



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

**PREPARACIÓN IN-SITU DE MATERIALES COMPUESTOS DE
POLIPROPILENO CON PARTÍCULAS DE COBRE Y ESTUDIO DE SU
LIXIVIACIÓN Y PROPIEDADES ANTIFOULING**

MEMORIA PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERA CIVIL QUÍMICA

NATALIA ANDREA MORAGA ALCAÍNO

PROFESOR GUÍA:

HUMBERTO PALZA CORDERO

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:

RAÚL QUIJADA ABARCA

ORIANA SALAZAR AGUIRRE

SANTIAGO DE CHILE

ENERO 2012

“PREPARACIÓN IN-SITU DE MATERIALES COMPUESTOS DE POLIPROPILENO
CON PARTÍCULAS DE COBRE Y ESTUDIO DE SU LIXIVIACIÓN Y PROPIEDADES
ANTIFOULING”

Las estructuras inmersas en el agua de mar son afectadas por un fenómeno común llamado biofouling, donde diferentes organismos se adhieren a la superficie. Este fenómeno produce grandes problemas en la industria marina, generando la necesidad de nuevos materiales con propiedades antifouling. Para ello, los polímeros biocidas son de interés debido a su versatilidad. En estudios recientes se ha demostrado que polímeros con nanopartículas de cobre permiten eliminar bacterias propias de las etapas tempranas del biofouling, sin embargo, la incorporación de nanopartículas es costosa.

El objetivo de este Trabajo es estudiar una nueva metodología, sencilla y económica para la fabricación de compuestos de polipropileno con cobre como agente antifouling. Esta metodología consiste en la síntesis in-situ de partículas de cobre en la matriz polimérica durante el mezclado en fundido de polipropileno. La síntesis in-situ se realiza mediante la descomposición térmica de una sal de cobre y la reducción química de esta sal por acción de un agente químico, ambos a distintos porcentajes de cobre en la carga. Además, se busca caracterizar las partículas de cobre de los materiales preparados, comprobar sus capacidades antifouling dependiendo de la salinidad y la temperatura del agua en que se sumerja y comparar con nanopartículas de cobre comercial.

Los resultados obtenidos permitieron validar la metodología planteada y comprobar que es posible obtener partículas de cobre sintetizadas in-situ. Se verificó que los materiales fabricados son capaces de liberar iones cúpricos (Cu^{2+}) en un medio acuoso, lo que varía según el tipo de partícula que contenga cada compuesto. Los compósitos preparados por metodología in-situ alcanzaron concentraciones de iones cúpricos liberados mayores a las obtenidas con nanopartículas de cobre pre-sintetizadas, acentuándose a mayor porcentaje de cobre p/p en la mezcla.

Al modificar las variables de salinidad y temperatura se presentaron cambios que dependen de la naturaleza de las partículas contenidas en el material. Al aumentar la temperatura del medio disminuyó la cantidad de iones liberados, y al aumentar la salinidad se benefició la liberación de iones por parte de las partículas de cobre metálico, pero se perjudicó en el caso de los óxidos. En los estudios antifouling, los compósitos sugieren una alteración del metabolismo de las células bacterianas, pese a no haber eliminado totalmente la colonización de microflora.

Esta nueva metodología abre puertas para la producción de materiales antifouling con cobre de forma sencilla y a bajos costos, otorgando una variedad de nuevas aplicaciones como las mallas para jaulas en la industria acuícola.

Agradecimientos

La elaboración de este Trabajo de Título ha sido posible gracias a la orientación y los consejos de mi profesor guía, además del apoyo y ayuda de quienes componen el Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Ingeniería, estudiantes memoristas/tesistas y Juan Benavides, encargado del laboratorio.

Aprovecho esta instancia para agradecer a quienes me han acompañado en mis años de estudio. Agradezco a Dios por darme la fuerza para recuperarme en los momentos difíciles y lograr terminar esta importante y compleja etapa; estoy orgullosa de haber sido capaz de hacerlo. A mis padres, Margarita y Alfonso, gracias por su apoyo incondicional, por sus palabras de aliento, por sus consejos y por amarme tanto como lo hacen. A mis hermanos Claudia, Alfonso y Miguel que siempre han estado conmigo, gracias por ser un pilar fundamental en mi vida. A mis sobrinos Ricardo, Valentina y Fernando, gracias por hacerme reír cuando lo necesitaba y motivarme a seguir adelante.

Finalmente, agradezco a mis amigos y familiares, por el apoyo que me brindaron en los periodos en que la universidad me consumía, por subirme siempre el ánimo y compartir conmigo mis penas y alegrías. Me siento muy afortunada de estar rodeada de tantas personas que se preocupan y quieren lo mejor para mí; no los nombro porque no quiero que alguno quede en el tintero, pero sé que cada uno comprende lo importante que son y lo agradecida que estoy, gracias totales otra vez.

Tabla de contenidos

Capítulo 1: Introducción.....	1
1.1. Antecedentes Generales.....	1
1.2. Biofouling marino.....	2
1.2.1. Problemas asociados al biofouling.....	3
1.2.2. Costos del biofouling en la industria acuícola.....	5
1.2.4. Mecanismo de formación del biofouling.....	6
1.3. Tecnologías Antifouling.....	12
1.3.1. Métodos químicos.....	13
1.3.2. Métodos biológicos.....	15
1.3.3. Métodos físicos.....	15
1.4. Cobre como agente biocida y antifouling.....	16
1.5. El cobre en el medioambiente acuático.....	18
1.6. Polímeros biocidas.....	19
1.7. Nanocompuestos poliméricos.....	20
1.7.1. Métodos para la fabricación de nanocompuestos poliméricos con partículas metálicas.....	22
1.7.2. Acción del cobre en los compósitos biocidas y antifouling.....	22
1.8. Características de agua de mar.....	25
1.9. Motivación y Alcances.....	26
1.9.1. Motivación.....	26
1.9.2. Descripción del proyecto.....	27
1.9.3. Alcances.....	28
Capítulo 2: Objetivos.....	29
2.1. General:.....	29
2.2. Específicos:.....	29
Capítulo 3: Materiales y Métodos.....	30
3.1. Preparación de compósitos poliméricos.....	30
3.1.1. Materiales.....	30
3.1.2. Procedimiento.....	31
3.2. Caracterización del material compuesto.....	32
3.3. Ensayo de liberación de iones de cobre.....	32
3.3.1. Materiales.....	34
3.3.2. Preparación de soluciones.....	35

