

Nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre: preparación, activación superficial por plasma y actividad antibacteriana

Nanocomposites based on Polypropylene and Copper Nanoparticles: Preparation, Surface Activation by Plasma and Antibacterial Activity

B. Liliana España-Sánchez*, J. Alberto Rodríguez-González*, Pablo González-Morones*, M. Guadalupe Neira-Velázquez*, Bernardo Franco-Bárceñas**, Fernando Anaya-Velázquez**, Claudia Leticia Mendoza-Macias***, Carlos A. Ávila-Orta*, Felipe Padilla-Vaca**

RESUMEN

El presente trabajo reporta la preparación de nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre (PP/nCu) a partir de mezclado en fundido, así como su tratamiento superficial mediante plasma de argón, con el fin de incrementar la actividad antibacteriana de los compuestos obtenidos. El análisis superficial del nanocompuesto corroborado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y la microscopía de fuerza atómica (AFM) demostraron que el tratamiento con plasma de argón modifica la superficie del compuesto, incrementando la exposición de las nanopartículas y, por lo tanto, la rugosidad del material. Se encontró mediante estudios de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) y ángulo de contacto que el plasma de argón, favorece la ruptura de cadenas poliméricas en la superficie, removiendo cadenas poliméricas y formando estudios de sitios activos que al contacto con el medio ambiente insertan especies de oxígeno y nitrógeno, incrementando la polaridad de la materia. La exposición superficial de nanopartículas y el cambio en la polaridad de los nanocompuestos erosionados produjo un incremento significativo en la actividad antimicrobiana contra las bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. El uso de plasma para la modificación superficial de nanocompuestos resulta una herramienta eficaz para la obtención de nanomateriales antimicrobianos de alto valor agregado.

ABSTRACT

This work reports the preparation of polypropylene nanocomposites with copper nanoparticles (PP/nCu) by melt blending, as well as their surface treatment by argon plasma in order to increase the antibacterial activity of compounds obtained. The nanocomposite surface analysis, corroborated by means of Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM), demonstrates that argon plasma treatment modifies the surface of the compound, increasing the exposure of nanoparticles and, therefore, roughness of the material. Argon plasma favors polymeric chain scission at the surface, removing polymer chains and forming active sites, which in contact with the environment incorporates oxygen and nitrogen species, increasing the material's polarity, as demonstrated by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis and contact angle measurements. The exposure of surface nanoparticles and polarity shifts of eroded nanocomposites produced a significant increase in antimicrobial activity against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Plasma treatment use for surface modification of nanocomposites is an effective tool to obtain antimicrobial nanomaterials with a high value-added.

INTRODUCCIÓN

La propagación de enfermedades infecciosas generadas por microorganismos se ha convertido en uno de los problemas más graves de salud pública a nivel mundial (Rosenthal *et al.*, 2012), lo que ha desencadenado el interés

Recibido: 13 de noviembre de 2013
Aceptado: 26 de mayo de 2014

Palabras clave:

Nanocompuestos; cobre; plasma; antibacteriano.

Keywords:

Nanocomposites; copper; plasma; antibacterial.

Cómo citar:

España-Sánchez, B. L., Rodríguez-González, J. A., González-Morones, P., Neira-Velázquez, M. G., Franco-Bárceñas, B., Anaya-Velázquez, F., Mendoza-Macias, C. L., Ávila-Orta, C. A. & Padilla-Vaca, F. (2014). Nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre: preparación, activación superficial por plasma y actividad antibacteriana. *Acta Universitaria*, 24(3), 13-24. doi: 10.15174.au.2014.526

* Departamento de Materiales Avanzados, Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25254.

** Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto., México C.P. 36050. Tel.: (473) 732-0006, ext. 8166. Correo electrónico: padillaf@ugto.mx

*** Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto., México. C.P. 36050.

científico e industrial en el desarrollo de alternativas efectivas que contribuyan a la disminución de agentes patógenos presentes en el medio ambiente (Piotto *et al.*, 2013). Recientemente, el diseño y la aplicación de polímeros, con nanopartículas metálicas principalmente, ha generado importantes beneficios en áreas relacionadas con la salud y el cuidado humano, puesto que la incorporación de cargas nanométricas modifica drásticamente las propiedades fisicoquímicas de los materiales obtenidos (Casari 2000; Vaia & Gianellis, 2001). En particular, la incorporación de nanopartículas metálicas en polímeros con propiedades antimicrobianas, tales como plata (Sondi & Salopek-Sondi, 2004), cobre (Ren, Hu, Cheng, Vargas-Reus, Reip & Allaker, 2009), oro (Rai, Prabhune & Perry, 2010), dióxido de titanio (Yeung, Leung, Yao & Cao, 2009) y óxido de zinc (Liu, He, Mustapha, Li, Hu & Lin, 2009), entre otras, ha permitido la obtención de compuestos capaces de prevenir el crecimiento y la propagación de microorganismos, siendo las nanopartículas de plata las cargas nanométricas más empleadas (Rai, Yadav & Gade, 2009; Ruparelia, Chatterjee, Duttagupta & Mukherji, 2008). Sin embargo, se ha encontrado que las nanopartículas de cobre y sus óxidos poseen alta eficacia antimicrobiana a un costo mucho menor, lo cual puede favorecer su uso industrial desde un punto de vista comercial (Anyagou, Fedorov & Neckers, 2008; Raffi *et al.*, 2010).

Con el fin de aprovechar al máximo las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas en una matriz polimérica, éstas pueden ser depositadas en la superficie o estar incorporadas dentro del material. Para este propósito, algunos autores han reportado la preparación de nanocompuestos mediante diversos métodos, tales como atomización (*spraying*) (He, Brown, He, Fan, Lundgren & Zhao, 2012), pulverización catódica (*sputtering*) (Dowling, Betts, Pope, McConnell, Eloy & Arnaud, 2003), deposición por plasma (Jiang, Manolache, Wong & Denes, 2004) y deposición en capas (Dubas, Kumlangdudsana & Potiyaraj, 2006), entre otros, donde la ausencia de interacción química entre ambas fases representa una desventaja, ya que se puede llevar a cabo el desprendimiento de las partículas a corto plazo y, por lo tanto, que el efecto antimicrobiano se vea comprometido. Una manera de evitar este fenómeno es mediante la preparación de nanocompuestos a partir del mezclado en fundido, ya que a pesar de que las partículas no se encuentran enlazadas químicamente al polímero quedan embebidas en el material durante su procesamiento, lo que disminuye su difusión al exterior (Zhang, Zhang, Ji, Yan, Huang & Chu, 2007). Dentro de los factores predeterminantes para la obtención de ma-

teriales nanoestructurados se encuentra la dispersión uniforme de las partículas en la matriz y su compatibilidad con el polímero. En particular, en el caso de nanocompuestos con características antimicrobianas, se ha observado que además de la dispersión se requiere que las nanopartículas queden expuestas en la superficie del polímero, con el fin de favorecer el contacto directo con agentes patógenos y maximizar su efecto microbicida (Delgado, Quijada, Palma & Palza, 2011; Palza *et al.*, 2010). Para resolver el problema de la exposición o visibilidad, el tratamiento superficial por plasma ha sido considerado como una herramienta bastante atractiva, puesto que modifica drásticamente la superficie del material sin alterar sus propiedades en masa (Amanatides, Mataras, Katsikogianni & Missirlis, 2006). Esto se atribuye, principalmente, al hecho de que una capa delgada del polímero puede ser removida de su superficie, empleando un plasma de argón o aire, incrementando la presencia de partículas en la superficie del compuesto (Kunigal, Shivalingappa, Robert, Miriam, Mayu & Jonathan, 2005; Lingaiah, Sadler, Ibeh & Shivakumar, 2008). En este caso, el mismo concepto puede ser aplicado para obtener nanocompuestos poliméricos con alta eficacia antibacteriana a través de la exposición superficial de las nanopartículas mediante plasma.

