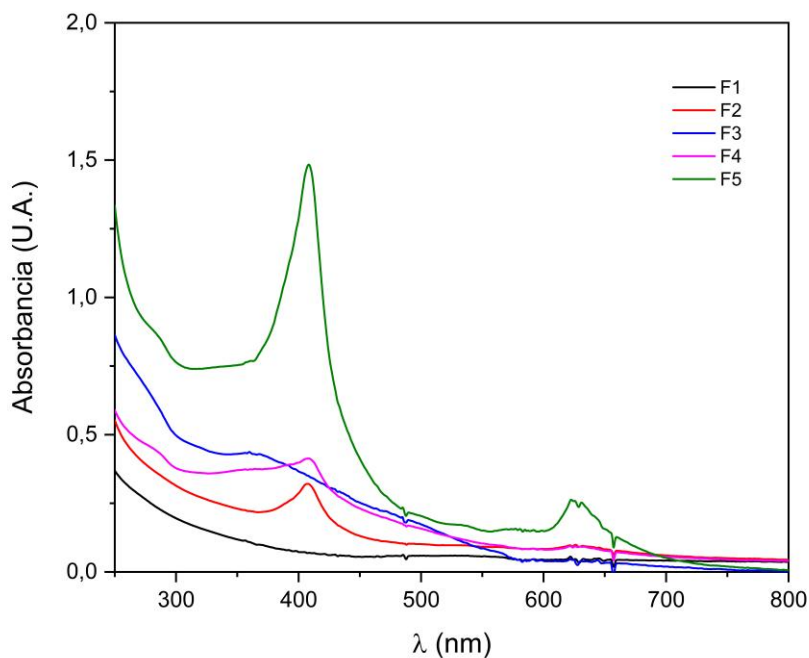
El análisis de las propiedades ópticas de las películas se realizó mediante espectroscopía UV-Vis, lo que permitió identificar las bandas de absorción características de los compuestos fotoactivos incorporados, cuyos espectros se muestran en la Figura 9. En la película control (F1), compuesta únicamente por alginato y microcelulosa, se observó un espectro prácticamente plano, con valores mínimos de absorbancia, lo que confirma su transparencia en la región de 300 a 700 nm y su carácter no fotoactivo. En contraste, las películas que contenían clorofilina (F2, F4 y F5) presentaron un pico de absorción definido alrededor de los 450 nm, correspondiente a la

banda Soret (B) característica del sistema porfirínico de este compuesto. La intensidad de esta banda aumentó de manera proporcional a la concentración de clorofilina, siendo más marcada en la formulación F5, lo que confirma su incorporación exitosa en la matriz polimérica y su efecto dependiente de la concentración.

Por su parte, las películas que contenían curcumina (F3, F4 y F5) exhibieron una banda de absorción amplia alrededor de 420 nm, atribuida a la estructura conjugada del polifenol, lo que le confiere una alta capacidad de absorción en la región visible. La intensidad de esta señal fue mayor en las formulaciones F4 y F5, en las que la curcumina se combinó con la clorofilina, lo que sugiere una interacción sinérgica entre ambos compuestos fotoactivos. La presencia simultánea de curcumina y clorofilina en las películas F4 y F5 produjo un espectro más ancho, con absorción extendida desde 400 hasta 500 nm, lo cual resulta ventajoso para aplicaciones en empaques fotoactivos, ya que amplía la ventana de absorción lumínica y, por ende, aumenta el rango de eficiencia para la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO).

Figura 9.

Espectro de absorción UV-Vis de las películas con diferentes formulaciones.



Fuente: elaboración propia.

Los resultados de espectroscopía UV-Vis confirmaron la incorporación de curcumina y clorofilina en la matriz de alginato, mostrando bandas características alrededor de 420 nm y 450–670 nm, respectivamente, y una absorción más amplia cuando ambos compuestos se combinaron en las formulaciones F4 y F5. Este comportamiento coincide con lo reportado por Perera et al. (2025), quienes observaron que películas biodegradables cargadas con curcumina presentaban una capacidad superior de absorción de radiación UV-Vis, aumentando la protección frente a la degradación fotoinducida. De manera complementaria, Jiang et al. (2024) destacaron que la clorofilina, gracias a su estructura porfirínica, amplía significativamente la ventana de absorción hacia la región del verde y del rojo, lo que incrementa la eficiencia en la generación de especies reactivas de oxígeno.