3.3.3. Procedimiento	35
3.4. Ensayo antifouling	37
Capítulo 4: Resultados y Discusión.....	38
4.1. Caracterización de los compósitos	38
4.1.1. Síntesis in-situ de compósitos de partículas de cobre por descomposición térmica	38
4.1.2. Síntesis in-situ de partículas de cobre con Formaldehído-sulfóxido sódico ..	42
4.1.3. Síntesis ex-situ de compósitos con nanopartículas de cobre	45
4.1.4. Calcinación	48
4.2. Liberación de iones de cobre	50
4.2.1. Lixiviación: Condiciones base	50
4.2.2. Efecto de temperatura y salinidad en la lixiviación	56
4.2.3. Velocidades de liberación.....	61
4.3. Ensayos antifouling	64
Capítulo 5: Conclusiones.....	66
Capítulo 6: Bibliografía	68

Capítulo 1: Introducción

1.1. Antecedentes Generales

El biofouling es un fenómeno común que ocurre en todas las superficies sumergidas en el ambiente marino. Los materiales inmersos en el mar son cubiertos rápidamente por una película macromolecular inerte, la cual favorece la colonización de bacterias, organismos unicelulares y luego el asentamiento de organismos multicelulares como macroalgas y moluscos (ver Figura 1).

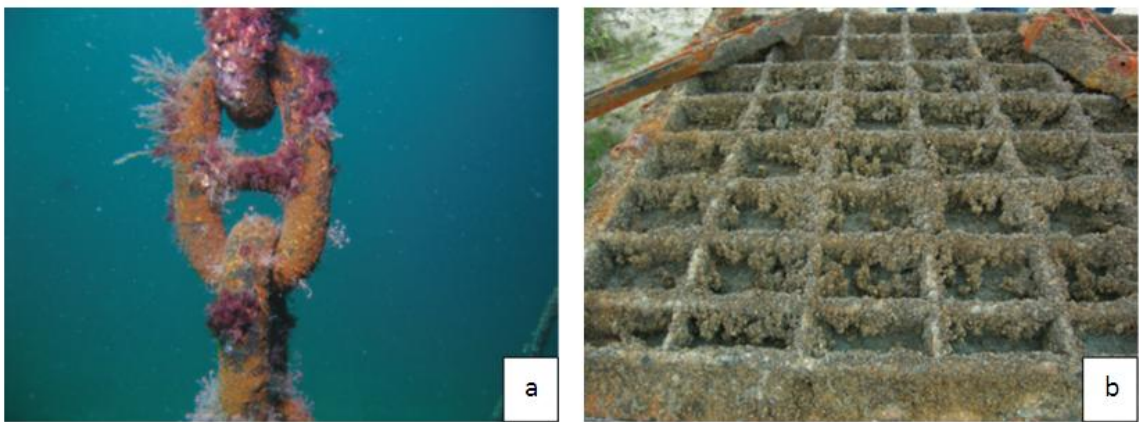


Figura 1. Biofouling adherido: (a) en una cadena sumergida y (b) en un sistema de enfriamiento de agua ^[1].

Este fenómeno afecta a las estructuras inmersas en el agua, como tuberías, cables, redes de pesca y pilares de puentes, produciendo efectos adversos que significan un gran problema para la industria marina como la pesca, la acuicultura o el transporte en barcos, generando así consecuencias económicas. Se estima que este fenómeno causa pérdidas económicas de más de US\$5.700 millones por año en el mundo entero ^[1].

Por ejemplo, en la década de los ochenta, las primeras redes que fueron utilizadas en el cultivo de salmones en balsas jaulas provenían de la pesca extractiva o industrial, con lo que se pasaba por alto que éstas se mantendrían sumergidas en el mar por largos períodos (12 meses o más) y serían presas de la adherencia de organismos incrustantes mediante la formación del biofouling, que a su vez originaría problemas y costos ^[2].

Chile es un importante actor mundial en la industria del cultivo de salmón, ocupando el segundo lugar en la producción de salmón atlántico cultivado con un 27,5% del total, superado sólo por Noruega con 50,5% (producción mundial de salmón atlántico cultivado el año 2008: 1.467 miles de toneladas). Además, ocupa el primer lugar en la producción de salmón coho cultivado con 81,8% de un total de 140 miles de toneladas en el año 2008. Por esta razón, los problemas asociados al biofouling se traducen en altos costos para la industria salmonera nacional. ^[3]

Las primeras alternativas utilizadas contra el biofouling fueron recubrimientos y pinturas, los que previenen el crecimiento de organismos adheridos (bacterias, algas, moluscos) mediante moléculas tóxicas (biocidas), principalmente basadas en cobre ^[4]. Sin embargo, estas alternativas presentan desventajas relacionadas con su eficiencia y el impacto ambiental que producen ^[5].

Por lo anterior, es importante realizar una exhaustiva investigación centrada en el desarrollo de una solución antifouling efectiva. En este ámbito, la fabricación de polímeros con rellenos con nanopartículas de cobre que posean propiedades antifouling resulta interesante gracias a la gran versatilidad que poseen los materiales poliméricos.

1.2. Biofouling marino

El biofouling marino, usualmente denominado ensuciamiento (fouling) biológico, puede ser definido como la acumulación indeseada de microorganismos, plantas y animales en las superficies artificiales inmersas en el mar ^[4] (ver Figura 2).