En este trabajo se reporta la preparación, activación superficial y actividad antimicrobiana de nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre (PP/nCu) mediante el proceso de mezclado en fundido, y su posterior tratamiento con plasma de argón para exponer las nanopartículas de cobre (nCu) y obtener un aumento en la actividad antimicrobiana al estar en contacto con bacterias patógenas comunes en ambientes hospitalarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos y cepas de bacterias

Se empleó polipropileno isotáctico de Sigma Aldrich con un peso molecular (Mw) de 190 000 g/mol. Se emplearon nCu provenientes de *SkySpring Nanomaterials, Inc.*, con un diámetro promedio de 25 nm, una pureza de 99.95% y morfología esférica. Para la evaluación microbiológica se utilizó *Staphylococcus aureus* ATCC #6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC #35338. Ambos microorganismos fueron crecidos en medio de cultivo Luria Bertani (LB), de BD Bioxon. Se empleó una solución amortiguadora de fosfatos (PBS) con Tween 80 al 1% como agente dispersante para la recuperación de las bacterias en el análisis microbiológico.

Caracterización de nanopartículas

Para corroborar el tamaño y la forma de las nanopartículas se obtuvieron micrografías en un microscopio electrónico de transmisión (TEM) marca FEI modelo TITAN a un voltaje de 300 kV. La muestra se preparó colocando una gota de una suspensión diluida de nanopartículas en una rejilla de cobre de 300 mesh con recubrimiento de carbono. Se efectuó el análisis elemental de las partículas mediante espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS).

Preparación de nanocompuestos

Se prepararon mezclas de polipropileno con nCu en concentraciones de 0.05%, 0.5% y 5% P/P, a partir del premezclado de las nanopartículas con el polímero fundido en un Brabender a 190 °C durante 8 min. Posteriormente, cada formulación fue procesada en un extrusor Brabender acoplado con un sistema de ultrasonido (Patente EUA núm. WO US 2012/0098163 A1, 2012) a una temperatura de 190 °C-195 °C y una velocidad de 60 rpm. Finalmente, los nanocompuestos fueron procesados en un extrusor Killion para obtener película plana a 190 °C y una velocidad de 2 m/min, obteniendo películas con un espesor promedio de 200 µm.

Activación superficial

Los nanocompuestos fueron colocados en un reactor cilíndrico de plasma de 72 cm de longitud. El plasma se obtuvo a partir de un generador de radiofrecuencia de 13.56 MHz acoplado inductivamente, donde se introdujo de forma controlada argón al sistema. Los nanocompuestos fueron sometidos a tratamiento a una potencia de 50 W durante 1 h, con una presión interna del reactor de 0.3 mbar.

Caracterización de nanocompuestos

Se obtuvieron imágenes de los nanocompuestos mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), empleando un microscopio modelo Jeol JSM-7041F, con un voltaje de trabajo de 20 kV. Análisis térmicos de los nanocompuestos fueron llevados a cabo mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), empleando un calorímetro modelo MDSC 2920 de TA Instruments en modo convencional a 10 °C/min en atmósfera inerte. Para evaluar la estabilidad térmica de los nanocompuestos se realizó análisis termogravimétrico (TGA), usando un equipo de termogravimetría Q500 de TA

Instruments con una temperatura de calentamiento de 25 °C a 800 °C, a una velocidad de 10 °C/min y atmósfera de nitrógeno de 50 ml/min. Para determinar la topografía superficial se empleó microscopía de fuerza atómica (AFM) con un microscopio modelo Veeco Dimension 3000 a una altura de análisis de 100 nm para el blanco (PP) y 750 nm para los nanocompuestos con cobre (PP/nCu). Los cambios químicos en la superficie de las películas antes y después del tratamiento de plasma fueron monitoreados mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), usando un equipo SPECS Sage HR 100 con una fuente de rayos X monocromática a 30 eV. Para evaluar cambios en la polaridad superficial de los nanocompuestos se efectuaron mediciones por triplicado de ángulo de contacto empleando un goniómetro Rame-Hart con 5 µl de agua desionizada.

Actividad antimicrobiana de nCu

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas previa su incorporación al polímero, diferentes concentraciones de nCu fueron dispersadas en un amortiguador de fosfatos salino (PBS) con Tween 80 al 1%, empleando ultrasonido, a una frecuencia de 40 kHz y una amplitud de 70% durante 2 min. Las bacterias provenientes de un cultivo fresco fueron preparadas en PBS a una concentración de 10⁵ UFC/ml. Se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de nCu (12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL y 800 µg/mL) sobre el crecimiento y viabilidad de las bacterias, determinando la actividad antibacteriana mediante siembra en placa.

Actividad antimicrobiana de nanocompuestos PP/nCu

La actividad antimicrobiana de los nanocompuestos fue evaluada antes y después del tratamiento con plasma. Las películas de PP/nCu sin tratamiento (ST) y las sometidas a tratamiento de plasma (PT) fueron colocadas en cajas petri individuales y esterilizadas mediante luz ultravioleta (UV). Se preparó una suspensión de *S. aureus* en LB/PBS 1:5 con una concentración de 5 × 10⁶ UFC/mL. Se colocaron 25 µl de la suspensión bacteriana sobre la superficie de los nanocompuestos, para posteriormente ser incubadas a 37 °C a diferentes tiempos: 0 min, 90 min, 180 min y 360 min. Posteriormente, las bacterias fueron recuperadas de los nanocompuestos mediante un lavado con 5 mL de PBS y agitación a 88 rpm durante 5 min. Finalmente, se tomaron alícuotas de 100 µl de cada

muestra y se dispersaron en cajas con LB e incubadas a 37 °C durante 16 h. La actividad antimicrobiana fue calculada de acuerdo con la siguiente ecuación (Radetić *et al.*, 2008):

$$\text{Actividad antimicrobiana (\%)} = \frac{Co - C}{Co} \times 100.$$

Donde Co es el número de colonias en la muestra control (película sin nanopartículas) y C es el número de colonias en la película con nanopartículas.

RESULTADOS

nCu: Morfología y actividad antimicrobiana

En la figura 1 se muestra la micrografía TEM y el análisis elemental de las nCu, donde se aprecia una morfología esférica y un tamaño de partícula promedio de 60 nm, superior al reportado por el proveedor. El análisis elemental presenta los picos asociados con cobre elemental, además de pequeñas trazas de oxígeno, lo que sugiere una oxidación parcial de las partículas al contacto con el medio ambiente.