Más allá de sus propiedades ópticas, la clorofilina también desempeñó un papel dominante en la mojabilidad superficial y en el refuerzo mecánico de las películas. La

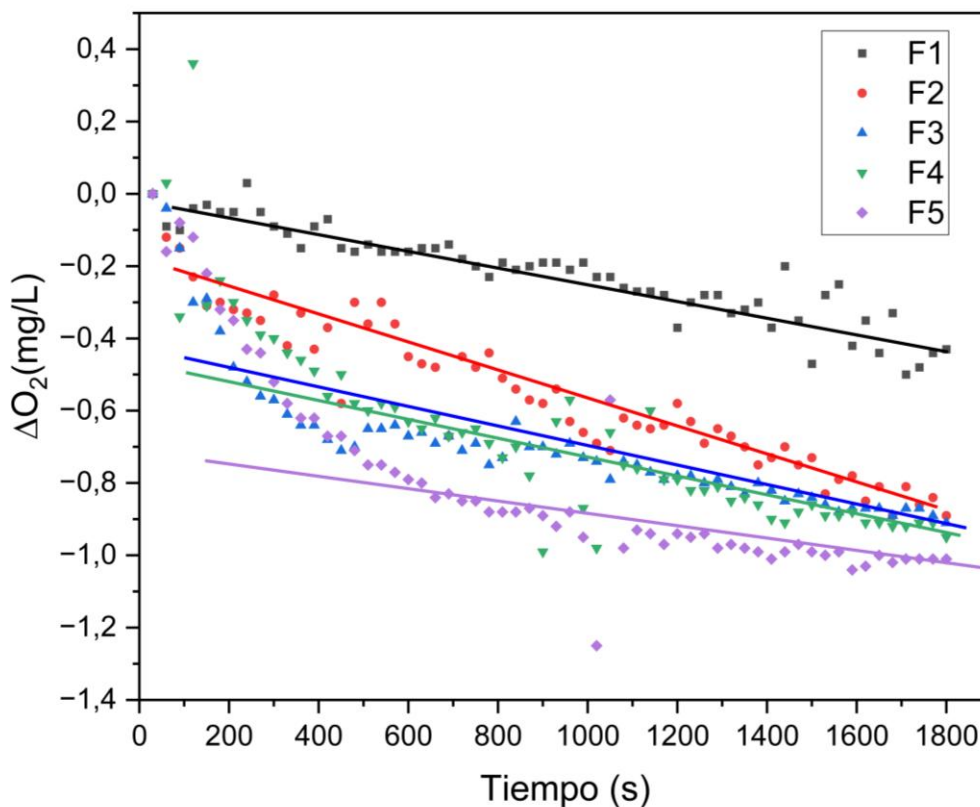
disminución del ángulo de contacto en F2, F4 y F5 demuestra que sus grupos polares tienden a ubicarse en la superficie de la matriz, incrementando la hidrofilia y favoreciendo la interacción con el agua. Estos hallazgos son consistentes con lo planteado por Jiang et al. (2024), quienes resaltaron la afinidad de la clorofilina por entornos polares, así como con Nabi et al. (2023), quienes señalaron que este pigmento no solo amplía la absorción lumínica, sino que también mejora la estabilidad y la selectividad de los materiales fotoactivos. En conjunto, estos resultados indican que la co-incorporación de curcumina y clorofilina genera un efecto sinérgico, dotando a las películas de un espectro de absorción más amplio y de una superficie más hidrofílica, propiedades altamente favorables para su aplicación en empaques fotoactivos con capacidad de fotoinactivación antimicrobiana.

Análisis de Consumo de Oxígeno y Producción de ERO

En la Figura 10 se muestran los resultados de consumo de oxígeno en función del tiempo con irradiación constante. Como se observa en la figura, las películas con fotosensibilizadores presentaron un mayor consumo de oxígeno, lo que indica la formación de especies reactivas de oxígeno. En este sentido, la película F1 que no contiene fotosensibilizadoras presentó bajos valores de consumo de oxígeno, probablemente atribuidos a la presencia de moléculas orgánicas con capacidad de producir ERO. Por otro lado, los valores altos observados para F5 se atribuyen a un efecto sinérgico de la clorofilina y curcumina. Estos resultados permiten establecer el potencial uso de las películas obtenidas como agentes en la inactivación fotodinámica de microorganismo en productos alimenticios.