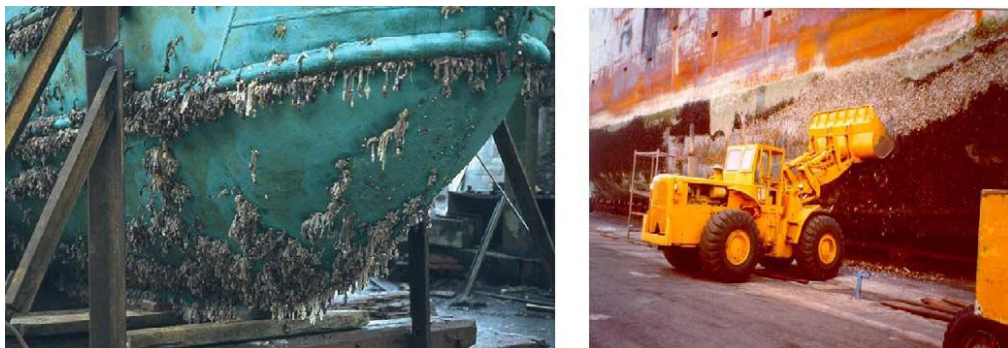


Figura 2. Biofouling depositado en cascos de navíos. ^[4]

1.2.1. Problemas asociados al biofouling

La acumulación y crecimiento de organismos sésiles¹ y algas que forman el biofouling en estructuras artificiales sumergidas en el mar, causa problemas serios a las industrias marítimas y a los navíos alrededor del mundo ^[6].

En el caso de los barcos, uno de los problemas producidos por el asentamiento biológico es la alta resistencia a la fricción, debido a la rugosidad generada, lo que conduce a un aumento del peso y la consiguiente reducción de la velocidad potencial y la pérdida de la capacidad de maniobra. Para compensar esto, es necesario un mayor consumo de combustible, lo que causa un incremento de las emisiones de compuestos dañinos. Esto también podría implicar una necesidad de maquinaria más pesada y menos eficiente energéticamente. El aumento del consumo de combustible puede llegar hasta un 40% y los costos de viajes en general hasta un 77%.

Otra consecuencia negativa que afecta a la industria de barcos es el incremento de la frecuencia de las operaciones de dry-docking², por lo cual se pierde tiempo y los recursos se desperdician al aplicar las medidas restauradoras. También se genera una gran cantidad de desechos tóxicos durante este proceso. Asimismo, existe un deterioro del recubrimiento de las estructuras sumergidas, de modo que son favorecidas la corrosión, decoloración y alteración de la conductividad del material. ^[4]

Los sistemas basados en la óptica, como los sensores, tienen mediciones y precisión depreciadas por la adherencia de bacterias en la superficie ^[7]. En los intercambiadores de calor el biofouling puede producir obstrucción de sistemas ^[8]. Además, se produce la introducción de especies en medioambientes donde no están naturalmente presentes (especies invasivas o no nativas).

En la industria de la acuicultura, el biofouling afecta el equipamiento, la infraestructura e incluso las provisiones. El equipamiento y la infraestructura utilizados en esta industria corresponden a barcos y barcasas, boyas y cuerdas, redes y jaulas en el cultivo de peces, además de bandejas, redes de perlas, cuerdas y bolsas en el cultivo de mariscos. ^[1]

¹ Organismos acuáticos que crecen adheridos en sustrato, del que no se separa y sobre el que no se desplaza, por ej. esponjas, corales y percebes.

² Proceso en donde se utilizan plataformas para la construcción, mantención y reparación de embarcaciones.

Las características y tipos de los materiales afectados son extremadamente variados, van desde plásticos como el PVC y el nylon, hasta diversos metales como el acero, los cuales pueden tener superficies planas, lisas o muy heterogéneas. Los materiales pueden ser flexibles como en las redes o duros como en las estructuras de jaulas. Esta alta variabilidad en los tipos de material y las características de sus superficies influencia la acumulación del biofouling, proporcionando una alta diversidad en los hábitats para satisfacer los diferentes requisitos de asentamiento y conduciendo a diferentes ensamblajes, incluso en la misma granja acuícola.

En el caso de la industria acuícola, el cuidado y condiciones medioambientales necesitan ser óptimos para conseguir un producto vendible. Para el máximo crecimiento, la alimentación también debe estar en un nivel óptimo, lo que sólo puede ser logrado si el flujo a través de las redes, bandejas o bolsas es tan alto como sea posible, es decir minimizando el fouling. Si el biofouling es alto, los costos de producción se incrementan debido a la reducción de la tasa de crecimiento de las poblaciones y al aumento en los costos de limpieza y mantenimiento.

En la acuicultura de peces, si el flujo es bajo o las redes se encuentran completamente bloqueadas, los niveles de oxígeno disminuyen drásticamente. Los peces dejan de alimentarse y por lo tanto, la mortalidad aumenta cada vez más. Además, se evita la eliminación de materiales de desecho y la jaula actúa como un reservorio o vector de enfermedades y parásitos. El biofouling en las redes puede aumentar la resistencia hasta tres veces o el coeficiente de arrastre hasta un 900%.

Otro de los importantes problemas asociados al biofouling es el drástico aumento en el peso de las estructuras, no sólo en el cultivo de peces, sino también en el de moluscos. El biofouling añade peso a las estructuras sumergidas, que puede tener implicancias en la manipulación mecánica de los equipos, especialmente cuando las redes son removidas desde el sistema para la limpieza. Las redes pueden ganar hasta 11 veces su propio peso debido al biofouling dentro de algunas semanas, dependiendo de la temporada y el lugar, poniendo así una carga extrema sobre la estructura y necesitando de equipos de elevación especializados. Una red pecera de nylon pesa alrededor de 400 kilos al ingresar al agua, mientras que una red en mantención puede llegar a pesar hasta 10 toneladas ^[2].

