

Physical properties and antimicrobial activity of mango starch active films reinforced with biosynthesized silver nanoparticles

Renny Nazario-Naveda¹, Moisés Gallozzo-Cárdenas², Luis Angelats-Silva³, Luis Cabanillas-Chirinos⁴ and Santiago M. Benites¹

¹Vicerrectorado de Investigación, Universidad Autónoma del Perú, Lima 15842, Perú, renny.nazario@autonoma.pe, santiago.benites@autonoma.pe

²Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad César Vallejo, Trujillo 13001, Perú; mmgallozzo@ucvvirtual.edu.pe

³Laboratorio de Investigación Multidisciplinario, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo 13008, Perú; langelatss@upao.edu.pe

⁴Instituto de Investigación en Ciencia y Tecnología, Universidad César Vallejo, Trujillo 13001, Perú; lcabanillas@ucvvirtual.edu.pe

Abstract– The following research aims to improve the properties of biodegradable active films based on mango seed starch by incorporating biosynthesized silver nanoparticles. Silver nanoparticles were manufactured by green route from grape residues and were added in the film gelatinization process at concentrations of 3% and 6% v/v and compared with control films (0%). The silver nanoparticles were characterized by UV-Vis spectroscopy and DLS analysis to determine the size distribution profile. Films morphology was analyzed by SEM and the integration of silver nanoparticles in biodegradable films was confirmed by EDS analysis. Thermic stability was studied by TGA curves, mechanical properties and antibacterial activity were also studied. The increase in the percentage of silver nanoparticles produces an improvement in its mechanical properties, also, TGA analysis shows an improvement on thermal stability attributed to the good integration of the nanoparticles in the polymeric matrix. Furthermore, films exhibited antimicrobial activity against E. coli and S. aureus bacteria and C. albicans fungi.

Keywords– Silver nanoparticles, biopolymers, mango seed starch, antibacterial activity, bio-synthesis.

Propiedades físicas y actividad antimicrobiana de películas activas de almidón de mango reforzadas con nanopartículas de plata biosintetizadas

Renny Nazario-Naveda¹, Moisés Gallozzo-Cárdenas², Luis Angelats-Silva³, Luis Cabanillas-Chirinos⁴ and Santiago M. Benites¹

¹Vicerrectorado de Investigación, Universidad Autónoma del Perú, Lima 15842, Perú, renny.nazario@autonoma.pe, santiago.benites@autonoma.pe

²Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad César Vallejo, Trujillo 13001, Perú; mmgallozzo@ucvvirtual.edu.pe

³Laboratorio de Investigación Multidisciplinario, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo 13008, Perú; langelatss@upao.edu.pe

⁴Instituto de Investigación en Ciencia y Tecnología, Universidad César Vallejo, Trujillo 13001, Perú; lcabanillas@ucvvirtual.edu.pe

Resumen– La presente investigación tiene como objetivo mejorar las propiedades de películas activas biodegradables basadas en almidón de semilla de mango mediante la incorporación de nanopartículas de plata biosintetizadas. Las nanopartículas de plata se fabricaron por ruta verde a partir de residuos de uva y fueron agregadas en el proceso de gelatinización de la película en concentraciones de 3% y 6% v/v y se compararon con películas control (0%). Las nanopartículas de plata se caracterizaron mediante espectroscopia UV-Vis y análisis DLS para determinar el perfil de distribución de tamaño. La morfología de las películas se analizó mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y la integración de las nanopartículas de plata en las películas biodegradables se confirmó mediante análisis EDS. La estabilidad térmica se estudió mediante análisis TGA, también se estudiaron las propiedades mecánicas y la actividad antimicrobiana. Se encontró que el aumento en el porcentaje de nanopartículas de plata produce una mejora en sus propiedades mecánicas, así como una mejora en la estabilidad térmica atribuida a la buena integración de las nanopartículas en la matriz polimérica. Además, las películas exhibieron actividad antimicrobiana contra las bacterias *E. coli*, *S. aureus* y el hongo *C. albicans*.

Palabras clave– Nanopartículas de plata, biopolímeros, almidón de semilla de mango, actividad antibacteriana, biosíntesis.

I. INTRODUCCIÓN

Los biopolímeros son materiales que han sido ampliamente estudiados en los últimos años debido a sus buenas propiedades mecánicas y térmicas, los cuales han sido utilizados en diferentes aplicaciones, incluyendo su uso como empaques activos en el almacenamiento y transporte de frutas y verduras, sustituyendo así a los plásticos tradicionales y sus conocidos efectos negativos [1,2]. Las materias primas para la fabricación de biopolímeros pueden ser muy variadas, algunas fuentes renovables son el almidón de maíz, papa o yuca, fibras de piña, plátano, entre otros [3-5], destacando las películas elaboradas a partir de almidón por ser económicas y presentar buenas propiedades físicas y mecánicas [6-7]. Una de las

frutas con mayor potencial como fuente de materia prima para la fabricación de biopolímeros es el mango, debido a su alto consumo se pueden obtener grandes cantidades de subproductos (semilla y cáscara) [8,9]. Aprovechar estos subproductos agrícolas no solo contribuiría a contrarrestar la falta de políticas adecuadas para su manejo, sino que también permitiría la implementación de una economía circular, en beneficio de los productores. Las semillas, en particular, contienen una cantidad significativa de almidón con abundantes macromoléculas (amilasa y amilopectina), lo que las convierte en una opción viable para la fabricación de bioplásticos [10-12].

Para proporcionar biopolímeros con características activas, en las que el producto y el medio ambiente interactúen para preservar la calidad del producto y prolongar su vida útil [13,14]; se han probado diferentes aditivos como antioxidantes y materiales nanotecnológicos [15-18]. El uso de nanopartículas de óxidos metálicos en biopolímeros mejora sus propiedades mecánicas, térmicas y de permeabilidad [19,20]. Por ejemplo, Ref. [21] utilizó nanopartículas de MgO para mejorar las propiedades fisicoquímicas de biopolímeros antibacterianos/antioxidantes basados en almidón modificado y albúmina. Los resultados mostraron una buena integración de nanopartículas de MgO en las películas y se observó que con la adición de estas el contenido de humedad, la solubilidad en agua y la permeabilidad al vapor de agua disminuyeron, mientras que la actividad antioxidante aumentó. También se demostraron las propiedades antimicrobianas de las películas contra *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Por otro lado, Ref. [22] fabricó bioplásticos a base de almidón de semilla de mango y nanopartículas de ZnO como relleno. Se encontró que con una concentración de 6% de nanopartículas de ZnO la resistencia a la tracción de los bioplásticos fue de 3.78 MPa, con un alargamiento hasta la

rotura de 2.23%. Además, se presentó una morfología superficial y dispersión mejoradas.