Figura 10.

Consumo de oxígeno en función del tiempo de irradiación en las diferentes películas.



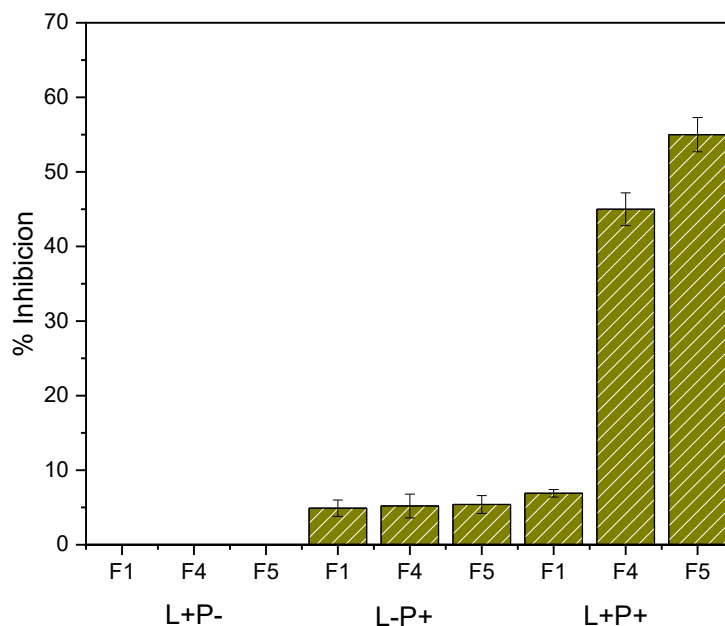
Fuente: elaboración propia.

Inhibición de las Esporas de *A. Niger*

El análisis de la fotoinactivación de las esporas de *A. niger* bajo diferentes tratamientos con o sin luz (L+; L-) y en presencia o ausencia de las películas fotoactivas (P+; P-) se muestra en la Figura 11. Como se observa en dicha figura, las lámparas LED utilizadas presentan 0% de inhibición por sí solas, lo que descarta efectos de fototoxicidad generados por el proceso de irradiación exclusivamente. Por otro lado, los ensayos en oscuridad y en presencia de las películas mostraron una actividad antifúngica similar, cercana al 5%, que puede atribuirse al efecto de algunos componentes de las películas que migran hacia la solución y dañan la estructura de la espora. Este tipo de fenómeno fue observado (Arboleda-Murillo et al., 2023; Sánchez-Castañeda et al., 2025); sin embargo, al no superar el 5%, no puede considerarse un efecto significativo. Finalmente, en el caso de las esporas sometidas a procesos de

fotoinactivación en presencia de las películas fotoactivas se observó que en el caso de las películas F1, causa una inhibición cercana al 10% que puede atribuirse a una pequeña producción de especies reactivas de oxígeno generadas por la materia orgánica liberada desde la película. En el caso de F4 y F5 se observaron valores cercanos al 50% y al 60% de inhibición, respectivamente. Esto se debe a la presencia de ambos fotosensibilizadores que, una vez irradiados, generan especies reactivas de oxígeno que dañan la estructura de la espora.

Figura 11. % de Inhibición de las esporas de *A. niger* sometidas a diferentes tratamientos. L+ con irradiación; L- sin irradiación, P+ en presencia de películas y P- en ausencia de las películas.



