

**PELÍCULAS DE LDPE/NANO-TiO₂ CON PROPIEDADES ANTIBACTERIALES INDUCIDAS POR ULTRASONIDO****LDPE/NANO-TiO₂ FILMS WITH ANTIBACTERIAL PROPERTIES INDUCED BY ULTRASOUND**A. Estrada-Monje^{1*}, J.M. Andreu-Díaz², J. Cruz-Salgado¹¹CIATEC, A.C. Omega No. 201, Industrial Delta, León, Guanajuato, México, 37545.²Universidad Iberoamericana León, Blvd. Jorge Vértiz Campero 1640, Fracciones Canadá de Alfaro, 37238 León, Guanajuato, México.

Recibido 19 de junio de 2015; Aceptado 2 de agosto de 2016

Resumen

El uso de nanopartículas de dióxido de titanio (nano-TiO₂) y sus aplicaciones en materiales de empaque ha llamado la atención debido a su actividad antibacterial. En el presente trabajo, se ha investigado el efecto de la adición de nano-TiO₂ sobre las propiedades antibacteriales, mecánicas y térmicas de películas de polietileno de baja densidad (LDPE) obtenidas con el método de disolución asistida por ultrasonido, así también se ha estudiado el efecto de los diferentes parámetros del ultrasonido sobre la propiedad antibacterial de los materiales compuestos de LDPE/nano-TiO₂ y se ha encontrado que la combinación de parámetros de amplitud-pulsos y amplitud-tiempo del tratamiento ultrasónico, tienen un efecto significativo sobre la respuesta estudiada.

Palabras clave: nanocomposito, TiO₂, *Staphylococcus aureus*, ultrasonido, antibacterial.

Abstract

Dioxide nanoparticles (nano-TiO₂) and their application in packaging materials have attracted a lot of attention because of its antimicrobial activity. In the present research, the effect of nano-TiO₂ on the antibacterial, mechanical and thermal properties of low density polyethylene (LDPE)-based film obtained with the dissolution ultrasound-assisted method was investigated, as well as the effect of ultrasound parameters on the antimicrobial properties of the composites of LDPE/nano-TiO₂. A significant effect of the combination of parameters of amplitude-pulse and amplitude-time of the ultrasound treatment on the antimicrobial property was found.

Keywords: nanocomposite, TiO₂, *Staphylococcus aureus*, ultrasound, antimicrobial.

1 Antecedentes

La nueva tendencia en relación a los materiales, es enfocar las investigaciones a materiales activos, es decir, que ofrezcan beneficios adicionales como la actividad antibacterial. Los polímeros, como el polietileno, son materiales comúnmente utilizados como materiales de empaque debido a su propiedad barrera, alta resistencia y elongación, además de un bajo costo. (Xing, y col. 2012). A estos materiales se pueden incorporar agentes antimicrobianos como un método para controlar la proliferación de microorganismos patógenos como la bacteria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

El dióxido de titanio (TiO₂) ha sido ampliamente estudiado como un promisorio material fotocatalítico para resolver problemas ambientales, debido a su

alta eficiencia, no toxicidad y propiedades químicas estables. (Chen y Mao, 2007), también ha llamado mucho la atención debido a sus propiedades antibacteriales, aprobado por la FDA (*American Food and Drug Administration*) para ser utilizado en materiales que estén en contacto con alimentos para los seres humanos. Se ha probado su efecto antibacterial y fungicida en microorganismos como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* y *Penicillium expansum* (Maness, y col. 1999, Maneerat y Hayata, 2006, Hur y col. 2005). El nano-TiO₂ se ha incorporado en una matriz de polietileno mediante extrusión y las muestras han sido expuestas a radiación UV (365 nm) por 120 min y su actividad

* Corresponding author. E-mail: aestrada@ciatec.mx
Tel. +52 (477) 71010011, Ext. 13008.