El biofouling, además, puede servir como un trampolín para enfermedades o parásitos. Si la condición metabólica de cualquier especie cultivada es reducida, por ejemplo mediante tensión o disponibilidad de alimentos, esto podría conducir a una mayor susceptibilidad al ataque de una enfermedad. Se sospecha que el biofouling transfiere ectoparásitos³ como los piojos de mar y los enteroparásitos⁴ a las especies almacenadas. La amebiosis branquial (AGD) es un importante problema de salud en el sector del cultivo de salmón, causado por la *Neoparamoeba pemaquidensis*.^[1]

1.2.2. Costos del biofouling en la industria acuícola

La acuicultura es una industria cada vez más importante debido a la disminución de la pesca mundial. En el 2004 la producción mundial acuícola fue de 59.4 millones de toneladas con un valor de US\$70.300 millones.

Los costos exactos actuales generados por el biofouling en la industria acuícola, en equipamiento, infraestructura y provisiones, no son conocidos debido a que no se han evaluado con precisión y sólo hay disponibles estimaciones. Existen dificultades para los operadores para determinar qué pérdidas están relacionadas al biofouling y cuáles a otros factores. Estimaciones muestran que aproximadamente un 5-10% del valor de la industria es gastado en lidiar con los problemas asociados al biofouling cada año, por lo que económicamente éste puede disminuir el valor del producto hasta un 90%. Un estudio estimó que para Noruega el costo del ensuciamiento en la industria del salmón estaba entre €0.02 y €0.09 por kg de salmón producido, lo que podría haber significado un costo en estrategias antifouling para la industria noruega del salmón de hasta €45.630.000 en el año 2003 (producción total de salmón en Noruega el año 2003: 507.000 toneladas).^[1]

1.2.3. Estrategias antifouling en la acuicultura

En la actualidad, el control de biofouling en acuicultura se limita a la limpieza y al uso de algunos revestimientos antifouling. Los diversos criterios no son excluyentes, sino que por lo general son combinados para producir una estrategia antifouling que demuestre ser exitosa para un sitio particular. En un estudio basado en entrevistas

³ Parásitos que viven en la superficie de otro organismo.

⁴ Parásitos intestinales.

industriales se encontró que la industria noruega de cultivo de peces básicamente sigue tres diferentes estrategias combinadas: ^[1]

Estrategia 1: recubrimiento en base a cobre en las redes, en combinación con el secado de las redes en el lugar.

Estrategia 2: recubrimiento en base a cobre en las redes en combinación con el lavado e incluso a veces el secado con aire.

Estrategia 3: uso de redes sin recubrimiento que se limpian con frecuencia.

1.2.4. Mecanismo de formación del biofouling

Los organismos que participan en el biofouling marino son principalmente las formas sésiles que están naturalmente en las aguas poco profundas a lo largo de la costa. Esto ocurre fundamentalmente porque sólo esos organismos, que tienen la habilidad para adaptarse a las nuevas situaciones creadas por el hombre, pueden adherirse lo suficientemente firme para evitar ser removidos ^[4].

Más de 4000 tipos de especies de biofouling marino han sido reportadas globalmente, la mayoría de las cuales vive en las aguas superficiales de la costa y en puertos que proveen una gran cantidad de nutrientes.

El proceso del biofouling se produce tanto por reacciones físicas y reacciones bioquímicas. Las reacciones físicas se rigen por factores tales como la interacción electrostática y el flujo de agua, e inducen la formación del biofilm o biopelícula “acondicionada” y la adsorción de microorganismos. Las reacciones bioquímicas incluyen la secreción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE), el movimiento y la adhesión secundaria de microorganismos, la formación del biofilm y la adhesión de organismos de mayor tamaño. Mientras que las reacciones físicas suelen ser reversibles, las reacciones bioquímicas son efectivamente irreversibles. Por lo tanto, sería más fácil prevenir el biofouling durante las reacciones físicas más que en las bioquímicas, puesto que una inhibición exitosa de las reacciones físicas limitaría las siguientes reacciones. ^[9]

Se ha considerado que el proceso de biofouling marino se compone de cuatro etapas: formación de la película acondicionada, colonización primaria, colonización secundaria y colonización terciaria (ver Figura 3). La primera etapa involucra la adsorción de

moléculas orgánicas disueltas (biofouling molecular); la segunda corresponde a la colonización por procariontas⁵ y algunos eucariontes unicelulares⁶, como diatomeas⁷, flagelados⁸, amebas y ciliados⁹ en el proceso de formación del biofilm; la tercera a la colonización por esporas de algas y protozoos; en la última etapa ocurre el ensamble de larvas invertebradas de organismos de mayor tamaño. Estas fases pueden ocurrir secuencialmente, superpuestas o suceder en paralelo. Además, se puede demostrar causalidad, como que las etapas tempranas, es decir, la adsorción de moléculas y colonización por procariontas son importantes para las últimas etapas como asentamiento de larvas y esporas. [1]