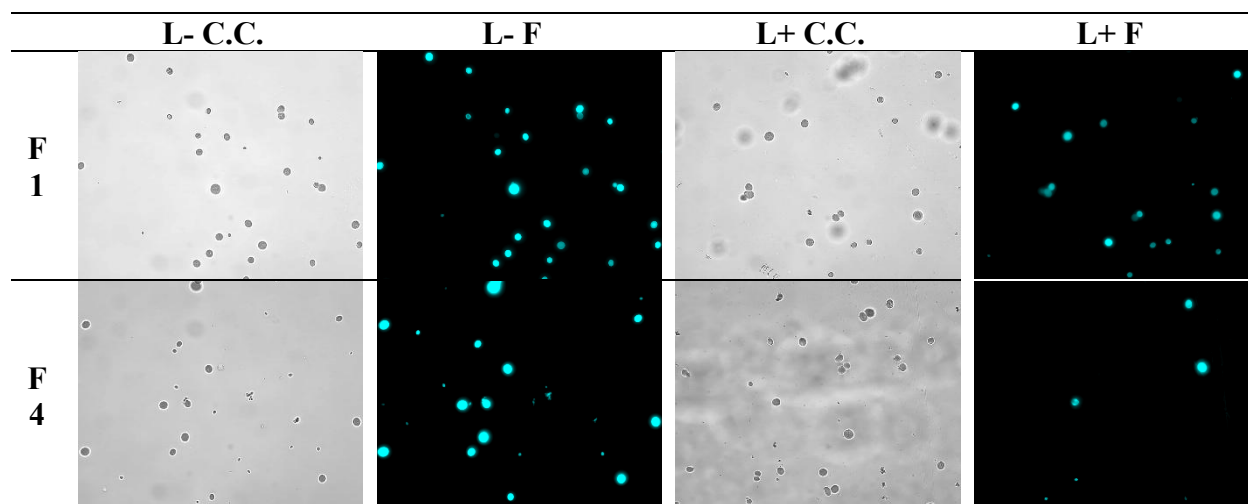
Fuente: elaboración propia.

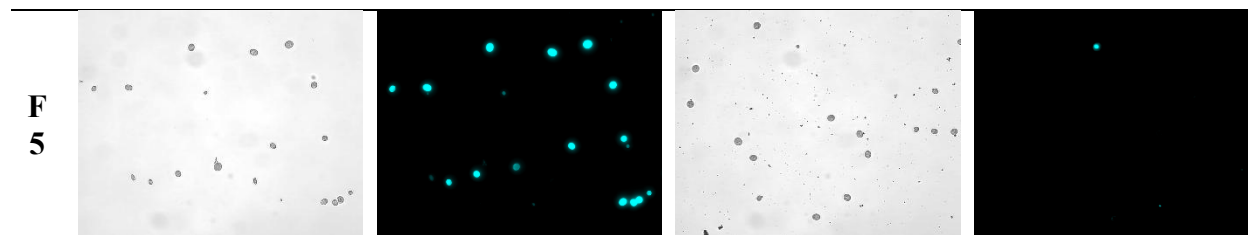
Con el fin de visualizar los posibles daños causados en las esporas por los procesos de inhibición, se realizaron estudios de microscopía de campo claro (C.C.) y fluorescencia (F) en presencia del marcador blanco de calcofluor, tal como se muestran en la

Tabla 3. En todos los casos, las esporas presentan su forma circular característica y en el caso de las imágenes de microscopía de C.C. Por otro lado, en las imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia se observa que el número de esporas que fluórese cambia considerablemente con respecto a las imágenes de C.C, esto se debe a que el blanco de calcofluor es un marcador de estructura de membrana que solo fluorescen cuando la membrana de la espora se encuentra en perfectas condiciones y deja de fluóreser cuando esta dañada. En este sentido, la desaparición de la fluorescencia de algunas esporas que fueron sometidas al tratamiento con luz indica que las especies reactivas de oxígeno dañan su estructura externa y, por tanto, inhiben el crecimiento.

Tabla 3

Imágenes de las esporas de A. niger en presencia de diferentes películas fotoactivas y en ausencia y presencia de luz (L+ y L-) obtenidas en microscopía de campo claro (C.C.) y de fluorescencia (F) utilizando blanco de calcofluor como marcador.





Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

El desarrollo de empaques fotoactivos a base de alginato, curcumina y clorofilina representa una alternativa biodegradable frente a los empaques convencionales derivados del petróleo. Estos biopolímeros, combinados con fotosensibilizadores naturales, demostraron ser una solución viable para reducir el impacto ambiental y, al mismo tiempo, posiblemente mejorar la conservación de alimentos, alineándose con las tendencias actuales de sostenibilidad y economía circular en la industria alimentaria.