antibacterial se probó contra *E. coli* y *S. aureus*, mostrando muy buenos resultados (Xing, y col., 2012). Muchos autores consideran que sin fotoactivación, el nano-TiO₂ es químicamente inerte, pero se vuelve sumamente reactivo bajo la radiación ultravioleta y produce especies con oxígeno reactivo (ROS) (Hirakawa y col., 2004; Reeves y col., 2008) que da como resultado una fuerte actividad antibacterial (Joost y col., 2015; Zhao y col., 2013; Sunada y col., 2003; Huang y col., 2000). Por otro lado, algunos estudios muestran que el nano-TiO₂ exhibe actividad fotocatalítica y antibacterial en ausencia de iluminación UV (Gurr y col., 2005; Sayes y col., 2006). Por ejemplo, Wei y col. (1994), Reportaron que el nano-TiO₂ expuesto a la luz solar es tóxico para la bacteria *Escherichia coli* vía producción de ROS (Wei y col. 1994; Rengifo-Herrera, y col., 2009, Maness, y col. 1999). Otras investigaciones sugieren diversos mecanismos diferentes a la generación de ROS para explicar la actividad antibacterial del nano-TiO₂, como por ejemplo, la interacción entre las nanopartículas y las macromoléculas del microorganismo, como los fosfolípidos, las lipoproteínas y los ácidos nucleicos, lo que disminuye la permeabilidad y provoca la muerte celular (Rezaei-Zarchi y col., 2010). Este mecanismo sugiere que el microorganismo tiene una carga negativa mientras que el óxido metálico tiene una carga positiva, creando una atracción entre ellos que, una vez en contacto, el microbio es oxidado y muere instantáneamente. Sin embargo, existen diferentes conclusiones que dejan ver la necesidad de continuar con la investigación en este campo.

El objetivo del presente trabajo es identificar cuáles son los parámetros ultrasónicos aplicados en la obtención del material nanocompuesto, que tienen una mayor influencia sobre la inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* así como ampliar un poco el conocimiento sobre este tema.

2 Metodología

2.1 Materiales

En el presente estudio se utilizaron nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂), anatasa de 20 nm de diámetro promedio de partícula (Aldrich), polietileno de baja densidad LDPE (PX-20020P, PEMEX) y tolueno (Sigma-Aldrich) utilizado tal como se recibió. Para las pruebas antibacteriales se utilizó una cepa de la bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923),

como medio de cultivo un caldo de soya-tripticaseína adecuado para la bacteria y cajas Petri para la siembra de la misma.

2.2 Métodos

El LDPE se disolvió en tolueno a 100 °C con agitación mecánica para preparar una solución al 5 % de LDPE. Posteriormente se agregaron las nanopartículas de TiO₂ (nano-TiO₂), en dos concentraciones, 25 y 35 mg por cada 5g de LDPE. Una vez agregadas las nano-TiO₂ a la solución de LDPE, la mezcla se colocó en un reactor de vidrio con recirculación de agua a temperatura controlada y se aplicó el tratamiento de ultrasonido con un equipo de ultrasonido Hielscher (Modelo UP200Ht, Hielscher). La potencia de entrada máxima y la frecuencia son, respectivamente, 20 kHz y 400 W, equipado con un sonotrodo de 7 mm diámetro (modelo S26d7). La amplitud de sonicación (movimiento de la punta) está en el intervalo de 10 a 100%. En todos los experimentos se utilizó el 100% de pulsos y 80, 90 o 100 % de amplitud, según el experimento, de acuerdo a los datos de la Tabla 1.

Terminado el tratamiento de ultrasonido la mezcla fue vertida en un molde recubierto de teflón y secado a 100 °C por 2 h para obtener una película de material nanocompuesto.

2.2.1 Pruebas antibacteriales

Las propiedades antibacteriales de los nanocompuestos se evaluaron colocando 1 cm² del nanocompuesto de LDPE/nano-TiO₂ en una caja Petri en la cual se sembraron 50 mL de una solución con 1.5×10^8 UFC/mL de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Las cajas se incubaron a 39 °C por 12 horas. Las mediciones de inhibición del crecimiento bacteriano se llevaron a cabo determinando fotográficamente la densidad de colonias de la bacteria utilizando el software MATLAB® para cuantificar el porcentaje de inhibición.