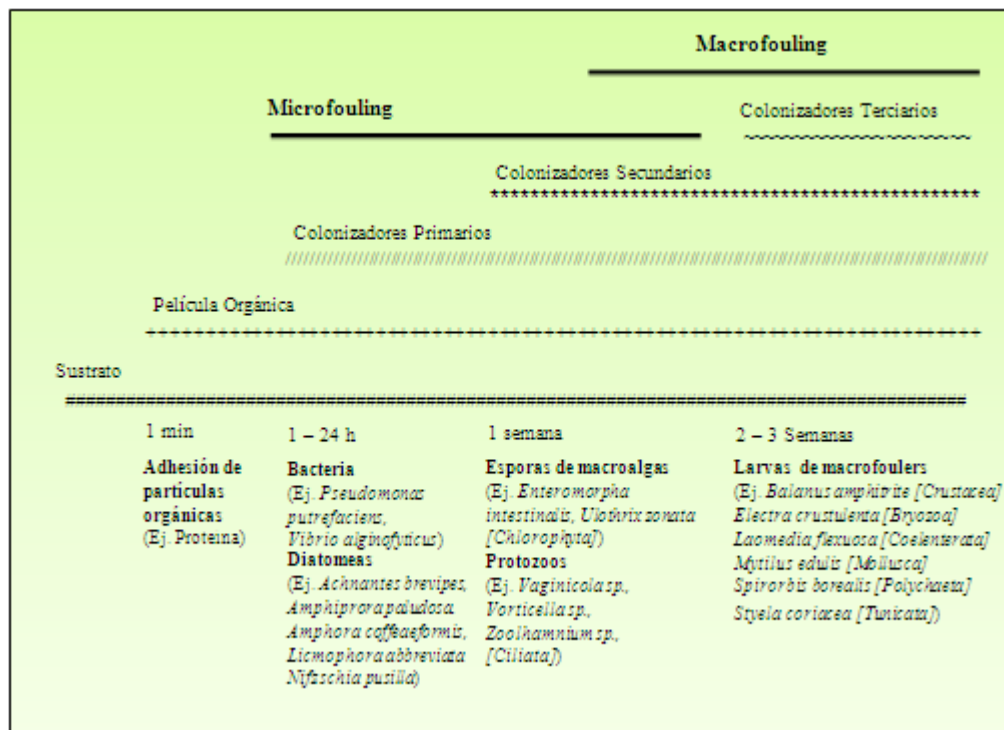


Figura 3. Estructura temporal de formación del biofouling. [4]

⁵ Organismos microscópicos del reino monera formados por una sola célula sin núcleo diferenciado.

⁶ Organismos formados por una sola célula con núcleo diferenciado.

⁷ Algas unicelulares microscópicas.

⁸ Protozoos caracterizados por uno o más flagelos (apéndices móviles) largos en una o más fases de su ciclo vital.

⁹ Protozoos cubiertos de cilios.

1.2.4.1. ***Etapas 1: Formación de la película acondicionada***

El primer evento consiste en la formación de una película orgánica acondicionada que consiste de moléculas orgánicas como polisacáridos, proteínas y proteoglicanos¹⁰, y posiblemente compuestos inorgánicos, que son rápidamente acumulados en toda la superficie sustrato [4]. Este paso es corto (1 min) y provee una superficie pegajosa para que los microorganismos se adhieran.

Durante las etapas iniciales del biofouling, no todas las moléculas orgánicas que se encuentran en el agua pueden absorber por igual al mismo sustrato. El biofouling molecular puede inhibir o facilitar el ataque microbiano y proporcionar microorganismos con una fuente de carbono para su crecimiento.

1.2.4.2. ***Etapas 2: Colonización primaria***

El biofilm bacteriano es una comunidad organizada, que forma complejas arquitecturas con microcolonias de especies homogéneas y mezcladas y canales de agua dentro de la matriz, los que pueden transportar nutrientes o metabolitos mediante flujo convectivo [10].

El biofilm se desarrolla a medida que las bacterias y microalgas se adhieren a la superficie, y en este proceso las diatomeas son los participantes más importantes. La formación del biofilm consta de las siguientes etapas: adsorción inicial, adhesión irreversible, maduración I, maduración II y dispersión [9]. Estas 5 etapas se esquematizan en la Figura 4.

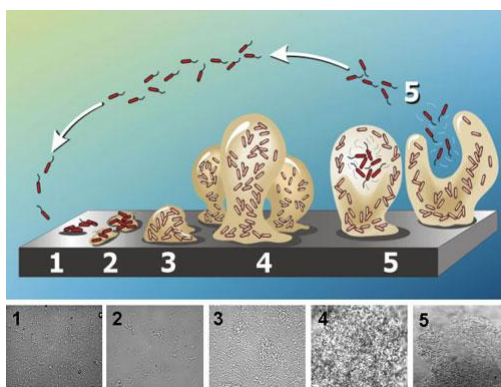


Figura 4. Formación del biofilm: (1) Adsorción inicial, (2) Adhesión irreversible, (3) Maduración I, (4) Maduración II y (5) Dispersión. [9]

¹⁰ Glicoproteínas formadas por un núcleo proteico.

Después de 1 a 2 h ocurre la primera etapa de formación del biofilm correspondiente a la adsorción inicial (ver Figura 4), la cual está principalmente dominada por efectos físicos como el movimiento browniano, la interacción electrostática, la gravedad, el flujo del agua y las fuerzas de van der Waals ^[9]. La adsorción reversible consiste en una atracción instantánea que mantiene a las bacterias cerca de la superficie, y es denominado reversible porque los organismos pueden ser fácilmente removidos antes que hayan efectuado un contacto considerable con la superficie de la célula.

Luego ocurre la segunda etapa de adhesión irreversible (ver Figura 4), esencialmente mediante efectos bioquímicos como la secreción de SPE, las cuales contienen polisacáridos, lipopolisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos. En esta fase las bacterias utilizan los polímeros extracelulares para adherirse temporalmente a la superficie, siendo principalmente glucosa y fructosa basadas en fibrillas polisacáridas. Estas fibrillas se anclan a sus contrapartes químicas en una película macromolecular mediante lectinas (proteínas) o cationes bivalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}). Con la creación de enlaces covalentes entre el glicocálix¹¹ bacteriano y la película macromolecular, la fase de adsorción se combina con la fase de adhesión. La capa del crecimiento bacteriano, compuesto por células vivas y muertas y sus SPE secretadas, junto con la película macromolecular, constituyen el llamado film primario. ^[8]

Las colonias bacterianas sésiles cambiarán su fenotipo¹², de comportamiento planctónico a un estado metabólico de biofilm adaptado, incluyendo el aumento de la producción de sustancias poliméricas extracelulares. El cambio fenotípico está estrechamente vinculado a un sistema dependiente de la densidad, llamado “sentido de quórum”, el que ha sido demostrado con muchas especies de bacterias diferentes ^[10]. Como el nombre lo indica, la célula bacteriana puede “sentir” que es parte de una concentración de células de un cierto tamaño (el “quórum”), debido a que compuestos de bajo peso molecular son secretados, acumulados y reconocidos por las células. El sentido de quórum es considerado para permitir un mejor acceso a los nutrientes, colonizaciones más fuertes y mayores niveles de resistencia a entornos hostiles y a los antibióticos.