Las películas que fueron obtenidas mostraron mejoras significativas en sus propiedades nanomecánicas, ópticas y superficiales gracias a la incorporación de curcumina y clorofilina. A su vez, se observó un aumento de la rigidez, la rugosidad y la adhesión, así como una mayor hidrofiliidad y una mayor capacidad de absorción de luz visible, lo que confirma la interacción sinérgica entre ambos compuestos. Estas características refuerzan su potencial como materiales activos con capacidad de respuesta a estímulos luminosos, esenciales para su desempeño como empaques fotoactivos.

Los ensayos de fotoinactivación demostraron que las películas funcionalizadas, especialmente las formulaciones con mayor concentración de clorofilina, presentan una elevada generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y una inhibición significativa de las esporas de *Aspergillus niger* bajo irradiación LED. Esto confirma que los empaques diseñados poseen

una actividad antimicrobiana efectiva inducida por luz, capaz de contribuir a la extensión de la vida útil de alimentos frescos mediante un mecanismo limpio, no térmico y libre de químicos sintéticos.

Referencias

- Acevedo-Guevara, L., Nieto-Suaza, L., Sanchez, L. T., Pinzon, M. I., & Villa, C. C. (2018). Development of native and modified banana starch nanoparticles as vehicles for curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, *111*, 498–504. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.01.063>
- Adnane, F., El-Zayat, E., & Fahmy, H. M. (2022). The combinational application of photodynamic therapy and nanotechnology in skin cancer treatment: A review. *Tissue and Cell*, *77*, 101856. <https://doi.org/10.1016/J.TICE.2022.101856>
- Arboleda-Murillo, J. A., Cañon-Ibarra, A. F., Sanchez, L. T., Pinzon, M. I., & Villa, C. C. (2023). Applications of curcumin loaded nanoemulsions in photoinactivation of *Aspergillus niger* spores. *JSFA Reports*, *3*(7), 299–303. <https://doi.org/10.1002/JSF2.134;WGROU:STRING:PUBLICATION>
- Bilbao-Sáinz, C., Avena-Bustillos, R. J., Wood, D. F., Williams, T. G., & McHugh, T. H. (2010). Nanoemulsions Prepared by a Low-Energy Emulsification Method Applied to Edible Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(22), 11932–11938. <https://doi.org/10.1021/JF102341R>
- Borgheti-Cardoso, L. N., Viegas, J. S. R., Silvestrini, A. V. P., Caron, A. L., Praça, F. G., Kravicz, M., & Bentley, M. V. L. B. (2020). Nanotechnology approaches in the current therapy of skin cancer. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *153*, 109–136. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2020.02.005>
- Brasch, J., Beck-Jendroschek, V., & Mahn, V. (2018). Photochemical inhibition of *Trichophyton rubrum* by different compoundings of curcumin. *Mycoses*, *61*(6), 393–399. <https://doi.org/10.1111/MYC.12758>
- Cano, A., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2016a). Development and characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles. *Food Packaging and Shelf Life*, *10*, 16–24. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2016.07.002>