Por otro lado, se determinó la actividad antimicrobiana de las nCu previa su incorporación al polímero, en contacto con *S. aureus* y *P. aeruginosa* (figura 2). Se determinó que ambas bacterias presentan alta sensibilidad al contacto con nCu, alcanzando una inhibición total de crecimiento a una concentración de 100 µg/mL para *P. aeruginosa* y de 200 µg/mL para *S. aureus*. Aunado a esto, se puede observar una mayor susceptibilidad de *P. aeruginosa* al contacto con nCu, presentando una LD₅₀ de 10.2 µg/mL y una LD₉₀ de 46.2 µg/mL, mientras que al contacto con *S. aureus* se obtuvieron valores de 27.4 µg/mL y 171.3 µg/mL, respectivamente. La variación en la susceptibilidad entre ambos microorganismos al contacto con nCu probablemente es debida a sus diferencias en la estructura de la pared celular bacteriana (Sondi & Salopeck-Sondi, 2004).

Nanocompuestos de PP/nCu

Con el objetivo de analizar la dispersión de las nCu sobre la matriz polimérica, se obtuvieron micrografías SEM mediante fractura criogénica de los nanocompuestos al 5% p/p antes del tratamiento con plasma. En la figura 3 se puede observar la presencia de nCu, las cuales se encuentra dispersas sobre la matriz polimérica, presentando un tamaño promedio de partícula de entre 30 nm y 60 nm.

Otra manera de monitorear cambios en el polímero debido a la presencia de cargas nanométricas es mediante el análisis de sus transiciones térmicas. Para tal efecto, se obtuvo el comportamiento térmico en cristalización (Tc) y fusión (Tm) de los nanocompuestos en sus diferentes concentraciones (porcentaje en peso) comparados con el polímero sin carga antes de ser sometidos a tratamiento con plasma. En la figura 4A se presentan las temperaturas de fusión de los diferentes nanocompuestos, donde el polipropileno sin carga presenta una Tm de 160.5 °C, la cual se incrementa ligeramente alrededor de 3 °C con la presencia de nanopartículas. Por otro lado, la figura 4B presenta las temperaturas de cristalización correspondientes a los nanocompuestos PP/nCu, donde la Tc se incrementa hasta 5 °C en comparación con el polímero sin carga.

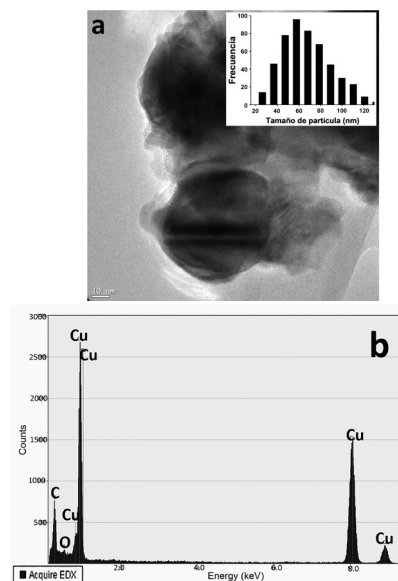


Figura 1. a) Micrografía TEM de nCu, b) Análisis elemental EDS de nCu. Fuente: Elaboración propia.

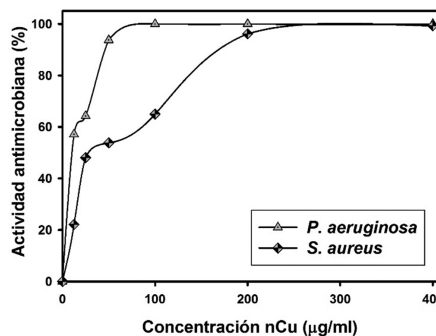


Figura 2. Actividad antimicrobiana de nCu contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Fuente: Elaboración propia.

En ambos casos, la presencia de nanopartículas metálicas no influye de manera significativa en el comportamiento térmico del polímero.

Se realizó el análisis termogravimétrico (TGA) de los nanocompuestos para observar cambios en la estabilidad térmica por efecto de la presencia de las nanopartículas de cobre. En la figura 5 se aprecia que el polímero sin carga presenta una pérdida del 20% a una temperatura de 415 °C, mientras que en el nanocompuesto de PP/nCu al 0.05% P/P se presenta a 424 °C, y en PP/nCu al 5% P/P se presenta a una temperatura de 435 °C, lo que sugiere que la presencia de nanopartículas de cobre incrementa la estabilidad térmica de los nanocompuestos en comparación con el polímero sin carga, la cual es dependiente de la concentración.

Activación superficial de nanocompuestos PP/nCu

La selección de las condiciones de tratamiento por plasma se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado

por España-Sánchez, Ávila-Orta, Neira-Velázquez, Solís-Rosales & González-Morones (2012). Con base en lo anterior, se analizaron los cambios en la superficie de los nanocompuestos de mayor concentración (5% P/P) antes y después del tratamiento con plasma. Para ello, se obtuvieron micrografías SEM del nanocompuesto PP/nCu al 5% p/p. En la figura 6A se observa que el nanocompuesto sin tratamiento presenta algunas partículas micrométricas expuestas (partículas brillantes) y otras cercanas a la superficie de la película (partículas opacas), donde se obtuvieron alrededor de 30 partículas localizadas en un área de 47.18 μm^2 , mientras que en la figura 6B el nanocompuesto sometido a tratamiento con plasma incrementa la exposición de nanopartículas en la superficie del compuesto, donde se obtuvieron alrededor de 300 partículas, de las cuales algunas se encuentran dispersas sobre el material y otras se encuentran aglomeradas. Esto sugiere que las nanopartículas presentan dispersión durante la preparación de los nanocompuestos, aunque en algunos casos se presenten aglomerados.

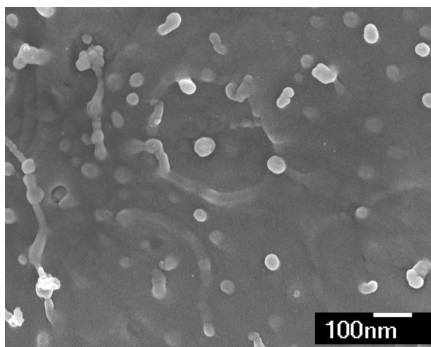


Figura 3. Micrografía SEM de PP/nCu al 5% P/P.
Fuente: Elaboración propia.

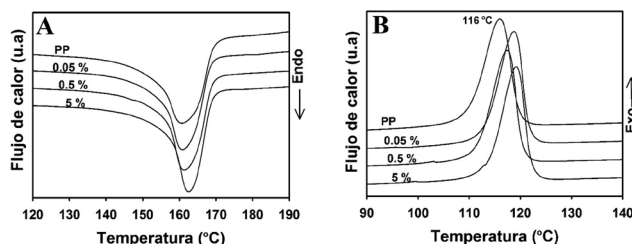


Figura 4. Comportamiento térmico de nanocompuestos PP/nCu a diferentes concentraciones P/P. A) Fusión (T_m) y B) Cristalización (T_c).
Fuente: Elaboración propia.