Para la prueba adicional que se realizó, se dispersaron 15 mg de nano-TiO₂ en 50 mL de agua destilada en un vaso de precipitados y se aplicó un tratamiento ultrasónico a 100% de amplitud y 100% de pulsos por 10 min, en otro vaso de precipitados se dispersaron 15 mg de nano-TiO₂ en 50 mL de agua destilada y se aplicó agitación mecánica a 1500 rpm durante 10 min. Se tomó una muestra de ambas dispersiones y se colocaron en un matraz que contenía caldo soya-tripticaseína inoculado con 1.5×10^8 UFC de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1. Parámetros de ultrasonido utilizados en cada experimento

Exp.	Amplitud	Tiempo	Concentración
1*	0	0	0
2	100	10	35
3	100	15	35
4	100	15	25
5	80	10	25
6	80	10	35
7	100	10	25
8	80	15	25
9	80	15	35
10	90	17.5	30

*LDPE blanco

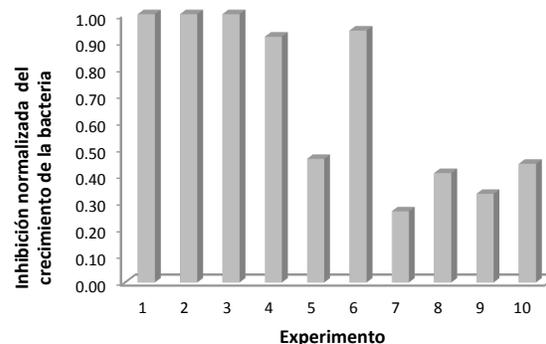
Se realizaron 5 diluciones y se sembraron en cajas Petri con un medio nutritivo, se incubaron durante 12 horas y se observó el crecimiento.

2.3 Análisis estadístico

Las pruebas se llevaron a cabo por duplicado y los datos experimentales fueron analizados utilizando el software statgraphics. Se realizó análisis de una vía para la varianza (ANOVA) seguido por diferencia mínima significativa ($p < 0.05$) entre las medias de los tratamientos.

2.4 Caracterización

Se obtuvieron películas de material nanocompuesto de LDPE/nano-TiO₂ de las cuales se cortaron las probetas para la evaluación de la propiedad mecánica de resistencia a la tensión en un equipo de tracción universal marca Instron, bajo la norma ASTM 638. Así como para la evaluación de las propiedades térmicas en un calorímetro diferencial de barrido (Perkin-Elmer), las pruebas se corrieron a una velocidad de 15 °C/min bajo una atmósfera de nitrógeno.

Fig. 1. Inhibición de crecimiento de la bacteria *S. aureus* comparadas con el LDPE sin nano-TiO₂.

3 Resultados y discusión

3.1 Propiedades antibacteriales

La actividad antibacteriana se evaluó a través de la cuantificación de la inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* en los materiales compuestos y su comparación contra el LDPE sin nano-TiO₂. En la Fig. 1 se observa una gráfica que representa la inhibición del crecimiento de la bacteria por los diferentes tratamientos ultrasónicos aplicados para obtener el material compuesto, así como con las diferentes concentraciones de nano-TiO₂ incluidas. Las propiedades antibacteriales de los materiales compuestos se compararon con el LDPE sin Nano-TiO₂ (Tratamiento No. 1 en la Fig. 1) y la gráfica se normalizó en referencia al LDPE sin nano-TiO₂.

En la Fig. 1 se observa que el experimento 7 (100% amplitud, 10 minutos y 25 mg de TiO₂) presenta la mayor inhibición de todos los materiales seguido por el experimento 9, 5 y 10. Los experimentos 2 y 3 presentan una inhibición del crecimiento de la bacteria comparable al LDPE.