- Cano, A., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2016b). Development and characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles. *Food Packaging and Shelf Life*, *10*, 16–24. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2016.07.002>
- Cebrián-Lloret, V., Metz, M., Martínez-Abad, A., Knutsen, S. H., Ballance, S., López-Rubio, A., & Martínez-Sanz, M. (2022). Valorization of alginate-extracted seaweed biomass for the development of cellulose-based packaging films. *Algal Research*, *61*, 102576. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102576>
- Criado, M., Rebollar, E., Nogales, A., Ezquerra, T. A., Boulmedais, F., Mijangos, C., & Hernández, R. (2017). Quantitative Nanomechanical Properties of Multilayer Films Made of Polysaccharides through Spray Assisted Layer-by-Layer Assembly. *Biomacromolecules*, *18*(1), 169–177. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01449>
- DANE. (2022). *Informe de avance: Submesas de información de Economía Circular*. Bogotá, Colombia.
- Dong, Y., Xie, Y., Ma, X., Yan, L., Yu, H. Y., Yang, M., Abdalkarim, S. Y. H., & Jia, B. (2023a). Multi-functional nanocellulose based nanocomposites for biodegradable food packaging: Hybridization, fabrication, key properties and application. *Carbohydrate Polymers*, *321*, 121325. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.121325>
- Dong, Y., Xie, Y., Ma, X., Yan, L., Yu, H. Y., Yang, M., Abdalkarim, S. Y. H., & Jia, B. (2023b). Multi-functional nanocellulose based nanocomposites for biodegradable food packaging: Hybridization, fabrication, key properties and application. *Carbohydrate Polymers*, *321*, 121325. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.121325>
- Du, T., Li, X., Wang, S. C., Su, Z., sun, H., Wang, J., & Zhang, W. (2023). Phytochemicals-based edible coating for photodynamic preservation of fresh-cut apples. *Food Research International*, *163*, 112293. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.112293>
- Gomes de Menezes, F. L., de Lima Leite, R. H., Gomes dos Santos, F. K., Aria, A. I., & Aroucha, E. M. M. (2021a). TiO₂-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *630*, 127661. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2021.127661>
- Gomes de Menezes, F. L., de Lima Leite, R. H., Gomes dos Santos, F. K., Aria, A. I., & Aroucha, E. M. M. (2021b). TiO₂-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for

- sustainable food packaging. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 630, 127661. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2021.127661>
- Jiang, C., Scholle, F., Jin, F., Wei, Q., Wang, Q., & Ghiladi, R. A. (2024). Chlorophyllin as a photosensitizer in photodynamic antimicrobial materials. *Cellulose*, 31(4), 2475–2491. <https://doi.org/10.1007/S10570-024-05758-3/FIGURES/10>
- Joshi, J., Homburg, S. V., & Ehrmann, A. (2022). Atomic Force Microscopy (AFM) on Biopolymers and Hydrogels for Biotechnological Applications—Possibilities and Limits. *Polymers 2022, Vol. 14, Page 1267, 14(6)*, 1267. <https://doi.org/10.3390/POLYM14061267>
- Karimi Khorrami, N., Radi, M., Amiri, S., & McClements, D. J. (2021). Fabrication and characterization of alginate-based films functionalized with nanostructured lipid carriers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 373–384. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.03.159>
- Kodithuwakku, P., Jayasundara, D. R., Munaweera, I., Jayasinghe, R., Thoradeniya, T., Weerasekera, M., Ajayan, P. M., & Kottegoda, N. (2022). A review on recent developments in structural modification of TiO₂ for food packaging applications. *Progress in Solid State Chemistry*, 67, 100369. <https://doi.org/10.1016/J.PROGSOLIDSTCHEM.2022.100369>
- Maghsoudi, A., Yazdian, F., Shahmoradi, S., Ghaderi, L., Hemati, M., & Amoabediny, G. (2017). Curcumin-loaded polysaccharide nanoparticles: Optimization and anticariogenic activity against *Streptococcus mutans*. *Materials Science and Engineering: C*, 75, 1259–1267. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2017.03.032>
- Nabi, B. G., Mukhtar, K., Ahmed, W., Manzoor, M. F., Ranjha, M. M. A. N., Kieliszek, M., Bhat, Z. F., & Aadil, R. M. (2023). Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as colorants in food products. *Food Bioscience*, 52, 102403. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2023.102403>
- Nath, P. C., Sharma, R., Debnath, S., Sharma, M., Inbaraj, B. S., Dikkala, P. K., Nayak, P. K., & Sridhar, K. (2023a). Recent trends in polysaccharide-based biodegradable polymers for smart food packaging industry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127524. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.127524>