¹¹ Material polimérico extracelular producido por algunas bacterias u otras células.

¹² Expresión del genotipo en función de un determinado ambiente; cualquier característica o rasgo observable de un organismo.

Diatomeas y protozoos aparecen después del desarrollo del film primario, con una clara dominancia cuantitativa de las diatomeas. La adhesión de diatomeas es un proceso más complicado que para las bacterias y se produce después de 24 h aproximadamente. Debido a que la mayoría de las diatomeas carecen de flagelos, no puede aproximarse activamente a una superficie determinada, pero se posan pasivamente en el sustrato. Por ejemplo, las diatomeas bentónicas (que habitan el fondo de los ecosistemas acuáticos) se aproximan a la superficie mediante fenómenos de gravedad o corrientes marinas.

Después que las diatomeas se posan en la superficie, forman activamente el acoplamiento reversible llamado adhesión primaria mediante secreción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). A continuación, las diatomeas se reorientan y se mueven a lo largo de la superficie a mejores posiciones en base a sus preferencias, este proceso es llamado deslizamiento de diatomeas. Después de este deslizamiento, si las diatomeas continúan su ciclo de vida en esa posición, formarán la adhesión secundaria irreversible por medio de la secreción de una gran cantidad de SPE. [9]

Las SPE de las diatomeas están compuestas de polisacáridos ácidos carboxilados o sulfatados, los que están implicados en la adhesión primaria, y proteoglicanos¹³ que están envueltos en el deslizamiento de diatomeas y estabilización entrecruzada de la matriz del biofilm.

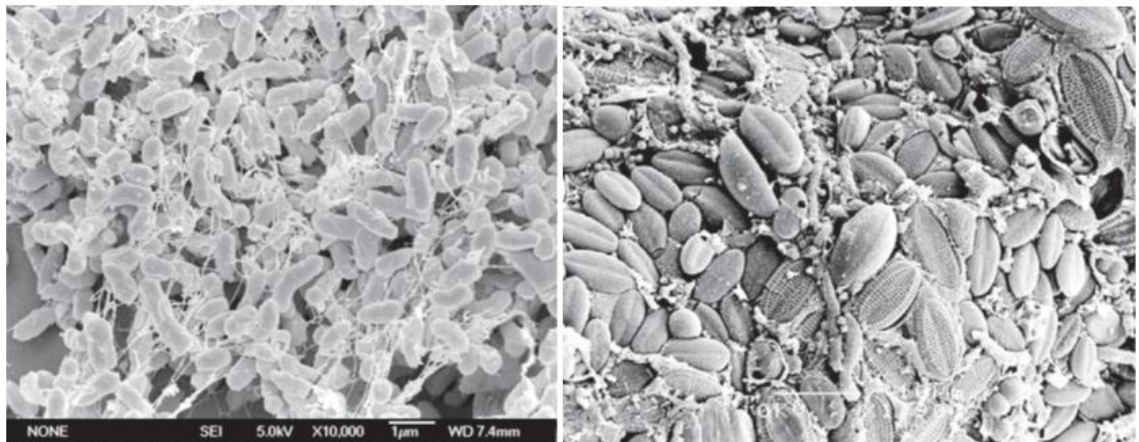


Figura 5. SEM de un biofilm de monoespecies de bacteria *Pseudoalteromonas spongie* (aumento 10000x) y de un biofilm de multiespecies desarrollado en un porta vidrios (aumento 1900x). [1]

¹³ Glicoproteínas formadas por un núcleo proteico al que se encuentran unidos covalentemente los polisacáridos denominados glicosaminoglicanos.

La tercera y la cuarta etapa en la formación del biofilm se caracterizan por la agregación celular en microcolonias seguida por su maduración (ver Figura 4). Todos los biofilms maduros tiene una estructura tridimensional y su arquitectura es fuertemente dependiente de las especies y la función de microorganismos dentro de ellos (ver Figura 5). Una serie de investigaciones han demostrado que diferentes factores físicos (como la velocidad del flujo, las fuerzas hidrodinámicas, las propiedades del sustrato, la viscosidad), factores químicos (como la disponibilidad de nutrientes y la producción de SPE) y factores biológicos (como la competencia y la depredación) afectan la arquitectura del biofilm, tanto por separado como combinados.
[1]

Después de la maduración del biofilm, las células que lo conforman se desprenden de la colonia, retornan a la vida planctónica transitoriamente y se dispersan.

1.2.4.3. Etapa 3: Colonización secundaria

Las esporas de macroalgas y protozoos aparecen después de 1 semana aproximadamente y constituyen principalmente a los colonizadores secundarios en el proceso del biofouling (ver Figura 3).

El acoplamiento de esporas de macroalgas es realizado por especies como *Enteromorpha intestinalis* y *Ulothrix zonata*; los protozoos colonizadores pertenecen en su mayoría a las formas sésiles o hemisésiles o son depredadores móviles, no considerándose un verdadero epibionte¹⁴. [8]

La existencia de SPE y la rugosidad de las colonias microbianas irregulares asentadas hasta el momento ayudan a atrapar más partículas y organismos, los que podrían ser atraídos por estímulos sensoriales. El paso desde una biopelícula microbiana a una comunidad más compleja que típicamente incluye productores primarios multicelulares, herbívoros y descomponedores, corresponde a la tercera etapa del biofouling. [4]

1.2.4.4. Etapa 4: Colonización terciaria

El evento más destacado en el biofouling marino es la colonización de una superficie por organismos macroscópicos o colonizadores terciarios, y sucede después de 2 a 3

¹⁴ Organismo no parásito que vive por lo menos una fase de su ciclo vital encima de otro de mayor tamaño, al cual generalmente no le causa ningún problema.

semanas (ver Figura 3). Las esporas de macroalgas y las larvas de percebes¹⁵, briozoos¹⁶, moluscos, poliquetos¹⁷, tunicados¹⁸, celenterados¹⁹, etc., se comportan de la misma forma respecto al asentamiento en la superficie.