Las nanopartículas de plata son hasta el momento el material con mayor potencial reconocido por sus propiedades antimicrobianas [23-25]. Ref. [26] estudió la capacidad antimicrobiana de compuestos de almidón incorporados con nanopartículas de plata. Las nanopartículas utilizadas variaron en tamaño de 5 a 20 nm. El aumento de nanopartículas de plata provocó una disminución en la permeabilidad al vapor de agua. Además, se obtuvieron materiales más resistentes, con superficies lisas y homogéneas. También se verificó la capacidad antimicrobiana contra *E. coli* y *Salmonella spp.* Mientras que, la Ref. [27] presentó la integración de nanopartículas de plata en polímeros biodegradables. Los resultados mostraron estabilidad térmica de las películas compuestas, mientras que la resistencia a la tracción y las propiedades antimicrobianas aumentaron después de la incorporación de nanopartículas de plata. Además, las películas exhibieron una actividad antimicrobiana mejorada contra *E. coli* y *S. aureus*. Asimismo, Ref. [28] fabricó películas nanocompuestas de gelatina activa con nanopartículas de plata. La incorporación de estas resultó en una disminución sustancial en la permeabilidad al vapor de agua y la resistencia a la tracción de las películas. Además, las películas nanocompuestas exhibieron una fuerte actividad antibacteriana contra patógenos transmitidos por alimentos. Por otro lado, Ref. [29] preparó películas de metilcelulosa que contenían nanopartículas de plata biosintetizadas para envases activos biodegradables. Su incorporación provocó una disminución en la resistencia a la tracción y el módulo elástico, pero un aumento en la elongación. También se observó una actividad antioxidante superior en las películas con nanopartículas de plata incorporadas.

Como se ha demostrado, los polímeros incorporados con nanopartículas de plata han sido ampliamente investigados debido a su relativamente fácil integración a matrices poliméricas, mejorando sus propiedades, lo que genera expectativas para un uso más amplio en la industria, sin embargo, son pocos los trabajos en los que se utiliza almidón de semilla de mango. Los métodos de síntesis de nanopartículas desarrollados logran nanoestructuras de diferentes formas y tamaños. En los últimos años, las investigaciones se han enfocado en la producción de nanopartículas por métodos más amigables con el medio ambiente, donde se reemplazan los químicos sintéticos por compuestos orgánicos encargados del proceso de reducción de los precursores [30-32]. El presente trabajo tiene como objetivo fabricar películas activas a partir de almidón de semilla de mango incorporadas con diferentes concentraciones de nanopartículas de plata biosintetizadas, y verificar su efecto sobre sus propiedades físicas y antimicrobianas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Biosíntesis de nanopartículas de plata

El proceso de biosíntesis se llevó a cabo utilizando el método empleado por Ref. [33]. Se utilizó como precursor nitrato de plata (AgNO_3) de Merck a una concentración de 1 mM disuelto en agua destilada. Esta solución se mantuvo a 60 °C durante 10 min con agitación magnética, luego se le añadió gota a gota extracto alcohólico de residuos de uva, usado como agente reductor. Finalmente, se alcanzó un pH de 10 añadiendo hidróxido de sodio (NaOH), manteniendo la agitación magnética en todo momento. Al final, la solución coloidal de nanopartículas se mantuvo almacenada a 4 °C aislada de toda fuente de luz.

B. Producción de almidón

Los residuos de mango (*Mangifera indica*) de la variedad Edward fueron recolectados de un mercado local de la ciudad de Trujillo, Perú. A la pulpa se le retiraron las semillas, se retiró la capa exterior dejando libre el endospermo para ser lavado con agua limpia y cortado en trozos pequeños, luego fueron triturados en una licuadora agregándole agua destilada. Luego de ser triturados, el lodo fue filtrado, obteniendo almidón suspendido en agua, este fue colocado en un recipiente y dejado reposar por 5 horas. El sedimento de almidón obtenido fue separado del líquido por decantación y lavado con agua destilada, se dejó reposar por segunda vez y se repitió el proceso de decantación. Finalmente, el sedimento obtenido fue secado a temperatura ambiente por 24 horas, triturado para ser pulverizado y luego almacenado en un lugar seco (Fig. 1).



Fig. 1 Imagen microscópica de partículas de almidón de semilla de mango.

C. Fabricación de películas

Las películas fueron elaboradas mediante el método de fundición. El almidón de semilla de mango se dispersó en agua destilada, luego se adicionó glicerina (Baker), ácido acético (Merck) y nanopartículas de plata en estado coloidal en proporciones de 0%, 3% y 6% v/v, manteniendo la solución en agitación y a una temperatura de 70 °C. Posteriormente se agregó gota a gota hidróxido de sodio (Merck) al 0.01 M hasta alcanzar un pH neutro. Para esta medición se utilizó un medidor de pH marca Hach HQ40D. Al gelatinizarse, la mezcla se colocó en una caja Petri para la formación de

películas mediante secado y luego se almacenó a temperatura ambiente.

Las películas fabricadas presentaron un color transparente amarillento que se oscurece con el aumento de la concentración de nanopartículas de plata (Fig. 2). La coloración depende de la matriz utilizada en el polímero; generalmente, los biopolímeros formados a partir del almidón de semilla de mango presentan inicialmente esta coloración [34], pero la tendencia al oscurecimiento en la coloración se debe a la presencia de las nanopartículas de plata como se observa en [26,35].

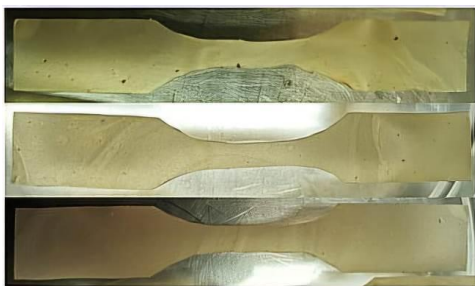


Fig. 2 Muestras de películas elaboradas con almidón de semilla de mango incorporadas, de arriba hacia abajo, con 0%, 3% y 6% de nanopartículas de plata.