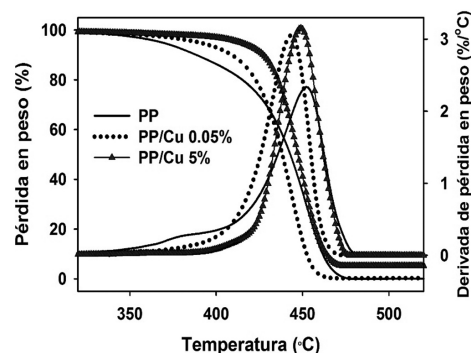


Figura 5. Análisis termogravimétrico (TGA) de los nanocompuestos PP/nCu en sus diferentes concentraciones y su comparación con el polímero sin carga.
Fuente: Elaboración propia.

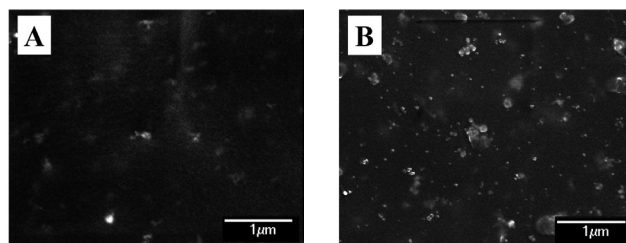


Figura 6. Micrografías SEM de la superficie de nanocompuestos de PP/nCu al 5% sin tratamiento (A) y tratadas con plasma (B).
Fuente: Elaboración propia.

Para evaluar los cambios superficiales de los nanocompuestos se realizó el análisis de topografía superficial mediante microscopía de fuerza atómica. Para tal efecto, se obtuvieron las imágenes correspondientes a la topografía de superficie de PP/nCu al 5% P/P y del polímero sin nanopartículas, antes y después del tratamiento con plasma. En la figura 7A y 7C se aprecia que tanto el polímero sin nCu (PP) como el nanocompuesto (PP/nCu) presentan una superficie parcialmente lisa, de donde se obtuvieron los valores de la media cuadrática superficial (RMS) de 11.03 nm para el PP y de 17.55 nm para PP/nCu. Al ser sometidas a tratamiento con plasma se observa que las características morfológicas cambian drásticamente, incrementando la rugosidad superficial, obteniendo una RMS de 13.11 nm para el PP (figura 7B) y 109.43 nm para el PP/nCu (figura 7D). En el polímero sin nCu se aprecia la formación característica de ondulaciones, las cuales se relacionan con el proceso de erosión. Además, los nanocompuestos PP/nCu al 5% exhiben la presencia de nanopartículas en la superficie del material (partículas brillantes).

Por otro lado, se llevó a cabo el conteo de partículas en las imágenes 2D de los compuestos antes y después del tratamiento con plasma en un área de $900 \mu\text{m}^2$, tomando el promedio del conteo de tres imágenes. Los nanocompuestos PP/nCu 5% sin tratamiento presentan alrededor de 60 partículas, la cual se incrementa con el tratamiento de plasma, obteniendo hasta 650 partículas. Tanto el análisis de SEM como el de AFM demuestran que el tratamiento de plasma incrementa la exposición superficial de nanopartículas de cobre hasta diez veces comparada con el nanocompuesto sin tratamiento a partir de la remoción de polímero superficial.

Para corroborar cambios en la composición química superficial de los nanocompuestos por efecto del plasma se realizó el análisis de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) del nanocompuesto PP/nCu al 5% y su comparación con el polímero sin carga. Las deconvoluciones de las señales obtenidas se realizaron de acuerdo con el ajuste Gaussian-Lorentzian (Kojima & Kurahashi, 1987). En la figura 8 se presentan los espectros C1s del PP antes y después del tratamiento con plasma. La deconvolución del espectro C1s del polipropileno sin tratamiento (figura 8A) señala la presencia de un pico principal localizado alrededor de 285 eV, el cual se encuentra asociado con los enlaces C-C/C-H que corresponden a la estructura del polipropileno isotáctico (Navaneetha, Selvarajan, Deshmukh & Gao, 2008; Navaneetha, Selvarajan, Deshmukh & Gao, 2009). En el espectro C1s del polímero sometido a tratamiento con plasma (figura 8B) se observa la presencia de pequeñas señales asociadas a los enlaces C-O/C-N y C=O, localizadas en 286.5 eV y en 288.5 eV, lo cual indica la inserción superficial de especies oxígeno y nitrógeno por efecto del tratamiento de plasma sobre la superficie, ya que la incidencia de los iones argón durante el tratamiento ocasiona la ruptura de cadenas poliméricas y la formación de sitios activos capaces de reaccionar al estar en contacto con el aire presente en el medio ambiente posterior al tratamiento (Morent, De Geyter, Leys, Gengembre & Payen, 2008; Navaneetha *et al.*, 2009).

Para corroborar cambios en la composición química superficial de los nanocompuestos por efecto del plasma se realizó el análisis de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) del nanocompuesto PP/nCu al 5% y su comparación con el polímero sin carga. Las deconvoluciones de las señales obtenidas se realizaron de acuerdo con el ajuste Gaussian-Lorentzian (Kojima & Kurahashi, 1987). En la figura 8 se presentan los espectros C1s del PP antes y después del tratamiento con plasma. La deconvolución del espectro C1s del polipropileno sin tratamiento (figura 8A) señala la presencia de un pico principal localizado alrededor de 285 eV, el cual se encuentra asociado con los enlaces C-C/C-H que corresponden a la estructura del polipropileno isotáctico (Navaneetha, Selvarajan, Deshmukh & Gao, 2008; Navaneetha, Selvarajan, Deshmukh & Gao, 2009). En el espectro C1s del polímero sometido a tratamiento con plasma (figura 8B) se observa la presencia de pequeñas señales asociadas a los enlaces C-O/C-N y C=O, localizadas en 286.5 eV y en 288.5 eV, lo cual indica la inserción superficial de especies oxígeno y nitrógeno por efecto del tratamiento de plasma sobre la superficie, ya que la incidencia de los iones argón durante el tratamiento ocasiona la ruptura de cadenas poliméricas y la formación de sitios activos capaces de reaccionar al estar en contacto con el aire presente en el medio ambiente posterior al tratamiento (Morent, De Geyter, Leys, Gengembre & Payen, 2008; Navaneetha *et al.*, 2009).

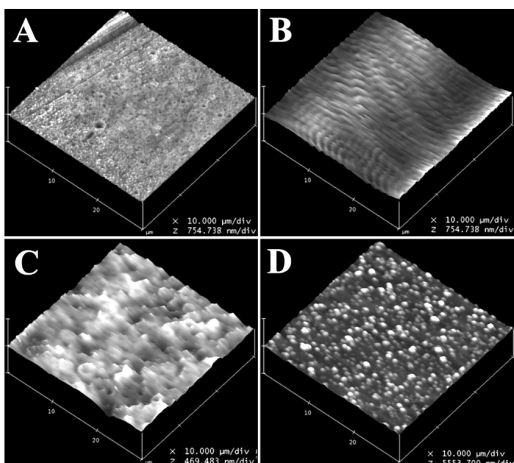


Figura 7. Imágenes AFM en 3D de la topografía superficial de nanocompuestos antes y después del tratamiento con plasma. A) PP-ST, B) PP-PT, C) PP/nCu 5%-ST y D) PP/nCu 5%-PT.