La primera característica común es la importancia de señales del biofilm para el asentamiento. Las esporas y las larvas de precursores de macrofouling²⁰ generalmente se establecen selectivamente en respuesta a las especies dominantes en el biofilm en una determinada superficie. Algunas especies del biofilm captan ciertas larvas, mientras que otras repelen a los mismos. Una posible explicación para la acción repelente de ciertos biofilms podría estar en la producción microbiana de metabolitos dañinos para los organismos macroscópicos.^[10]

Otra característica común del asentamiento de organismos macroscópicos son las señales fisicoquímicas. Algunos experimentos han mostrado que las larvas invertebradas parecen ser capaces de seleccionar sustratos convenientes, y su elección es determinada por la topografía de la superficie, condiciones del flujo de agua y propiedades químicas. Por otra parte, generalmente es aceptado que el asentamiento y la metamorfosis de larvas sean influenciados por señales químicas provenientes de adultos de la misma especie, organismos presa y sustratos.

1.3. Tecnologías Antifouling

La severidad del biofouling depende de un gran número de parámetros, incluyendo la temperatura, la salinidad, la luz, la geografía, la profundidad y la velocidad de viaje. Por ejemplo, el biofouling generalmente es más grave en las zonas con alta temperatura del agua porque esta es la condición principal para determinar los periodos de reproducción y tasas de crecimiento de los organismos. Desafortunadamente, estos importantes factores no pueden ser modificados en gran medida. Por lo tanto, para prevenir eficazmente el biofouling, han sido investigados una variedad de

¹⁵ Crustáceo cirrípedo que crece sobre las rocas batidas por el oleaje.

¹⁶ “Animales musgo”.

¹⁷ Clase del filo de los anélidos.

¹⁸ Urocordados, filo de los cordados.

¹⁹ Cnidarios, invertebrados diblásticos acuáticos.

²⁰ Ensuciamiento marino por organismos macroscópicos.

recubrimientos y pinturas para lograr inhibir químicamente los organismos incrustantes. Desde otro punto de vista, durante el desarrollo de la microtecnología, se ha investigado la influencia de factores físicos a microescala en el biofouling y se han planteado algunas nuevas tecnologías antifouling que implican cambios en los factores físicos. Además, los microorganismos pueden secretar metabolitos que inhiben la fijación de algunos microorganismos, y si se concentran extractos de estos metabolitos, también podrían ser agentes antifouling eficaces. ^[9]

En general, los métodos antifouling se pueden dividir en tres categorías: métodos químicos, biológicos y físicos.

1.3.1. Métodos químicos

Algunas de las desventajas del biofouling marino han sido reconocidas y combatidas por más de 2000 años, y durante este tiempo han sido investigados una variedad de recubrimientos para inhibir químicamente la adherencia de los organismos mediante la disolución de partículas.

Desde tiempos de los fenicios se han desarrollado distintos revestimientos basados principalmente en cobre. Muchos avances se hicieron en esta materia utilizando recubrimientos con varios tipos de sustancias y materiales, pero no fue sino hasta finales del siglo XX que Sir Humphrey Davy, estudiando el proceso de corrosión del cobre, mostró claramente que era la disolución del cobre en el mar lo que prevenía el biofouling. Sin embargo, después de la introducción de barcos de hierro a finales del siglo XVIII, el uso del revestimiento de cobre de estos barcos se interrumpió, debido a que su acción antifouling no siempre era certera y tenía efectos corrosivos sobre el hierro. De esta forma, varias alternativas fueron probadas, incluyendo revestimientos de zinc, plomo, níquel, arsénico, hierro galvanizado y aleaciones de antimonio, zinc y estaño, seguido de revestimientos de madera con cobre. Además, se probaron revestimientos no metálicos como fieltro, tela, goma, ebonita, corcho, papel, vidrio, esmalte y baldosas. ^[4]

Una variedad de pinturas fue desarrollada a mediados del siglo XIX basadas en la idea dispersar una sustancia tóxica en un medio polimérico. El óxido de cobre, el arsénico y el óxido de mercurio fueron agentes antifouling populares en esa época.

Desde finales del siglo XX, orgánicos de estaño y sus derivados han sido ampliamente utilizados como recubrimientos y pinturas antifouling, a causa de su actividad contra una amplia gama de especies incrustantes. Los compuestos orgánicos de estaño que han sido usados como métodos antifouling incluyen al óxido de tributilestaño (TBTO) y al fluoruro de tributilestaño (TBTF). Esos compuestos orgánicos de estaño antifouling son fungicidas de gran alcance, e inhiben completamente el crecimiento de la mayoría de los organismos asociados al biofouling en concentraciones muy bajas. ^[9]

Con estos nuevos agentes antifouling se desarrollaron diferentes tecnologías apuntando al desarrollo de modernas pinturas, que han sido los productos para el control del biofouling más utilizados a lo largo de la historia. Las pinturas que contienen estos compuestos pueden ser clasificadas como aquellas con matrices insolubles y solubles, de acuerdo a las características químicas del ligante y su solubilidad en el agua.