En la Tabla 2 se muestra el análisis de la varianza (ANOVA), donde se observa que el valor-P de la prueba F es menor que 0.05, lo que indica

Tabla 2. ANOVA para la inhibición del crecimiento de la bacteria por tratamiento

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6199.45	9	688.828	5.51	0.0067
Intra grupos	1249.5	10	124.95		
Total (Corr.)	7448.95	19			

Tabla 3. ANOVA para el porcentaje de Inhibición de acuerdo a cada factor estudiado

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tiempo	200.0	1	200.0	2.53	0.2098
Amplitud-pulsos	1104.5	1	1104.5	13.98	0.0334
Amplitud-Tiempo	1152.0	1	1152.0	14.58	0.0316
Pulsos-Tiempo	392.0	1	392.0	4.96	0.1123
Error total	237.0	3	79.0		
Total (corr.)	3085.5	7			

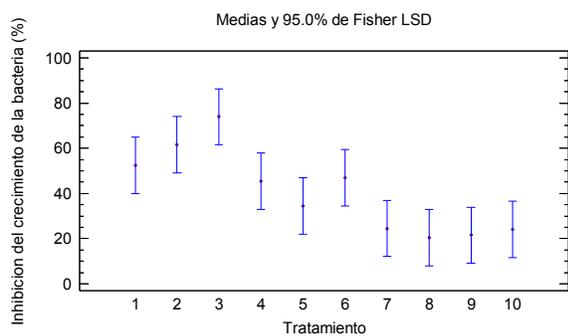


Fig. 2. Gráfico de medias para los diferentes tratamientos con ultrasonido.

que hay una diferencia estadísticamente significativa entre la media del porcentaje de inhibición del crecimiento de la bacteria, obtenida con los diferentes tratamientos, con un nivel de confianza del 95%. El análisis estadístico de experimentos es una herramienta muy útil que permite analizar de manera sistemática varios factores a la vez y conocer el efecto que tienen sobre una determinada variable de respuesta, ésta herramienta es utilizada por diferentes investigadores para estudiar diversos sistemas (Trujillo-Camacho y col., 2014; Laines-Canepa y col., 2014; Cháirez-Hernández y col., 2015; Valiente-Banuet y col., 2015; Quintana-Hernández y col., 2016), como es el caso del presente artículo.

En la Fig. 2 se aprecia el gráfico de medias obtenido con los diferentes tratamientos, en el análisis de la varianza, la gráfica de medias sirve para comparar los valores medios del porcentaje de inhibición del crecimiento de la bacteria para los 10 tratamientos estudiados. Este gráfico indica cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

El análisis estadístico de los datos arrojó que los parámetros de tiempo y amplitud tienen un efecto significativo sobre la inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* en los materiales compuestos. De acuerdo al análisis el ANOVA particiona la variabilidad del porcentaje de inhibición del crecimiento de la bacteria en piezas separadas para cada uno de los efectos y prueba la significancia

estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0% (Tabla 3).

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 92.3189% de la variabilidad en Inhibición. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 82.0775%. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

De acuerdo a la Tabla 3, los factores estadísticamente significativos son la combinación de los factores amplitud-pulsos y amplitud-tiempo del tratamiento ultrasónico aplicado para obtener los materiales compuestos.

Si bien se ha demostrado que la fotoactivación del nano-TiO₂ bajo la radiación ultravioleta y bajo radiación solar produce especies con oxígeno reactivo (ROS), que intervienen en la inactivación de las células de los microorganismos, lo que eventualmente conduce a su muerte, los ROS tienen un tiempo de vida muy corto; por lo que posiblemente no es el mecanismo principal mediante el cual puede explicarse la totalidad de la actividad antibacteriana de los materiales compuestos del presente estudio. Probablemente existe generación de ROS dadas las condiciones que genera el tratamiento ultrasónico en el medio. Sin embargo, la actividad antibacteriana puede explicarse también mediante un segundo mecanismo que es la interacción entre las nanopartículas de TiO₂ y las macromoléculas de la bacteria en cuestión, como fosfolípidos, lipoproteínas y ácidos nucleicos. Esta interacción disminuye la permeabilidad de la membrana y provoca la muerte celular. Este mecanismo sugiere que el microorganismo tiene una carga negativa mientras que el óxido metálico tiene

una carga positiva, creando una atracción entre ellos que, una vez en contacto, la bacteria es oxidada y muere instantáneamente como ha reportado Rezaei-Zarchi y col. (2010). En el estudio de Rezaei-Zarchi y col. (2010) se encontró una fuerte unión entre las nanopartículas de TiO_2 y CdO a la membrana exterior de la bacteria *E. coli*, lo cual causó la inhibición de las actividades enzimáticas y, finalmente, la inhibición del ARN, ADN y la síntesis de proteínas, lo que finalmente conduce a la lisis celular.