Fuente: Elaboración propia.

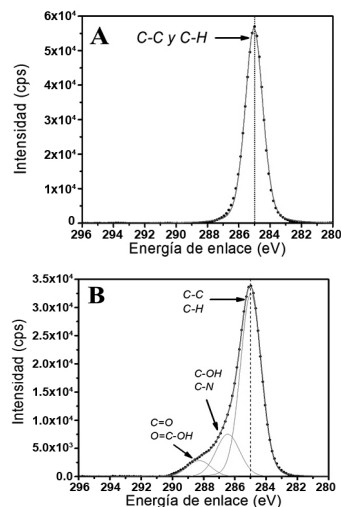


Figura 8. Espectros de C1s de PP. A) Sin tratamiento y B) Con plasma.

Fuente: Elaboración propia.

Con el objetivo de visualizar los cambios en la superficie de los nanocompuestos PP/nCu 5%, se obtuvieron los espectros C1s, O1s y N1s antes y después del tratamiento con plasma (figura 9). Al igual que el polímero sin carga, se puede apreciar que el espectro C1s del nanocompuesto sometido a tratamiento con plasma (figura 9B) incrementa la presencia de las señales asociadas con los enlaces C=O/O=C-OH y C-OH/C-N, lo que corrobora la inserción de nitrógeno y oxígeno en la superficie del nanocompuesto PP/nCu por efecto del plasma. Para corroborar la presencia de oxígeno en la superficie de los nanocompuestos se obtuvieron los espectros de O1s. La deconvolución del espectro O1s señala la presencia de un pico localizado alrededor de 531.2 eV, asociado con los enlaces C=O y O=C-OH, además de la señal localizada en 532.6 eV perteneciente a los enlaces

C-O y C-OH, y una señal localizada en 536 eV relacionada con el enlace C-O-N. En este caso, el espectro O1s del nanocompuesto PP/nCu sometido a tratamiento con plasma (figura 9D) presenta un incremento significativo en la señal en comparación con el nanocompuesto sin tratamiento. Finalmente, el espectro N1s del nanocompuesto sin tratamiento no presenta señales asociadas con la presencia de especies nitrógeno en su superficie. Estas señales aparecen en el nanocompuesto tratado con plasma (figura 9F), donde se presentan los picos correspondientes a los enlaces C-N, C-N-H en 399.9 eV, N⁺-H en 401.3 eV y el enlace N-O localizado en 403.0 eV. Los resultados sugieren que el tratamiento con plasma de argón promueve la inserción superficial de nitrógeno y oxígeno, como resultado de la formación de sitios activos a partir de la ruptura de cadenas poliméricas.

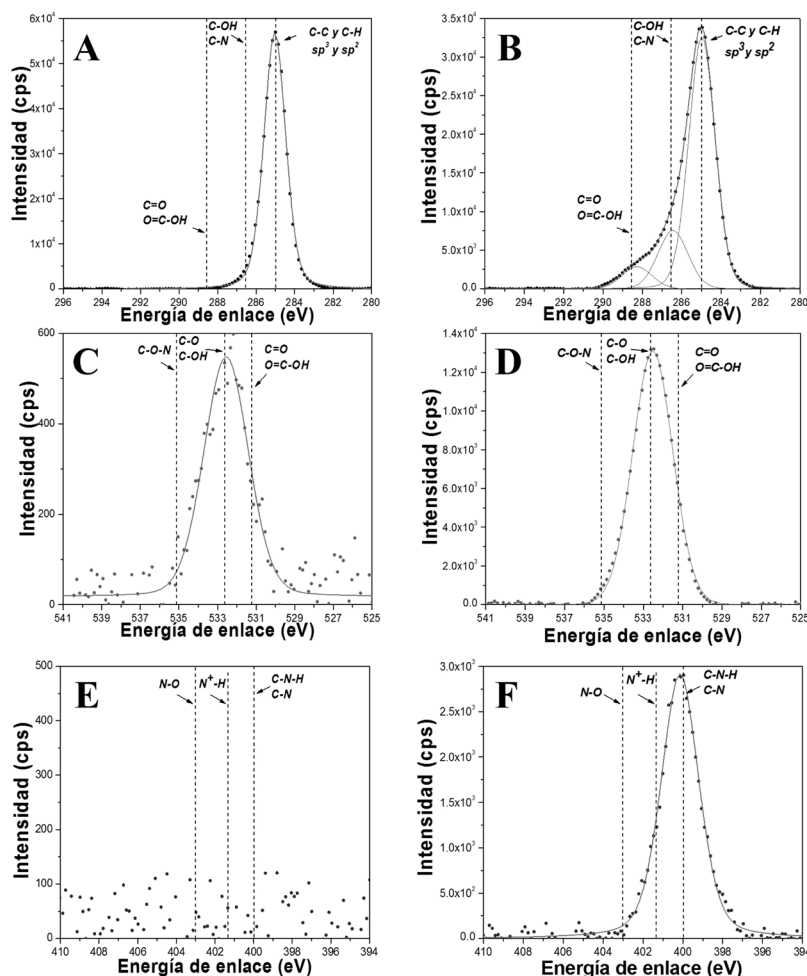


Figura 9. Espectros XPS de los nanocompuestos PP/nCu antes y después del tratamiento con plasma. A) C1s de PP/nCu sin tratamiento, B) C1s de PP/nCu con plasma, C) O1s de PP/nCu sin tratamiento, D) O1s de PP/nCu con plasma, E) N1s de PP/nCu sin tratamiento y F) N1s de PP/nCu con plasma.

Fuente: Elaboración propia.

Al encontrar cambios en la superficie del polímero y de los nanocompuestos atribuidos a la inserción de oxígeno y nitrógeno por efecto del plasma se efectuaron mediciones de ángulo de contacto para determinar cambios en la polaridad superficial de los compuestos. En la tabla 1 se pueden apreciar los valores de las muestras sin tratamiento, los cuales se encuentran cercanos a 100°, lo que sugiere una superficie parcialmente hidrófoba. Al someter las muestras al tratamiento por plasma, el ángulo de contacto disminuye drásticamente, por lo que la superficie adquiere un comportamiento hidrofílico. El cambio en la polaridad de la superficie de los compuestos ocasiona que las características de adhesión se favorezcan al estar en contacto con solventes polares como el agua (Shahidi & Ghoranneviss, 2012) y, por lo tanto, se favorezca la interacción con microorganismos suspendidos en un medio líquido.