D. Técnicas de caracterización

Las muestras coloidales de nanopartículas de plata se caracterizaron mediante espectrofotometría UV-Vis (Shimadzu, UV 1900, Tokio, Japón) para evaluar la presencia del pico de plasmón típico de las nanoestructuras de plata. Además, se realizó un análisis de dispersión de luz dinámica (Nicom Nano Z3000) para caracterizar la distribución de tamaño. Por otro lado, el análisis microestructural de las películas bioplásticas se realizó utilizando un microscopio electrónico de barrido (Vega 3 LMU Tescan). Muestras de $1 \times 1 \text{ cm}^2$ fueron recubiertas con una fina capa de carbono para mejorar la resolución de la imagen y se observaron utilizando un voltaje de aceleración de 5 kV. Se utilizó espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para analizar los grupos funcionales de las películas. Se utilizó un espectrofotómetro de transformada de Fourier Thermo Scientific IS50 y el espectro para cada muestra se realizó con 20 escaneos en un rango de frecuencia de 4000 a 700 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . La descomposición térmica de las muestras se midió bajo atmósfera de nitrógeno utilizando un equipo SETSYS Evolution TGA-DTA/DSC (SETARAM Instrumentation, Francia) en el rango de temperatura de 25 a $600 \text{ }^\circ\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. Los ensayos de esfuerzo de tracción y deformación a la rotura se llevaron a cabo siguiendo la norma ASTM D638 con un sistema de tracción a una velocidad constante de 2 mm/s , la tensión aplicada se midió utilizando un sensor de fuerza Vernier de doble rango con $\pm 0.01 \text{ N}$ de precisión precalibrada. Las películas fueron moldeadas en probetas halterio tipo V con un ancho de la sección central de $3.18 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$. Se realizaron cuatro repeticiones de la

prueba para cada película. Finalmente, se evaluó la actividad antimicrobiana de los biopolímeros, se utilizó el método de sensibilidad por difusión en agar o también llamado difusión en placa. La metodología aplicada consistió en colocar fracciones de $1 \times 1 \text{ cm}^2$ de las películas a evaluar sobre una placa petri que contenía agar Müller-Hinton que fue previamente inoculada con una carga microbiana equivalente a 10^8 UFC (unidades formadoras de colonias)/mL frente a las cepas de referencia ATCC 25922 de *E. coli* y ATCC 29213 de *S. aureus*; mientras que para la cepa ATCC 10231 de *Candida albicans* (*C. albicans*) la carga microbiana fue equivalente a 10^6 UFC/mL. Las placas inoculadas fueron incubadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ durante un máximo de 7 días, transcurrido 2 y 7 días de incubación se evaluó el crecimiento, inhibición y/o la presencia o ausencia del halo de inhibición del crecimiento alrededor del biopolímero. El ensayo fue repetido 3 veces.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las nanopartículas de plata obtenidas por el método de biosíntesis utilizando residuos de uva fueron evaluadas mediante la técnica de espectrofotometría UV-Vis, para obtener la ubicación del pico de plasmón en la longitud de onda correspondiente que nos permita confirmar su formación. Los resultados indican la presencia de nanopartículas de plata de acuerdo al pico ubicado a 418 nm con una absorbancia de 2.86 u.a. como se observa en la Fig. 3. El pico de resonancia del plasmón está bien definido y debido a su ancho de banda, muestra una alta monodispersidad, su ubicación nos aseguró la formación de nanopartículas de plata esféricas, que, de acuerdo a trabajos previos, esta característica juega un papel muy importante en la eficiencia y propiedades físicas que finalmente presenten los materiales fabricados [20].

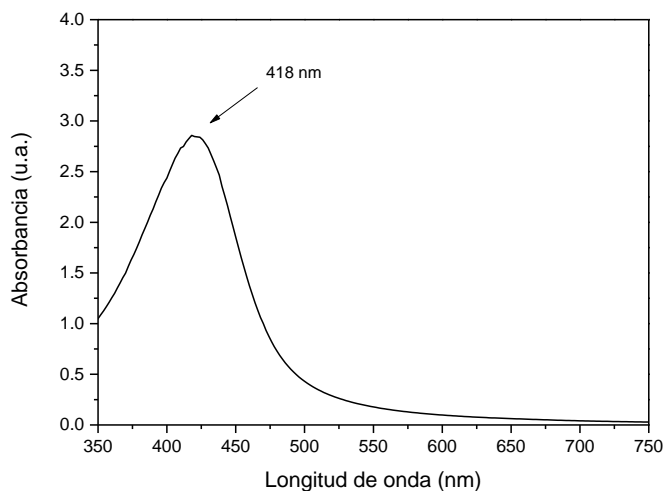


Fig. 3 Espectro de absorbancia UV-Vis de las nanopartículas de plata biosintetizadas.

Por otra parte, mediante el análisis por DLS, se evaluó la distribución de tamaño de las nanopartículas de plata. El

diámetro de partícula promedio para las nanopartículas sintetizadas fue de 11,1 nm por volumen y el índice de polidispersión fue de 0,334, como se ilustra en la Fig. 4. Se sugiere que el tamaño alcanzado se debe a la influencia del efecto taponador del extracto de uva. La formación de nanopartículas se verificó inicialmente por el cambio de color después de la adición del agente reductor.

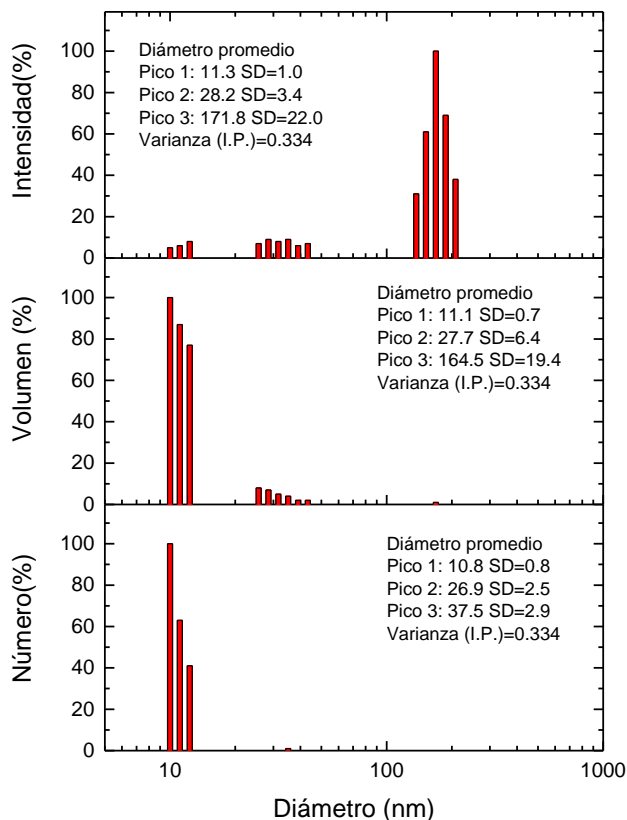


Fig. 4 Dispersión dinámica de luz de nanopartículas de plata biosintetizadas.