Para estudiar efecto del ultrasonido sobre la propiedad antibacterial de las nano- TiO_2 se realizó un experimento adicional, que consistió en comparar el tratamiento ultrasónico y el tratamiento mecánico aplicado a las nano- TiO_2 y su efecto sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*. En la Fig. 3 se observan las cajas Petri que contienen las nano- TiO_2 con los dos tratamientos descritos anteriormente; si bien las unidades formadoras de colonias (UFC's) no se cuantificaron utilizando el software MATLAB®, con una inspección visual y un conteo de las colonias, se determinó que la caja Peri con las nanopartículas que recibieron un tratamiento mecánico, contienen 40% más de colonias de *Staphylococcus aureus* formadas, comparadas con la caja Petri con las nano- TiO_2 tratadas con ultrasonido. Lo anterior, probablemente es consecuencia del rompimiento de los aglomerados de nano- TiO_2 que provocan las burbujas de cavitación generadas por el ultrasonido, el tratamiento ultrasónico permite tener nanopartículas más disponibles y distribuidas más uniformemente para estar en contacto con la bacteria e inhibir su proliferación.

En el presente estudio, los resultados mostraron que los materiales compuestos de LDPE/nano- TiO_2 tienen propiedades antibacteriales mejoradas por el tratamiento ultrasónico.

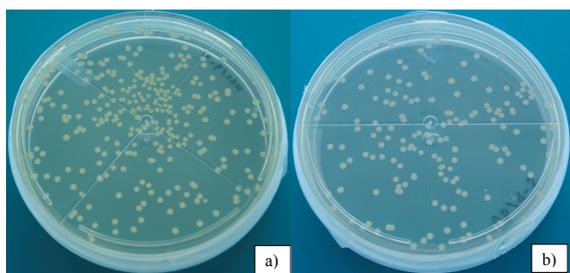


Fig. 3. Inhibición del crecimiento de *S. aureus* frente a Nano- TiO_2 tratadas con a) agitación mecánica y b) ultrasonido.

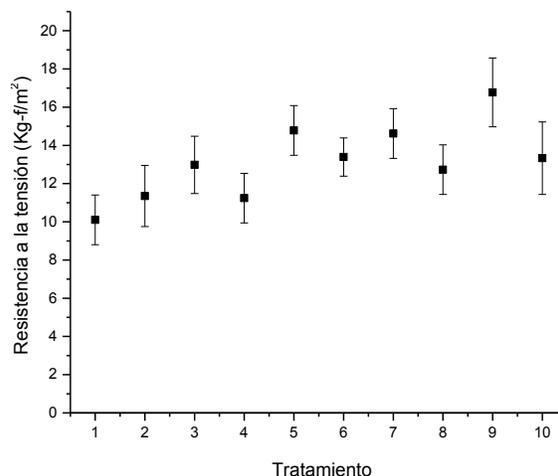


Fig. 4. Resistencia a la tensión de los materiales compuestos

El tratamiento ultrasónico rompe los aglomerados formados por las nano- TiO_2 y dispersa la nanopartículas de manera uniforme en la matriz polimérica. Cabe mencionar que las partículas, entre más pequeñas sean, tienen una tendencia mayor a formar aglomerados fuertemente unidos. El ultrasonido, a través de las burbujas de cavitación, rompe los aglomerados y permite que las nanopartículas estén más disponibles para interactuar con los microorganismos. Es a través de la disponibilidad de nano- TiO_2 y las interacciones nanopartícula-microorganismo, que la actividad antibacterial se ve favorecida.

3.2 Propiedades mecánicas

La resistencia a la tensión es una característica importante en los materiales de empaque. En ella se mide la resistencia al estiramiento de la película antes de romperse. Con el fin de investigar el efecto de la incorporación de nano- TiO_2 en la matriz polimérica sobre las propiedades del material compuesto, se evaluó la resistencia a la tensión en las películas.