Actividad antibacteriana

Para determinar el efecto bactericida de los nanocompuestos sometidos a tratamiento con plasma se efectuó el análisis cuantitativo de la actividad antimicrobiana sobre las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa*, en función del tiempo de contacto y en comparación con los nanocompuestos sin tratamiento, tomando en cuenta que el polímero sin carga no presenta inhibición de crecimiento. En la figura 10 se presenta la actividad antibacteriana de los nanocompuestos PP/nCu contra *S. aureus*. Los nanocompuestos sin tratamiento presentan bajo efecto bactericida, alcanzando un máximo de actividad antimicrobiana del 60% en la concentración más alta (5% p/p), mientras que a la concentración de 0.05% p/p únicamente presenta un 20% a las 6 h de contacto. Por otro lado, los nanocompuestos sometidos a tratamiento con plasma incrementan su efecto alcanzando el 70% de actividad antibacteriana a la menor concentración, y el 100% con la concentración mayor después de 6 h de interacción.

Un fenómeno similar ocurre en los nanocompuestos PP/nCu al interaccionar con *P. aeruginosa*. En este caso, el efecto antimicrobiano es superior si se compara con el efecto obtenido con *S. aureus*, lo cual puede estar asociado a las diferencias en la pared celular de ambas bacterias (Sondi & Salopeck-Sondi, 2004). En la figura 11 se observa que los nanocompuestos sometidos a plasma incrementan su actividad antibacteriana, alcanzando más del 70% después de 90 min de contacto con las bacterias y el 100% a las 3 h de contacto en la muestra de mayor concentración (5% p/p). Los nanocompuestos con 5% p/p sin tratamiento son

igualmente efectivos que los tratados con plasma, en donde los nanocompuestos con menor concentración de nCu claramente necesitan mayor tiempo de contacto para tener una actividad antibacteriana similar a los otros nanocompuestos en tiempos de interacción largos, lo cual sugiere la posible liberación de iones en un medio líquido de interacción.

Tabla 1. Valores de ángulo de contacto de los nanocompuestos.

Muestra	Sin tratamiento	Plasma
PP	97°	54°
PP/nCu 5%	99°	64°

Fuente: Elaboración propia.

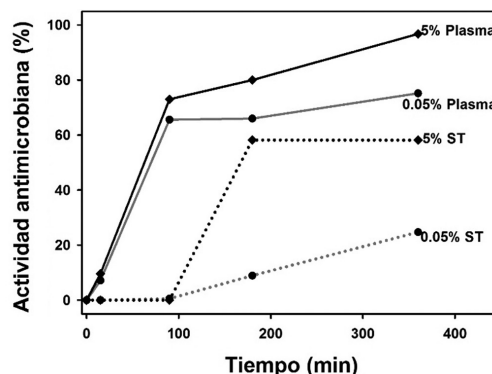


Figura 10. Actividad antibacteriana de nanocompuestos PP/nCu sin tratamiento (ST, línea punteada) y con tratamiento de plasma (línea continua) sobre *S. aureus*.

Fuente: Elaboración propia.

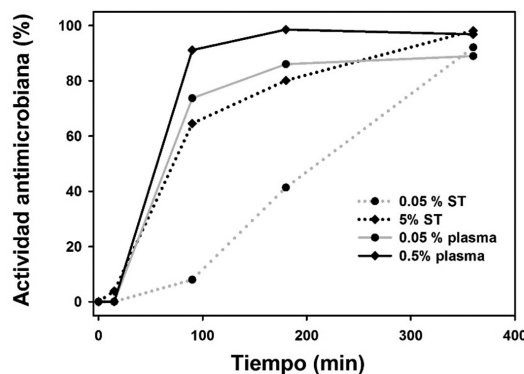


Figura 11. Actividad antibacteriana de nanocompuestos PP/nCu sin tratamiento (ST, línea punteada) y con tratamiento de plasma (línea continua) contra *P. aeruginosa*.

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se describe la preparación de nanocompuestos de PP/nCu mediante mezclado en fundido y su tratamiento superficial por plasma de argón, con el objetivo principal de incrementar la exposición superficial de las nanopartículas, la rugosidad y promover el cambio en la polaridad superficial de los nanocompuestos, lo cual se ve reflejado en el incremento de la actividad antimicrobiana.

Con el objetivo de caracterizar las nCu antes de ser incorporadas a la matriz de polipropileno se determinó su morfología y tamaño por TEM (figura 1). Las nCu presentan mayor tamaño (60 nm) comparado con lo reportado por el proveedor (25 nm), sin embargo están dentro del intervalo reportado para las partículas con propiedades antimicrobianas. Se ha reportado que las nanopartículas metálicas que se encuentran entre 20 nm y 200 nm de diámetro presentan un importante efecto antibacteriano frente a diversas bacterias (Ren *et al.*, 2009; Sharma, Yngard & Lin, 2009). Las nCu presentaron una actividad bactericida del 100% sobre *P. aeruginosa* a 50 µg/mL y sobre *S. aureus* a 200 µg/mL, lo cual se puede explicar por las diferencias en la estructura y composición de la pared celular entre Gram + y Gram -. Por otro lado, la oxidación de las nanopartículas no repercute en su capacidad antimicrobiana (Ruparelia *et al.*, 2008), puesto que las nCu en su estado oxidado siguen presentando efecto antimicrobiano al estar en contacto con diversos microorganismos.

Una vez que se corroboró la eficacia antimicrobiana de las nCu se evaluó su dispersión sobre la matriz de PP, en donde las nanopartículas se encuentran distribuidas de manera uniforme dentro del polímero por efecto de las ondas de ultrasonido durante el procesamiento del compuesto, que coincide con los resultados obtenidos por Ávila-Orta (Patente EUA no WO US 2012/0098163 A1, 2012), conservando el mismo tamaño de partícula obtenido mediante TEM. Con el fin de observar cambios en el comportamiento térmico del polímero por la presencia de nanopartículas, se realizaron análisis de calorimetría diferencial de barrido (figura 4), donde no se encontraron diferencias significativas en el comportamiento a la fusión-cristalización de los nanocompuestos por la presencia de nanopartículas. Algunos reportes sugieren que con la presencia de concentraciones superiores al 5% p/p de partículas en el polímero se obtiene un incremento en la Tc por encima de los 10 °C, ya que las nanopartículas metálicas tienden a fungir como agentes de nucleación, por lo que el proceso de cristalización se efectúa a mayores temperaturas comparado con el polímero sin carga (Chae & Byoung, 2005; Chae, Shim & Kim, 2008).