- Nath, P. C., Sharma, R., Debnath, S., Sharma, M., Inbaraj, B. S., Dikkala, P. K., Nayak, P. K., & Sridhar, K. (2023b). Recent trends in polysaccharide-based biodegradable polymers for smart food packaging industry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127524. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.127524>
- Perera, K. Y., Mathew, S. S., Carnaval, L. de S. C., Pradhan, D., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2025). Biodegradable curcumin-nanoclay films for extending shrimp shelf-life and freshness. *Current Research in Food Science*, 10, 101102. <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2025.101102>
- Ramesan, M. T., Gopika, R., Rahman, T. T. K., Jamsheena, K. T., & Bahuleyan, B. K. (2025). Impact of nanocurcumin on mechanical, optical and electrical properties of chitosan/polyvinyl alcohol blend nanocomposites for sustainable applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 309, 142976. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2025.142976>
- Rodoni, L. M., & Lemoine, M. L. (2023). Shedding light about the use of photosensitizers and photodynamic treatments during postharvest of fruit and vegetables: Current and future state. *Postharvest Biology and Technology*, 204, 112463. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2023.112463>
- Rubini, K., Boanini, E., Parmeggiani, S., & Bigi, A. (2021). Curcumin-Functionalized Gelatin Films: Antioxidant Materials with Modulated Physico-Chemical Properties. *Polymers* 2021, Vol. 13, Page 1824, 13(11), 1824. <https://doi.org/10.3390/POLYM13111824>
- Sadeghi, R., Daniella, Z., Uzun, S., & Kokini, J. (2017). Effects of starch composition and type of non-solvent on the formation of starch nanoparticles and improvement of curcumin stability in aqueous media. *Journal of Cereal Science*, 76, 122–130. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2017.05.020>
- Sanchez-Castañeda, M. P., Sanchez, L. T., Blach, D., & Villa, C. C. (2025). Photodynamic antifungal activity of curcumin-capped TiO₂ nanoparticles: A colorant-based photochemical approach for packaging applications. *Photochemistry and Photobiology*. <https://doi.org/10.1111/PHP.70020>
- Santos, L. G., Alves-Silva, G. F., & Martins, V. G. (2022). Active-intelligent and biodegradable sodium alginate films loaded with *Clitoria ternatea* anthocyanin-rich

- extract to preserve and monitor food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220, 866–877. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.08.120>
- Urrutia, A., Orellana, L., Sierra, K. S., Reina, M., Figueroa, J. C., Jackson, A. P., Macklin, K. S., Buhr, R. J., & Bourassa, D. V. (2023). In vitro Effect of Photoactive Compounds Curcumin and Chlorophyllin Against Single Strains of Salmonella and Campylobacter. *Journal of Food Protection*, 86(11), 100157. <https://doi.org/10.1016/J.JFP.2023.100157>
- Wang, D., Kyere, E., & Sadiq, F. A. (2021). New trends in photodynamic inactivation (Pdi) combating biofilms in the food industry—a review. In *Foods* (Vol. 10, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods10112587>
- Wang, L. F., Shankar, S., & Rhim, J. W. (2017). Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. *Food Hydrocolloids*, 63, 201–208. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.08.041>
- Woszczak, L., Khachatryan, K., Krystyjan, M., Witczak, T., Witczak, M., Gałkowska, D., Makarewicz, M., & Khachatryan, G. (2023a). Physicochemical and Functional Properties and Storage Stability of Chitosan–Starch Films Containing Micellar Nano/Microstructures with Turmeric and Hibiscus Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15). <https://doi.org/10.3390/ijms241512218>
- Woszczak, L., Khachatryan, K., Krystyjan, M., Witczak, T., Witczak, M., Gałkowska, D., Makarewicz, M., & Khachatryan, G. (2023b). Physicochemical and Functional Properties and Storage Stability of Chitosan–Starch Films Containing Micellar Nano/Microstructures with Turmeric and Hibiscus Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15). <https://doi.org/10.3390/ijms241512218>
- Yu, X., Zou, Y., Zhang, Z., Wei, T., Ye, Z., Yuk, H. G., & Zheng, Q. (2022). Recent advances in antimicrobial applications of curcumin-mediated photodynamic inactivation in foods. *Food Control*, 138, 108986. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2022.108986>
- Zhang, S., Chen, Z., Deng, Z., Fu, P., Yu, Y., Zhuang, Q., Yu, X., Chen, H., Li, A., & Zheng, L. (2024). The value of calcofluor white in the diagnosis of invasive fungal diseases. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 108(4), 116186. <https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2024.116186>

Zhang, Y., & Jiang, W. (2023). Effective strategies to enhance ultraviolet barrier ability in biodegradable polymer-based films/coatings for fruit and vegetable packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 139, 104139. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.104139>