En la Fig. 5 se muestra el análisis por espectroscopia de energía dispersiva (EDS), se confirmó la presencia de plata (Ag) incorporadas en las películas con 3% y 6% de nanopartículas, aumentando la intensidad de acuerdo al porcentaje contenido en las películas. Además, se muestran las micrografías electrónicas de barrido de las películas. En la Fig. 5a, se puede observar una superficie rugosa e imperfecta, con microprotuberancias que podrían estar asociadas a una gelatinización incompleta del almidón. Estas imperfecciones se reducen gradualmente con la incorporación de nanopartículas de plata. La muestra con 3% de nanopartículas de plata (Fig. 5b) es menos rugosa, sin embargo, se observan algunas estrías. La muestra con 6% (Fig. 5c) presenta una superficie menos rugosa y homogénea, posiblemente debido a cambios en el arreglo de las moléculas durante el proceso de gelatinización de las películas; no se presentan grietas ni huecos en la superficie debido a la formación de una estructura más compacta [36].

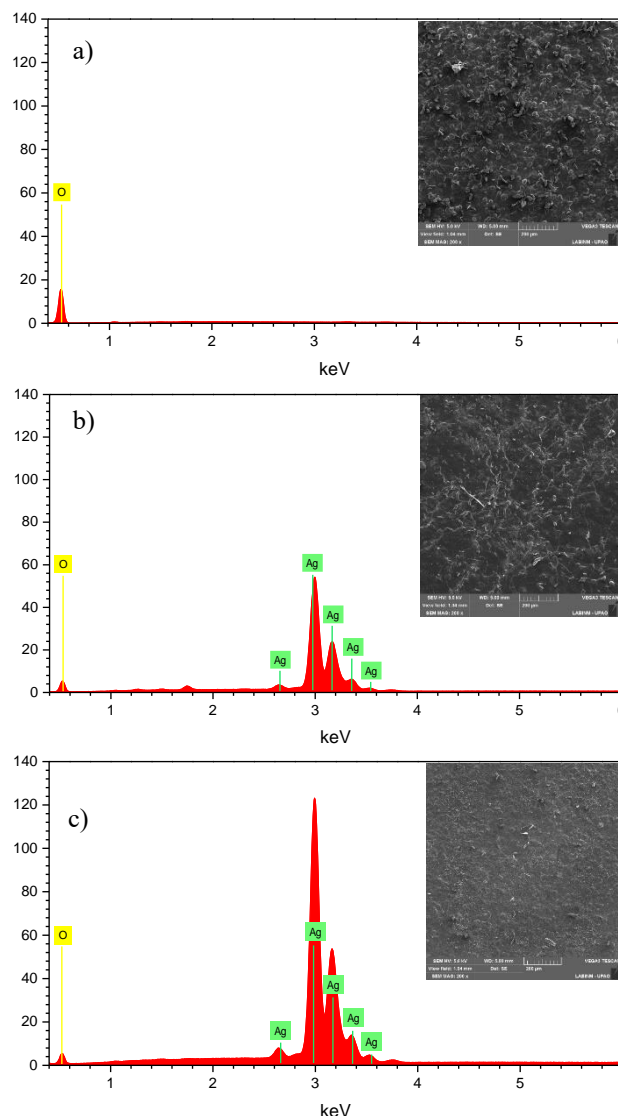


Fig. 5 Espectro EDS y morfología superficial por SEM de películas de almidón incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas.

La Fig. 6 muestra los espectros FTIR del almidón de semilla de mango y películas incorporadas con 0%, 3% y 6% de nanopartículas de plata, confirmando la buena integración de las nanopartículas en la matriz polimérica de las películas. Se puede observar una reducción de la intensidad de algunos picos importantes de acuerdo con el incremento de la concentración de nanopartículas de plata mostrando cierta estabilidad de la matriz. Además, no se produjo formación de enlaces químicos entre el almidón y las nanopartículas de plata ya que no se observó formación de picos adicionales en el espectro [28]. Los resultados muestran los grupos funcionales específicos como C–H, O–H, C–O, C=O, C=C y O=H típicos de las películas poliméricas a base de almidón. Se observa un pico alrededor de 3277 cm^{-1} , que corresponde a la absorción causada por el enlace C–H del componente tipo alcano y el

estiramiento tipo O–H del compuesto fenólico, que aumenta su intensidad con el aumento de nanopartículas. Otro pico se observa a 2923 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de los enlaces –OH y C–H (compuestos de tipo aldehído) [37,38]. Se encuentra un pico a 1647 cm^{-1} que indica la presencia del grupo carbonilo, además, la absorción causada por el estiramiento del enlace C=O, esto está relacionado con la propiedad hidrofílica de las películas [39] y el enlace C=C del compuesto de tipo alcano se indica por los picos cerca de 1366 cm^{-1} . Finalmente, se observa un pico muy intenso alrededor de 1020 cm^{-1} , que corresponde al estiramiento de los enlaces glucosídicos C–O característicos del almidón [40].