Para evaluar los cambios a nivel superficial de los nanocompuestos por efecto del tratamiento con plasma de argón se obtuvieron micrografías de SEM (figura 6), en donde se puede apreciar el incremento en la cantidad de nanopartículas en la superficie. De acuerdo con estos resultados, el plasma de argón produce la remoción de polímero superficial del compuesto, incrementando visiblemente la cantidad de nanopartículas expuestas. Algunos autores han reportado la exposición de nanopartículas por efecto del tratamiento por plasma con aplicaciones en electrónica (Lingaiah, Shivakumar, Sadler & Sharpe, 2005; Lingaiah *et al.*, 2008), en donde se consideran que el análisis superficial mediante microscopía SEM es una herramienta atractiva para visualizar cambios en la cantidad de partículas expuestas, y que el grado de exposición se encuentra directamente asociado con las condiciones del plasma, tales como la potencia y el tiempo de reacción. A partir del incremento en la exposición superficial de partículas mediante el análisis de SEM se realizó microscopía de fuerza atómica para corroborar cambios en la topografía de superficie (figura 7), donde se observa que las muestras sin tratamiento de plasma presentan una superficie parcialmente lisa, y que al ser sometidas a plasma de argón incrementan de forma significativa su rugosidad. Se ha descrito que el tratamiento por plasma tiene la capacidad de modificar las características superficiales de una matriz polimérica, ya que se lleva a cabo el fenómeno de colisión de los iones, especies reactivas y radiación UV del plasma con el sustrato, lo que genera reacciones, como la inserción de especies químicas o la ruptura de cadenas en la superficie del polímero (Amanatides *et al.*, 2006; France & Short, 1998). Para entender con precisión cómo se lleva a cabo el proceso de erosión mediante el tratamiento por plasma, algunos autores proponen que la incidencia de los iones del plasma sobre el polímero ocasiona la ruptura de cadenas poliméricas, las cuales pueden ser removidas por el vacío del sistema. France & Short (1998) sugieren que la ruptura de cadenas se produce por el ataque al carbono terciario de la cadena principal del polipropileno, generando el rompimiento de enlaces y la formación de especies reactivas en la superficie del material, sin alterar sus propiedades en masa.

De acuerdo con lo anterior, se puede considerar que el tratamiento de plasma propicia la modificación química superficial de los nanocompuestos sin alterar sus propiedades en masa, lo cual fue corroborado mediante análisis de XPS (figuras 8 y 9), en donde se obtuvo que los nanocompuestos sometidos a plasma favorecen la inserción de especies nitrógeno y oxígeno en la super-

ficie, lo que modifica las propiedades de superficie del nanocompuesto, asociadas con la polaridad. El cambio de una superficie hidrófoba a hidrófila (tabla 1) incrementa su capacidad de interacción al estar en contacto con líquidos polares, tales como el agua, lo que puede favorecer la interacción directa entre los nanocompuestos tratados y microorganismos suspendidos en medio líquido (Shahidi & Ghoranneviss, 2012).

Finalmente, se evaluó la eficacia antibacteriana de los nanocompuestos PP/nCu antes y después del tratamiento con plasma, en donde se aprecia un cambio significativo en el comportamiento bactericida de los materiales que fueron expuestos al plasma, debido al incremento en la cantidad de nCu expuestas, la rugosidad y la polaridad superficial de los nanocompuestos. El polipropileno sin carga antes y después del tratamiento con plasma no presenta inhibición de crecimiento bacteriano, lo cual sirve como punto de referencia para el cálculo de la actividad antimicrobiana de los nanocompuestos obtenidos. El aumento en la exposición de las nCu favorece la interacción con las bacterias alterando la integridad de su membrana como consecuencia del estrés oxidativo generado (Kim *et al.*, 2009). Diversos autores han reportado que para obtener un efecto antimicrobiano en nanocompuestos formulados con nCu se requieren concentraciones por encima del 10% para tener un efecto antimicrobiano cercano al 99.9% evaluado después de un tiempo de interacción de 24 h (Cioffi *et al.*, 2005; Palza *et al.*, 2010). En el presente trabajo se encontró que en concentraciones de 0.05% p/p el efecto antimicrobiano se encuentra por encima del 80% después de 3 h de interacción con bacterias, y que en la concentración de 5% ya no se aprecia crecimiento de microorganismos después de las 3 h de interacción.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el presente trabajo reporta la fabricación de nanomateriales funcionales que presentan alta actividad antimicrobiana al contacto con bacterias patógenas, debido al incremento en la exposición superficial de las nanopartículas por efecto del plasma. La capacidad antimicrobiana de nanocompuestos poliméricos erosionados con plasma representa una herramienta atractiva para el diseño de nanomateriales capaces de inhibir el crecimiento y propagación de microorganismos patógenos causantes de infecciones intrahospitalarias.

CONCLUSIONES

En la presente investigación se describe la preparación de nanocompuestos de PP/nCu mediante mezclado en fundido y el efecto del tratamiento superficial

con plasma sobre sus propiedades antibacterianas. Se determinó que la preparación de nanocompuestos mediante mezclado en fundido asistido con ultrasonido permite la obtención de nanomateriales con alto grado de dispersión. Por otro lado, el tratamiento con plasma incrementa la exposición de las nCu sobre la superficie de los nanocompuestos, lo cual repercute en el incremento de la rugosidad, la inserción de especies de oxígeno y nitrógeno y, por lo tanto, en el cambio en la polaridad del material. La exposición de las nanopartículas y su activación superficial de los nanocompuestos por efecto del plasma influyen en el incremento significativo de la actividad antibacteriana al contacto con *S. aureus* y *P. aeruginosa*, por lo que el tratamiento superficial por plasma resulta una alternativa efectiva para la obtención de nanomateriales antimicrobianos de alto valor agregado.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Silvia Torres Rincón, Juan Uriel Peña Castillo, Daniel Alejandro Alvarado Medrano y José Luis de la Peña por el apoyo técnico y bibliográfico proporcionado para la realización de este trabajo. Los socios mexicanos pertenecientes al proyecto *CuVito* reconocen amablemente que la investigación llevada a cabo para la realización del presente trabajo ha recibido apoyo financiero por parte de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt), a través del proyecto 127151. Los socios europeos del proyecto *CuVito* reconocen, de igual forma, que la investigación llevada a cabo para la realización del presente trabajo ha recibido apoyo financiero por parte de programa European Union's Seventh Framework Programme, a través del proyecto 263963.

REFERENCIAS

- Amanatides, E., Mataras, D., Katsikogianni, M. & Missirlis, Y. F. (2006). Plasma surface treatment of polyethylene terephthalate films for bacterial repellence. *Surface and Coatings Technology*, 200(22.23), 6331-6335.
- Anyaogu, K. C., Fedorov, A. V. & Neckers, D. C. (2008). Synthesis, Characterization, and Antifouling Potential of Functionalized Copper Nanoparticles. *Langmuir*, 24(8), 4340-4346.
- Ávila-Orta, C. A., Martínez-Colunga, J. G., Bueno-Báñez, D., Raudry-López, C. E., Cruz-Delgado, V. J., González-Morones, P., Valdéz-Garza, J. A., Esparza-Juárez, M. E., Espinoza-González, C. J., Rodríguez-González, J. A. (2012). *Patente EU no. WO US 2012/0098163 A1*, Continuous process assisted by ultrasound of variable frequency and amplitude for the preparation of nanocomposites based on polymers and nanoparticles. United States
- Caseri, W. (2000). Nanocomposites of polymers and metals or semiconductors: Historical background and optical properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 21(11), 705-722.