La Fig. 4 muestra los resultados promedio de la resistencia a la tensión evaluada en los materiales compuestos. El tratamiento número 1 corresponde al LDPE sin nano- TiO_2 y el resto de números (2-10) representan los diferentes tratamientos y concentraciones de nano- TiO_2 incorporado.

Como puede observarse, los valores de resistencia a la tensión encontrados en los materiales compuestos son más altos que el valor del LDPE sin nano- TiO_2 (10.1 Kg-f/m^2). Los resultados muestran que la incorporación de nano- TiO_2 tuvo un efecto importante

sobre las propiedades mecánicas de los materiales compuestos. Estos resultados son consistentes con los encontrados por otros investigadores que utilizaron nano-TiO₂ y ZnO, en las que reportaron un aumento en la resistencia a la tensión, el porcentaje de elongación y la resistencia a la intemperie en películas de poliuretano y PVC (Xing y col., 2012; Li y col., 2010; Li y col., 2009). Los resultados encontrados muestran que la incorporación de nano-TiO₂ mejora las propiedades del LDPE y le confiere, además, propiedades antibacteriales.

Las muestras 7 y 9 resultaron tener la mayor inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus*; si se analiza desde el punto de vista de los factores que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la inhibición, se podría decir que para lograr una mayor inhibición del crecimiento de la bacteria se tendrá que utilizar la amplitud en el nivel alto combinada con el menor tiempo y la menor concentración; las condiciones anteriores parecen favorecer el rompimiento de los aglomerados y dar como resultado una mejor dispersión de las nano-TiO₂. Se sabe que las nanopartículas tienden a formar aglomerados difíciles de romper; sin embargo, se ha reportado que la aplicación de ultrasonido contribuye enormemente a evitar la formación de dichos aglomerados o a disminuir su tamaño (Hee-Young Kim y col. 2013). Si bien no se tiene una micrografía que demuestra la mejor dispersión de las nano-TiO₂ en el material compuesto, ésta sí se ve reflejada en un reforzamiento del material compuesto a través del aumento en la resistencia a la tensión. Como puede observarse en las Figuras 3 y 4, en general, los materiales que presentan una mayor resistencia a la tensión, son las mismas que presentan una mayor inhibición del crecimiento de la bacteria.

3.3 Propiedades térmicas

Dentro del análisis de las propiedades térmicas que se realizó, se calculó el grado de cristalinidad (X_c) a partir de los datos obtenidos del análisis de DSC de la siguiente manera:

$$X_c = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_m^0} \times 100 \quad (1)$$

Donde ΔH_f es la entalpía de fusión de la curva endotérmica de la muestra y ΔH_m^0 es la entalpía de fusión teórica de un polietileno 100% cristalino (290 J/g) (Wunderlich, 1997).

Tabla 4. % de cristalinidad de los materiales compuestos

Exp.	Cristalinidad (%)	Desv. St
LDPE 22.0 0.00 1	22.3	0.97
2	21.8	0.06
3	22.0	0.24
4	21.3	0.00
5	21.3	0.20
6	22.3	0.24
7	22.3	0.24
8	21.8	0.55
9	21.5	0.06

En la Tabla 4 se observan los datos de porcentaje de cristalinidad obtenidos, los experimentos 1 a 9 representan los diferentes tratamientos de ultrasonido aplicados para obtener los materiales nanocompuestos (ver Tabla 1).

En general se observa que el grado de cristalinidad de los materiales compuestos es menor a la que presenta el LDPE (22 %). El efecto de la adición de nano-TiO₂ en la matriz polimérica se puede explicar con el hecho de que la etapa de crecimiento de las esferulitas se ve obstaculizada significativamente por las nanopartículas incorporadas, la reducción en la velocidad de la cristalización y el tamaño de los dominios cristalinos puede resultar en un menor grado de cristalinidad. Los resultados encontrados concuerdan con lo reportado por otros investigadores que han obtenido materiales compuestos de LDPE/nano-TiO₂ (Nguyen y col., 2013).