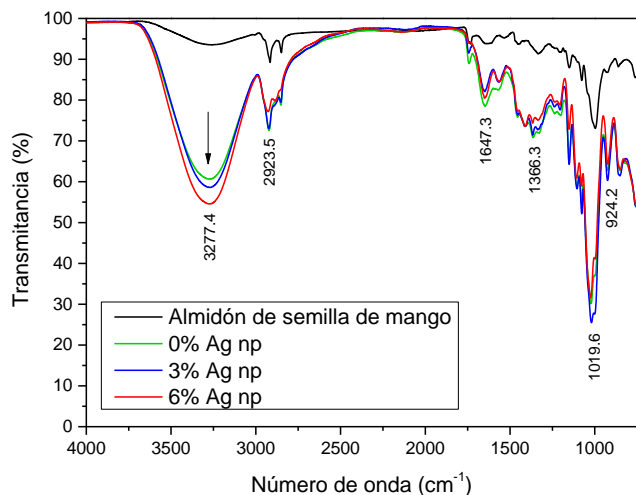


Fig. 6 Espectro FTIR de películas de almidón de semilla de mango incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas.

Las curvas TGA y DTGA se presentan en la Fig. 7. Los termogramas muestran un patrón de degradación térmica de cuatro etapas para todas las películas. La degradación térmica inicial comienza alrededor de 57 °C para la película de control; esta temperatura se redujo a 47 y 41 °C para las películas con 3% y 6% de nanopartículas de plata incorporadas respectivamente. Esto está relacionado con la pérdida de agua remanente en las películas, similar a lo reportado por [30,39]. La tasa de descomposición de las películas con nanopartículas de plata fue menor que la de las películas sin nanopartículas. Esta diferencia probablemente se debe al hecho de que el movimiento de las moléculas de agua se ve obstaculizado por las nanopartículas incorporadas en la matriz polimérica. La pérdida de peso de la segunda etapa para la película de control apareció a la temperatura de 180 °C , mientras que las películas agregadas con nanopartículas de plata mostraron pérdida de peso a la temperatura de alrededor de 165 °C para el 3% y 176 y 216 °C para el 6% . Esta etapa de descomposición térmica se atribuye a la evaporación del glicerol y el agua unidos a la red de las películas y otras materias volátiles [41,42]. La pérdida de masa de la tercera etapa se observó alrededor de los 274 °C para la película de control, esta temperatura aumentó a alrededor de 280 °C para

las películas con nanopartículas de plata incorporadas. Este proceso está asociado con la degradación de películas poliméricas, con una tasa más lenta en aquellas películas que contienen nanopartículas de plata en comparación con el control [30,43]. Se observa una cuarta etapa, que ocurre a 368 °C para la película de control, mientras que a 384 °C para las películas con 6% de nanopartículas de plata incorporadas. Esta etapa se puede atribuir a una descomposición de componentes térmicamente estables como el bioplástico de almidón y el glicerol residual [44,45].

Las curvas de descomposición muestran que el 50% de la pérdida de peso se produjo a 218 °C para la película de control y a 270 y 277 °C , para las películas con 3% y 6% de nanopartículas de plata incorporadas respectivamente. Los resultados revelan que las películas con nanopartículas de plata muestran una estabilidad térmica mejorada atribuida a la buena integración de las nanopartículas en la matriz polimérica y porque son más estables al calor en comparación con la película de control. Esto también explica por qué se encuentran altos contenidos residuales en las películas con nanopartículas de plata.

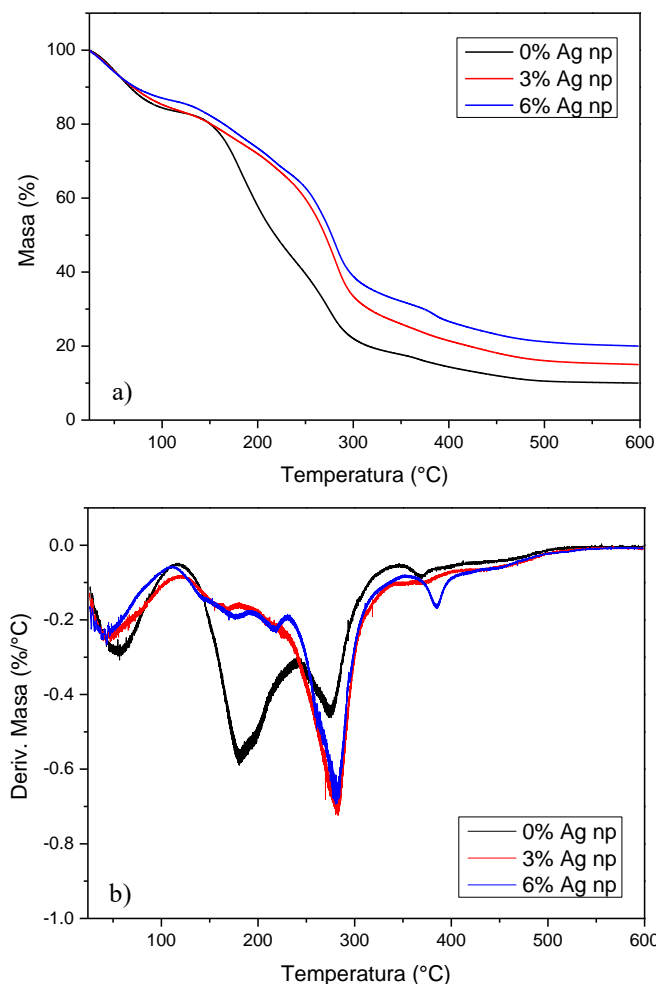


Fig. 7 a) Curvas TGA y b) DTGA de películas de almidón de semilla de mango incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas.

Las propiedades mecánicas de las películas incorporadas con nanopartículas de plata se muestran en la Fig. 8. En ella se muestran los resultados del comportamiento de las curvas de esfuerzo-deformación. En todos los casos, las curvas indican un comportamiento elástico seguido de una fase de deformación plástica caracterizada por una disminución de la pendiente después de alcanzar el límite elástico hasta llegar a la ruptura de las películas. La adición de nanopartículas contribuye a la formación de una red integrada en la matriz polimérica de manera que las hace más fuertes y resistentes [30,46].