- Chae, D. W. & Byoung Chul, K. (2005). Physical Properties of Isotactic Poly(propylene)/Silver Nanocomposites: Dynamic Crystallization Behavior and Resultant Morphology. *Macromolecular Materials and Engineering*, 290(12), 1149-1156.
- Chae, D. W., Shim, K. B. & Kim, B.C. (2008). Effects of silver nanoparticles on the dynamic crystallization and physical properties of syndiotactic polypropylene. *Journal of Applied Polymer Science*, 109(5), 2942-2947.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., Blevè-Zacheo, T., D'Alessio, M., Zambonin, P. G. & Traversa, E. (2005). Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties. *Chemistry of Materials*, 17(21), 5255-5262.
- Delgado, K., Quijada, R., Palma, R., & Palza, H. (2011). Polypropylene with embedded copper metal or copper oxide nanoparticles as a novel plastic antimicrobial agent. *Letters in Applied Microbiology*, 53(1), 50-54.
- Dubas, S. T., Kumlangdudsana, P. & Potiyaraj, P. (2006). Layer by layer deposition of antimicrobial silver nanoparticles on textile fibers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 289(1-3), 105-109.
- Dowling, D. P., Betts, A. J., Pope, C., McConnell, M. L., Eloy, R. & Arnaud, M. N. (2003). Anti-bacterial silver coatings exhibiting enhanced activity through the addition of platinum. *Surface and Coatings Technology*, 163-164(0), 637-640.
- España-Sánchez, B. L., Ávila-Orta, C. A., Neira-Velázquez, M. G., Solís-Rosales, S. G. & González-Morones, P. (2012). Preparation of polymer nanocomposites with enhanced antimicrobial properties. *Materials Research Society Symposium Proceedings*, 1479, 57-62.
- France, R. M. & Short, R. D. (1998). Plasma Treatment of Polymers: The Effects of Energy Transfer from an Argon Plasma on the Surface Chemistry of Polystyrene, and Polypropylene. A High-Energy Resolution X-ray Photoelectron Spectroscopy Study. *Langmuir*, 14(17), 4827-4835.
- He, Y., Brown, C., He, Y., Fan, J., Lundgren, C. A. & Zhao, Y. (2012). Porous three-dimensional nanorod arrays through selective chemical etching of nanocomposites. *Chemical Communications*, 48(62), 7741-7743.
- Jiang, H., Manolache, S., Wong, A. C. L. & Denes, F. S. (2004). Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(3), 1411-1422.
- Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K. H., Park, K., Yi, J. & Ryu, D.Y. (2009). Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology in vitro*, 23(6), 1076-1084.
- Kojima, I. & Kurahashi, M. (1987). Application of asymmetrical Gaussian/Lorentzian mixed function for X-ray photoelectron curve synthesis. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 42(2), 177-181.
- Kunigal, S., Shivalingappa, L., Robert, S., Miriam, R., Mayu, S. & Jonathan, S. (April, 2005). *Plasma Etching to Enhance Visibility of Nanoparticles in Nanocomposites*. Paper presented in 41st Structures, Structural Dynamics and Materials Conference. Austin, Texas.
- Lingaiah, S., Sadler, R., Ibeh, C. & Shivakumar, K. (2008). A method of visualization of inorganic nanoparticles dispersion in nanocomposites. *Composites Part B: Engineering*, 39(1), 196-201.
- Lingaiah, S., Shivakumar, K. N., Sadler, R. & Sharpe, M. (2005). A method of visualization of dispersion of nanoplatelets in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 65(14), 2276-2280.
- Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q. & Lin, M. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1193-1201.
- Morent, R., De Geyter, N., Leys, C., Gengembre, L. & Payen, E. (2008). Comparison between XPS- and FTIR-analysis of plasma-treated polypropylene film surfaces. *Surface and Interface Analysis*, 40(3-4), 597-600.
- Navaneetha, K. P., Selvarajan, V., Deshmukh, R. R. & Gao, C. (2008). Adhesive properties of polypropylene (PP) and polyethylene terephthalate (PET) film surfaces treated by DC glow discharge plasma. *Vacuum*, 83(2), 332-339.
- Navaneetha, K. P., Selvarajan, V., Deshmukh, R. R. & Gao, C. (2009). Modification of surface properties of polypropylene (PP) film using DC glow discharge air plasma. *Applied Surface Science*, 255(7), 3965-3971.
- Palza, H., Gutiérrez, S., Delgado, K., Salazar, O., Fuenzalida, V., Avila, J. I., Figueroa, G. & Quijada, R. (2010). Toward Tailor-Made Biocide Materials Based on Poly(propylene)/Copper Nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications*, 31(6), 563-567.
- Piotto, S., Concilio, S., Sessa, L., Iannelli, P., Porta, A., Calabrese, E. C., Galdi, M. R. & Incarnato, L. (2013). Novel antimicrobial polymer films active against bacteria and fungi. *Polymer Composites*, 34(9), 1489-1492.
- Radetić, M., Ilić, V., Vodnik, V., Dimitrijević, S., Jovančić, P., Šaponjić, Z. & Nedeljković, J. M. (2008). Antibacterial effect of silver nanoparticles deposited on corona-treated polyester and polyamide fabrics. *Polymers for Advanced Technologies*, 19(12), 1816-1821.
- Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T., Akhter, J., Hameed, A., Yawar, W. & Hasan, M. M. (2010). Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*. *Annals of Microbiology*, 60(1), 75-80.
- Rai, A., Prabhune, A. & Perry, C. C. (2010). Antibiotic mediated synthesis of gold nanoparticles with potent antimicrobial activity and their application in antimicrobial coatings. *Journal of Materials Chemistry*, 20(32), 6789-6798.
- Rai, M., Yadav, A. & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83.
- Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W. C., Vargas-Reus, M. A., Reip, P. & Allaker, R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(6), 587-590.
- Rosenthal, V. D., Bijie, H., Maki, D. G., Mehta, Y., Apisarnthanarak, A., Medeiros, E. A., Leblebicioglu, H., Fisher, D., Álvarez-Moreno, C., Khader, I. A., Del Rocio González Martínez, M., Cuellar, L. E., Navoa-Ng, J. A., Abouqal, R., Guanche Garcell, H., Mitrev, Z., Pirez García, M. C., Hamdi, A., Dueñas, L., Cancel, E., Gurskis, V., Rasslan, O., Ahmed, A., Kanj, S. S., Ugalde, O. C., Mapp, T., Raka, L., Yuet Meng, C., Thu, L. T. A., Ghazal, S., Gikas, A., Narváez, L. P., Mejía, N., Hadjieva, N., Gamar Elanbya, M. O., Guzmán Sirit, M. E. & Jayatileke, K. (2012). International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *American Journal of Infection Control*, 40(5), 396-407.
- Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P. & Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 4(3), 707-716.

- Shahidi, S. & Ghoranneviss, M. (2012). Comparison between oxygen and nitrogen plasma treatment on adhesion properties and antibacterial activity of metal coated polypropylene fabrics. *Fibers and Polymers*, 13(8), 971-978.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A. & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145(1-2), 83-96.
- Sondi, I. & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182.
- Vaia, R. A. & Gianellis, E.P. (2001). Polymer nanocomposites: Status and opportunities. *Materials Research Society Bulletin*, 26(5), 394-401.
- Yeung, K. L., Leung, W. K., Yao, N. & Cao, S. (2009). Reactivity and antimicrobial properties of nanostructured titanium dioxide. *Catalysis Today*, 143(3-4), 218-224.
- Zhang, W., Zhang, Y., Ji, J., Yan, Q., Huang, A. & Chu, P. K. (2007). Antimicrobial polyethylene with controlled copper release. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 83A(3), 838-844.