Conclusiones

Se obtuvieron materiales compuestos de LDPE/nano-TiO₂ mediante el método de disolución asistido por ultrasonido que mostraron propiedades antibacteriales contra la bacteria *S. aureus*. La incorporación de nano-TiO₂ en la matriz polimérica mejora las propiedades mecánicas de resistencia a la tensión del LDPE, afectando ligeramente el porcentaje de cristalinidad. Esta investigación indica que la obtención de materiales compuestos con nano-TiO₂ tiene un gran potencial para ser usados como materiales de empaque con propiedades antibacteriales. En éste sentido es de gran importancia la generación de nuevo conocimiento relacionado con el mecanismo mediante el cual el ultrasonido mejora las propiedades antibacteriales del TiO₂, ya sea mediante la generación de ROS o

mediante el mejoramiento de la dispersión, y por lo tanto la mayor disponibilidad de las nanopartículas en la matriz polimérica para interactuar con las bacterias. Asimismo se encontró que la combinación de los factores amplitud-pulsos y amplitud-tiempo, tienen un efecto significativo sobre la inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* en los materiales compuestos.

Nomenclatura

ΔH_i entalpía de fusión de la curva endotérmica de la muestra

ΔH_m^0 entalpía de fusión teórica de un polietileno 100% cristalino (290 J/g)

Símbolos griegos

ξ_c grado de cristalinidad (%)

Referencias

- Cháirez-Hernández, I., Proal-Nájera, J.B., Osorio-Revilla, G.I., García-Roig, M., Pantoja-Espinoza, J.C. (2015). Eficiencias comparativas de inactivación de bacterias coliformes en efluentes municipales por fotólisis (UV) y por fotocatalisis (UV/TiO₂/SiO₂). Caso: depuradora de aguas de Salamanca, España. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 119-135.
- Chanjuan Zhao, Bo Feng, Yiting Li, Jing Tan, Xiong Lu y Jie Weng. (2013). Preparation and antibacterial activity of titanium nanotubes loaded with Ag nanoparticles in the dark and under the UV light. *Applied Surface Science* 280, 8-14.
- Gurr, J.R., Wang, A.S.S., Chen, C.H. y Jan, K.Y. (2005). Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology* 213, 66-73.
- Hee-Young Kim, Jung-Ah Han, Dong-Keon Kweon, Jong-Dae Park, Seung-Taik Lim (2013). Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers* 93, 582-588
- Hirakawa, K., Mori, M., Yoshida, M., Oikawa, S. y Kawanishi, S. (2004). Photo-irradiated titanium dioxide catalyzes site specific DNA damage via generation of hydrogen peroxide. *Free Radical Research* 38, 439-447.
- Huang, Z., Maness, P.C., Blake, D.A., Wolfrum, J.A. Smolinski, S.L. y Jacoby, W.A. (2000). Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 130, 163-170.
- Hur, J.-S., Oh, S.-O., Lim K.-M., Jung, J.S.; Kim, J.-W. y Koh, Y.J. (2005). Novel effects of TiO₂ photocatalytic ozonation on control of postharvest fungal spoilage of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 35, 109-113.
- Laines-Canepa, J.R., Aparicio-Trápala, M.A., López-Vidal, R., Hernández-Barajas, J.R. (2014). Evaluación de almidones de malanga (*Colocasia esculenta*) como agentes coadyuvantes en la remoción de turbiedad en procesos de potabilización de agua. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 855-863
- Li H.M., Li F., Wang L., Sheng J.C., Xin Z.H., Zhao L.Y., Xiao H.M., Zheng Y.H., Hu Q.H. (2009). Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd). *Food Chemistry* 114, 547-552.
- Li, X.H., Xing, Y.G., Li, W.L., Jiang, J.H. y Ding, Y.L. (2010). Antibacterial and physical properties of poly(vinylchloride)-based film coated with ZnO nanoparticles. *Food Science and Technology International* 16, 225-232.
- Maneerat, C. y Hayata Y. (2006). Antifungal activity of TiO₂ photocatalysis against *Penicillium expansum* in vitro and in fruit tests. *International Journal of Food Microbiology* 107, 99-103.
- Maness, Pin Ching, Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J. y Jacoby, W.A. (1999). Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: Toward an understanding of its killing mechanism. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 4094-4098.
- Quintana-Hernández, P.A., Reyes-Valadez, J.N., Castro-Montoya, A.J., Coronado-Velasco, C. (2016). Simulación del proceso de producción de bioetanol a partir de la mezcla glucosa/xilosa incluyendo los efectos de temperatura, pH y concentración de azúcares. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 15, 1-9.