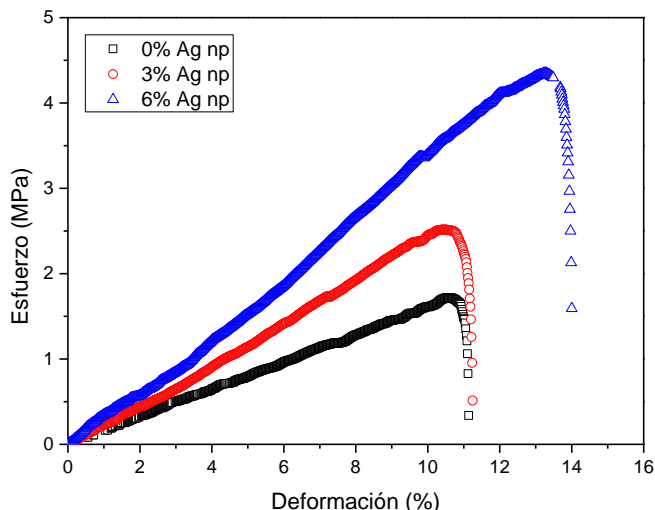


Fig. 8 Curvas de tensión-deformación de películas de almidón de semilla de mango incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas.

TABLA I
ESFUERZO MÁXIMO, DEFORMACIÓN DE ROTURA Y MÓDULO DE YOUNG DE PELÍCULAS DE ALMIDÓN INCORPORADAS CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS (AG NP)

Contenido de Ag np	Esfuerzo máximo (MPa)	Elongación en rotura (%)	Módulo de Young (MPa)
0%	1.72	11.14	15.96
3%	2.51	11.25	24.83
6%	4.35	14.01	34.31

Las mediciones del esfuerzo máximo, elongación en ruptura y módulo de Young se muestran en la Tabla 1. Se observa que, a medida que aumenta el porcentaje de nanopartículas de plata, el esfuerzo máximo aumenta desde 1.72 MPa para las películas control hasta 4.35 MPa para las películas con 6% de nanopartículas de plata. Los resultados son similares a los reportados por otros autores, por ejemplo, Ref. [22] obtuvo un valor de 3.78 MPa utilizando 6% de nanopartículas de ZnO. La misma tendencia se observa con los valores del módulo de Young, las pendientes de las zonas elásticas aumentan desde 15.96 MPa hasta alcanzar 34.31 MPa con 6%. Además, la elongación en rotura aumentó

ligeramente con la adición de nanopartículas de plata para alcanzar aproximadamente un 14% de elasticidad en las películas con 6%. Se verifica que la rigidez aumenta con el aumento de nanopartículas, posiblemente debido a interacciones moleculares entre las cadenas de almidón y las nanopartículas en la matriz de la película [47,48]. Las mejoras en las propiedades mecánicas de las películas se deben a una mejora en la distribución y el orden estructural en la matriz polimérica [20].

Las propiedades antimicrobianas de películas conteniendo 0, 3 y 6% de nanopartículas de plata fueron evaluadas usando un método de difusión en agar contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, y el hongo *C. albicans*. La Figura 9 muestra las fotografías después de la incubación a 37 °C por 2 y 7 días. Las películas con nanopartículas de plata exhibieron una clara actividad antimicrobiana contra todos los microorganismos evaluados. Se observó inhibición por contacto contra los microorganismos expuestos, sin formar un halo, por lo que no hubo difusión de ningún material activo sobre el agar. Respecto a *C. albicans*, se observó crecimiento al séptimo día en los bordes de las muestras. Estos resultados pueden estar asociados a una variación en la estructura de la membrana externa de las películas y la encapsulación de las nanopartículas de plata en la matriz polimérica, reduciendo su nivel de exposición [49-52]. Se evidenció la característica inhibitoria de las películas de almidón de semilla de mango; Sin embargo, sus efectos podrían mejorarse haciendo variaciones en la concentración de nanopartículas de plata o en la cantidad de almidón utilizado en la preparación de las películas.

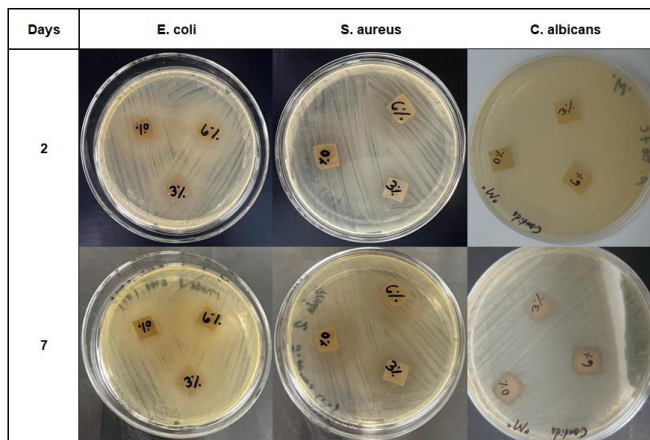


Fig. 9 Análisis antimicrobiano con bacterias *E. coli* y *S. aureus* y el hongo *C. albicans* en películas de almidón de semilla de mango incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas.

IV. CONCLUSIONES

Las características de las películas a base de almidón de semilla de mango incorporadas con nanopartículas de plata biosintetizadas fueron el foco principal de este estudio. El análisis de espectrofotometría UV-Vis confirmó la formación

de nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde, mientras que el análisis DLS encontró un diámetro promedio de 11.1 nm por volumen. La integración de nanopartículas de plata en la matriz polimérica de las películas fue confirmada por los patrones EDS y por espectroscopia FTIR, ya que no se observó la formación de picos adicionales en los espectros. Se encontró que el aumento en el porcentaje de nanopartículas de plata produce una mejora en sus propiedades mecánicas haciéndola más rígida. Por otro lado, el análisis TGA muestra una mejora en la estabilidad térmica atribuida a la buena integración de las nanopartículas en la matriz polimérica. Por último, las películas exhibieron actividad antimicrobiana inhibitoria contra todos los microorganismos probados.

Los resultados reafirman el uso de nanopartículas metálicas como una excelente alternativa para mejorar las propiedades de los biopolímeros para su uso como material activo. Sin embargo, en futuras investigaciones se considerará otras concentraciones de nanopartículas de plata, así como la evaluación de otras propiedades activas de las películas.

REFERENCES

- [1] Jabeen, N., Majid, I., & Nayik, G. A., "Bioplastics and food packaging: A review". *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1117749, 2015.
- [2] Valdés, A., Mellinas, A. C., Ramos, M., Garrigós, M. C., & Jiménez, A., "Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging". *Frontiers in chemistry*, 2, 6, 2014.
- [3] Abdullah, A. H. D., Chalimah, S., Primadona, I., & Hanantyo, M. H. G., "Physical and chemical properties of corn, cassava, and potato starches". *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 160(1), 012003, 2018.
- [4] Zia, F., Zia, K. M., Zuber, M., Kamal, S., & Aslam, N., "Starch based polyurethanes: A critical review updating recent literature". *Carbohydrate polymers*, 134, 784-798, 2015.
- [5] Cui, C., Ji, N., Wang, Y., Xiong, L., & Sun, Q., "Bioactive and intelligent starch-based films: A review". *Trends in Food Science & Technology*, 116, 854-869, 2021.
- [6] Borghei, M., Karbassi, A., Oromiehie, A., & Javid, A. H., "Microbial biodegradable potato starch based low density polyethylene. *African Journal of Biotechnology*, 9(26), 4075-4080, 2010.
- [7] Pirouzifard, M., Yorghanlu, R. A., & Pirsá, S., "Production of active film based on potato starch containing Zedo gum and essential oil of *Salvia officinalis* and study of physical, mechanical, and antioxidant properties". *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 33(7), 915-937, 2020.
- [8] Marcillo-Parra, V., Anaguano, M., Molina, M., Tupuna-Yerovi, D. S., & Ruales, J., "Characterization and quantification of bioactive compounds and antioxidant activity in three different varieties of mango (*Mangifera indica* L.) peel from the Ecuadorian region using HPLC-UV/VIS and UPLC-PDA". *NFS Journal*, 23, 1-7, 2021.
- [9] Shahrim, N. A., Sarifuddin, N., & Ismail, H., "Extraction and characterization of starch from mango seeds". *In Journal of physics: Conference series*, 1082(1), 012019, 2018.
- [10] Bangar, S. P., Kumar, M., & Whiteside, W. S., "Mango seed starch: A sustainable and eco-friendly alternative to increasing industrial requirements". *International journal of biological macromolecules*, 183, 1807-1817, 2021.
- [11] Bello-Perez, L. A., Aparicio-Saguilán, A., Méndez-Montealvo, G., Solorza-Feria, J., & Flores-Huicochea, E., "Isolation and partial characterization of mango (*Mangifera indica* L.) starch: morphological, physicochemical and functional studies". *Plant foods for human nutrition*, 60, 7-12, 2005.
- [12] Patino-Rodriguez, O., Agama-Acevedo, E., Ramos-Lopez, G., & Bello-Perez, L. A., "Unripe mango kernel starch: Partial characterization". *Food Hydrocolloids*, 101, 105512, 2020.
- [13] Othman, S. H., Othman, N. F. L., Shapi'i, R. A., Ariffin, S. H., & Yunos, K. F. M., "Corn starch/chitosan nanoparticles/thymol bio-nanocomposite films for potential food packaging applications". *Polymers*, 13(3), 390, 2021.
- [14] Bof, M. J., Laurent, F. E., Massolo, F., Locaso, D. E., Versino, F., & García, M. A., "Bio-packaging material impact on blueberries quality attributes under transport and marketing conditions". *Polymers*, 13(4), 481, 2021.
- [15] Zambrano-Zaragoza, M. L., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T. F., Mendoza-Elvira, S., & Quintanar-Guerrero, D., "Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation". *International journal of molecular sciences*, 19(3), 705, 2018.
- [16] Mihindukulasuriya, S. D. F., & Lim, L. T., "Nanotechnology development in food packaging: A review". *Trends in Food Science & Technology*, 40(2), 149-167, 2014.
- [17] Peighambardoust, S. J., Peighambardoust, S. H., Pournasir, N., & Pakdel, P. M., "Properties of active starch-based films incorporating a combination of Ag, ZnO and CuO nanoparticles for potential use in food packaging applications". *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100420, 2019.
- [18] Guerra, A., Cervi, C. B., Garcia, V., & Da Silva, C., "Incorporation of active compounds from mango peel (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") into corn starch-based oral disintegrating films". *Latin American Applied Research*, 49(2), 93-97, 2019.
- [19] Palza, H., "Antimicrobial polymers with metal nanoparticles". *International journal of molecular sciences*, 16(1), 2099-2116, 2015.
- [20] Kraśniewska, K., Galus, S., & Gniewosz, M., "Biopolymers-based materials containing silver nanoparticles as active packaging for food applications—a review". *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 698, 2020.
- [21] Hosseini, S. N., Pirsá, S., & Farzi, J., "Biodegradable nano composite film based on modified starch-albumin/MgO: antibacterial, antioxidant and structural properties". *Polymer Testing*, 97, 107182, 2021.
- [22] Lubis, M., Harahap, M. B., Ginting, M. H., Sebayang, A. T., Chandra, T., & Wangi, Y., "Mechanical, SEM and FTIR characteristics of bioplastics from mango seed starch with nanoparticle zinc oxide as filler and ethylene glycol as plasticizers". *In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1003(1), 012122, 2020.
- [23] Vanti, G. L., Nargund, V. B., N. B. K., Vanarchi, R., Kurjogi, M., Mulla, S. I., ... & Patil, R. R., "Synthesis of *Gossypium hirsutum*-derived silver nanoparticles and their antibacterial efficacy against plant pathogens". *Applied Organometallic Chemistry*, 33(1), e4630, 2019.
- [24] Gorraši, G., Sorrentino, A., & Pantani, R., "Modulation of biodegradation rate of poly (lactic acid) by silver nanoparticles". *Journal of Polymers and the Environment*, 23, 316-320, 2015.
- [25] Uskoković, V., "Nanotechnologies: What we do not know". *Technology in society*, 29(1), 43-61, 2007.
- [26] Ortega, F., Giannuzzi, L., Arce, V. B., & García, M. A., "Active composite starch films containing green synthesized silver nanoparticles". *Food Hydrocolloids*, 70, 152-162, 2017.
- [27] Garcia, E. L., Attallah, O. A., Mojicevic, M., Devine, D. M., & Brennan Fournet, M., "Antimicrobial active bioplastics using triangular silver nanoplate integrated polycaprolactone and polylactic acid films". *Materials*, 14(5), 1132, 2021.
- [28] Kanmani, P., & Rhim, J. W., "Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films". *Food chemistry*, 148, 162-169, 2014.
- [29] Nunes, M. R., Castilho, M. D. S. M., de Lima Veeck, A. P., da Rosa, C. G., Noronha, C. M., Maciel, M. V., & Barreto, P. M., "Antioxidant and antimicrobial methylcellulose films containing Lippia alba extract and silver nanoparticles". *Carbohydrate polymers*, 192, 37-43, 2018.
- [30] Xing, Y., Liao, X., Liu, X., Li, W., Huang, R., Tang, J., ... & Yu, J., "Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized with the peel extract of mango". *Materials*, 14(19), 5878, 2021.
- [31] Tagad, C. K., Dugasani, S. R., Aiyer, R., Park, S., Kulkarni, A., & Sabharwal, S., "Green synthesis of silver nanoparticles and their application for the development of optical fiber based hydrogen peroxide sensor". *Sensors and Actuators B: Chemical*, 183, 144-149, 2013.