- Reeves J.F., Davies, S.J., Dodd, N.J. y Jha, A.N. (2008). Hydroxyl radicals (*OH) are associated with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells. *Mutation Research* 640, 113-122.
- Rengifo-Herrera, J.A., Pierzchla, K., Sienkiewicz, A., Forró, L., Kiwi, J. y Pulgarin, C. (2009). Abatement of organics and *Escherichia coli* by N, S co-doped TiO₂ under UV and visible light. Implications of the formation of singlet oxygen (¹O₂) under visible light. *Applied Catalysis B: Environmental* 88, 398-406.
- Rezaei-Zarchi, S., Javed, A., Ghani, M.J., Soufian, S., Firouzabadi, F.B., Moghaddam, A.B., Mirjalili, S.H., (2010). *Iran Journal of Pathology* 5, 83-89.
- Sayes, C.M., Wahi, R., Kurian, P.A., Liu, Y., West, J.L., Ausman, K.D., Warheit, D.B. y colvin, V. L. (2006). Correlating nanoscale titania structure with toxicity: A cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicological Science* 92, 174-185.
- Sunada, K., Watanabe, T. y Hashimoto, K. (2013). Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 156, 227-233.
- Trujillo-Camacho, M.E., Sánchez-Corrales, V.M., Soto-Borbón, M.A. (2014). Caracterización de películas serigráficas de TiO₂/Alginato. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 227-236.
- Urmans Joost, Katre Juganson, Meeri Visnapuu, Monika Mortimer, Anne Kahru, Ergo Nõmmiste, Urmeli Joost, Vambola Kisand y Angela Ivask (2015). Photocatalytic antibacterial activity of nano-TiO₂ (anatase)-based thin films: Effects on *Escherichia coli* cells and fatty acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 142, 178-185.
- Valiente-Banuet, J.I., Welti-Chanes, J., Rodríguez-Rodríguez, J., Caballero-Mata, P., Vázquez Cárdenas, C.F., Mújica-Paz, H. (2015). Kinetic and statistical criteria for the selection of conditions of extraction of volatile compounds of Piquin Pepper (*Capsicum annuum L. var. glabriusculum*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 231-241.
- Vu Giang Nguyen, Hoang Thai, Duc Huynh Mai, Huu Trung Tran, Dai Lam Tran y Manh Tuan Vu, (2013). Effect of titanium dioxide on the properties of polyethylene/TiO₂ nanocomposites. *Composites Part B: Engineering* 45, 1192-1198.
- Wei, C., Lin, W.Y., Zaina, Z., Williams, N.E., Zhu, K., Krurl, A.P., Smith, R.L. y Rajeshwar, K. (1994). Bactericidal activity of TiO₂ photocatalyst in aqueous media: Toward a solar-assisted water disinfection system. *Environmental Science and Technology* 28, 934-938.
- Wunderlich, B. (1997). *Thermal Characterization of Polymeric Materials*. Turi, E. A., ed.; 2nd. ed., Academic Press Inc.: New York, 1997, 1, p. 305.
- Xiaobo, C. y Samuel, S.M. (2007). Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications, and applications. *Chemical Reviews* 107, 2891-2959.
- Yage Xing, Xihong Li, Li Zhang, Qinglian Xu, Zhenming Che, Weili Li, Yumin Bai, Ke Li. (2012). Effect of TiO₂ nanoparticles on the antibacterial and physical properties of polyethylene-based film. *Progress in Organic Coatings* 73, 219-224.