- [32]Bamsaoud, S. F., Basuliman, M. M., Bin-Hameed, E. A., Balakhm, S. M., & Alkalali, A. S., "The effect of volume and concentration of AgNO₃ aqueous solutions on silver nanoparticles synthesized using Ziziphus Spina-Christi leaf extract and their antibacterial activity". *In Journal of Physics: Conference Series*, 1900(1), 012005, 2021.
- [33]Asmat-Campos, D. A., Juárez-Cortijo, L., Delfín-Narciso, D., Nazario-Naveda, R., Vejarano Mantilla, R., Mercedes-Cárdenas, S., ... & Siche Jara, R., "Influence of the type of solvent and pH for the extraction of reducing compounds of wine residues in the production of silver nanoparticles". *LACCEI Inc.*, 2020.
- [34]Nazario-Naveda, R., Gallozzo-Cardenas, M., Juárez-Cortijo, L., Angelats-Silva, L., Martínez-Julca, M., Rojas Flores, S., & Benites, S. M., "Incorporation of alcoholic extract of mango peel on mango seed starch-based bioactive compounds". *LACCEI, Inc.*, 2023.
- [35]Bahrami, A., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Ghanbarzadeh, B., & Salehi, R., "Physico-mechanical and antimicrobial properties of tragacanth/hydroxypropyl methylcellulose/beeswax edible films reinforced with silver nanoparticles". *International journal of biological macromolecules*, 129, 1103-1112, 2019.
- [36]Cejudo, C., Ferreira, M., Romera, I., Casas, L., & Mantell, C., "Functional, Physical, and Volatile Characterization of Chitosan/Starch Food Films Functionalized with Mango Leaf Extract". *Foods*, 12(15), 2977, 2023.
- [37]Galus, S., & Kadzińska, J., "Moisture sensitivity, optical, mechanical and structural properties of whey protein-based edible films incorporated with rapeseed oil". *Food technology and biotechnology*, 54(1), 78-89, 2016.
- [38]Rozilah, A., Jaafar, C. A., Sapuan, S. M., Zainol, I., & Ilyas, R. A., "The effects of silver nanoparticles compositions on the mechanical, physicochemical, antibacterial, and morphology properties of sugar palm starch biocomposites for antibacterial coating". *Polymers*, 12(11), 2605, 2020.
- [39]Cordeiro, E. M., Nunes, Y. L., Mattos, A. L., Rosa, M. F., de Sá M. Sousa Filho, M., & Ito, E. N., "Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango seeds". *In Macromolecular Symposia*, 344(1), 39-54, 2014.
- [40]Vellaisamy Singaram, A. J., Guruchandran, S., Bakshi, A., Muninathan, C., & Ganesan, N. D., "Study on enhanced mechanical, barrier and optical properties of chemically modified mango kernel starch films". *Packaging Technology and Science*, 34(8), 485-495, 2021.
- [41]Oluwasina, O. O., Olaleye, F. K., Oluogun, S. J., Oluwasina, O. O., & Mohallem, N. D., "Influence of oxidized starch on physicomechanical, thermal properties, and atomic force micrographs of cassava starch bioplastic film". *International journal of biological macromolecules*, 135, 282-293, 2019.
- [42]Zhang, R., Wang, X., & Cheng, M., "Preparation and characterization of potato starch film with various size of nano-SiO₂". *Polymers*, 10(10), 1172, 2018.
- [43]Gomez-Caturla, J., Ivorra-Martinez, J., Fenollar, O., Balart, R., Garcia-Garcia, D., Dominici, F., ... & Torre, L., "Development of starch-rich thermoplastic polymers based on mango kernel flour and different plasticizers". *International Journal of Biological Macromolecules*, 264, 130773, 2024.
- [44]Ahmad, M., Hani, N. M., Nirmal, N. P., Fazial, F. F., Mohtar, N. F., & Romli, S. R., "Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique". *Progress in Organic Coatings*, 84, 115-127, 2015.
- [45]Amin, M. R., Chowdhury, M. A., & Kowser, M. A., "Characterization and performance analysis of composite bioplastics synthesized using titanium dioxide nanoparticles with corn starch". *Heliyon*, 5(8), 2019.
- [46]Davidovic, S. Z., Miljkovic, M. G., Radovanovic, N. R., Dimitrijevic, S. I., & Nestic, A. R., "Physico-chemical properties of agar/silver nanocomposite films intended for food packaging application". *Journal of International Scientific Publications: Agriculture & Food*, 5(100023), 139-146, 2017.
- [47]Shankar, S., & Rhim, J. W., "Amino acid mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films". *Carbohydrate polymers*, 130, 353-363, 2015.
- [48]De Moura, M. R., Mattoso, L. H., & Zucolotto, V., "Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging". *Journal of Food Engineering*, 109(3), 520-524, 2012.
- [49]Bustamante-Torres, M., Arcentales-Vera, B., Estrella-Nuñez, J., Yáñez-Vega, H., & Bucio, E., "Antimicrobial activity of composites-based on biopolymers". *Macromol*, 2(3), 258-283, 2022.
- [50]Schaefer, E. W., Pavoni, J. M. F., Luchese, C. L., Faccin, D. J. L., & Tessaro, I. C., "Influence of turmeric incorporation on physicochemical, antimicrobial and mechanical properties of the comstarch and chitosan films". *International journal of biological macromolecules*, 148, 342-350, 2020.
- [51]Ortega, F., García, M. A., & Arce, V. B., "Nanocomposite films with silver nanoparticles synthesized in situ: Effect of corn starch content". *Food Hydrocolloids*, 97, 105200, 2019.
- [52]Abreu, A. S., Oliveira, M., de Sá, A., Rodrigues, R. M., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., & Machado, A. V., "Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging". *Carbohydrate polymers*, 129, 127-134, 2015.