El desarrollo de pinturas a base de copolímeros con auto-pulido (SPC) con tributilestaño (TBT) en la década de 1970 introdujo un cambio revolucionario en el rendimiento y la vida útil de las pinturas antifouling. Las pinturas TBT-SPC están basadas en un polímero acrílico (usualmente metacrilato de metilo) con grupos TBT ligados al polímero por medio de un éster. Cuando se sumerge en el agua, las partículas de pigmento soluble (como ZnO) comienzan a disolverse. Una de sus principales ventajas es que la manipulación de la química de los polímeros puede controlar la tasa de pulido. Además, tienen una alta resistencia mecánica, alta estabilidad a la oxidación, cortos tiempos de secado, y su mantenimiento es conveniente y de bajo costo. Por lo tanto los recubrimientos antifouling TBT-SPC fueron ampliamente aplicados a la industria del transporte marítimo antes que fueran prohibidos en todo el mundo por la OMI (Organización Marítima Internacional) en el año 2008 ^[11].

Luego, se desarrollaron los SPCs libres de estaño, los cuales reaccionan de forma similar a los SPCs con estaño, pero el material de su matriz es principalmente un copolímero acrílico y un metal. Junto con el zinc, la mayoría de las pinturas antifouling sin estaño disponibles en la actualidad contienen cobre y algunas contienen plata. Actualmente, los compuestos de cobre más importantes utilizados con fines antifouling incluyen cobre metálico, tiocianato cuproso y óxido de cobre. ^[9]

En comparación con el amplio espectro de los recubrimientos antifouling TBT, los que contienen cobre sólo pueden atacar a organismos específicos, por lo que es necesario añadir algunos refuerzos altamente tóxicos para mejorar las propiedades antifouling. Estos son Irgarol 1051 y Diuron, piritiona e isotiazolona de cobre.

La preocupación por el impacto ambiental que producen los biocidas antifouling llevó a un incremento por el interés de desarrollar soluciones de control de biofouling libres de biocidas. En particular, el foco de más atención ha sido desarrollar una superficie que reduzca la fuerza de la adhesión de los organismos del biofouling. Para ello, se han probado muchos tipos de polímeros genéricos, pero sólo dos grupos de materiales parecen cumplir los requisitos, las siliconas y los fluoropolímeros ^[1]. Algunos recubrimientos de baja energía superficial también han sido preparados con resinas acrílicas modificadas y nano-SiO₂. Sin embargo, no han tenido buenos resultados y cuentan con otras deficiencias como alto costo, propiedades mecánicas pobres, y dificultad al volver a pintar ^[9].

1.3.2. Métodos biológicos

Los métodos biológicos involucran el uso de una variedad de enzimas o metabolitos secretados por células como sustitutos de los tradicionales biocidas. Debido a que estas secreciones orgánicas son biodegradables, deberían ser amigables con el medioambiente.

A principios de 1999, fue reportado que sustancias activas secretadas por algas azules podían inhibir el crecimiento de diatomeas ^[12]. Lo mismo ocurrió con algas rojas y cafés ^[13,14,15]. Componentes funcionales antifouling también han sido descubiertos en otros organismos como hongos, esponjas y algunas bacterias ^[8].

1.3.3. Métodos físicos

Los métodos físicos incluyen la electrólisis, la radiación y otros métodos para reducir el biofouling. También, pueden utilizar una modificación de las propiedades físicas superficiales como la topografía o el potencial de carga, para reducir al mínimo la adhesión ^[4]. Sin embargo, en la mayoría de los casos no hay teorías convincentes para explicar las diferentes acciones antifouling de estos métodos, debido a que el proceso de desarrollo de biofouling es un problema bioquímico complejo en lugar de un

problema físico puro, y se requiere información detallada del mecanismo de adhesión biológica ^[9].

1.4. Cobre como agente biocida y antifouling

Como se señaló anteriormente, el cobre es el agente biocida y antifouling más utilizado. Hoy en día, los usos antimicrobianos del cobre se han expandido para incluir medicinas antimicrobianas, productos de higiene oral, aparatos de higiene médica, antisépticos, artículos para limpieza de cocina, textiles antimicrobianos y pinturas antifouling (que reducen las poblaciones bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en un 99,9975% en 24 horas) ^[16]. A lo anterior se suma la potente actividad que tiene el cobre sobre muchas especies de hongos, algas y virus ^[17].

Desde que el primer barco fue revestido con cobre en 1761, éste ha sido usado como agente antifouling, y actualmente se utilizan compuestos, tales como el óxido cuproso (Cu_2O), el tiocianato de cobre (CuSCN) o el cobre metálico ^[1].

Aunque algunas formas elementales de cobre se encuentran naturalmente en el ambiente, la mayoría son producidas comercialmente a partir de minerales sulfurados u oxidados. El estado de oxidación más importante de cobre, el más común en el agua y el más tóxico para las especies es el Cu^{2+} (ion cúprico).

Se han propuestos distintos mecanismos que explicarían el efecto tóxico del cobre sobre los microorganismos. Estos se enumeran a continuación y se resumen en la Figura 6: ^[18]

- Desplazamiento de metales esenciales para la célula.
- Cambios en la estructura de ácidos nucleicos y proteínas.
- Interferencias en la fosforilación oxidativa y el balance osmótico.
- Producción de radicales libres: La reacción redox: $\text{Cu}^{2+} \leftrightarrow \text{Cu}^{1+}$ cataliza la producción de radicales hidróxido muy reactivos que pueden dañar lípidos, proteínas, el ADN y otras biomoléculas.
- Permeabilización de la membrana celular: Se ha reportado que la exposición de *Saccharomyces cerevisiae* a ión cúprico Cu^{2+} (100 μM CuCl_2 en un buffer de

baja fuerza iónica a 25°C) causó daño en la membrana celular dentro de 2 minutos. Esto provocó liberación de aminoácidos como glutamato y iones potasio K^+ . Esto sugiere que los iones Cu^{2+} causan daños selectivos en la permeabilidad de la membrana.

- Interacción de iones cúprico con ácidos nucleicos: Los iones Cu^{2+} tienen una afinidad específica por el ADN, son capaces de unirse y provocar desórdenes en la estructura helicoidal.

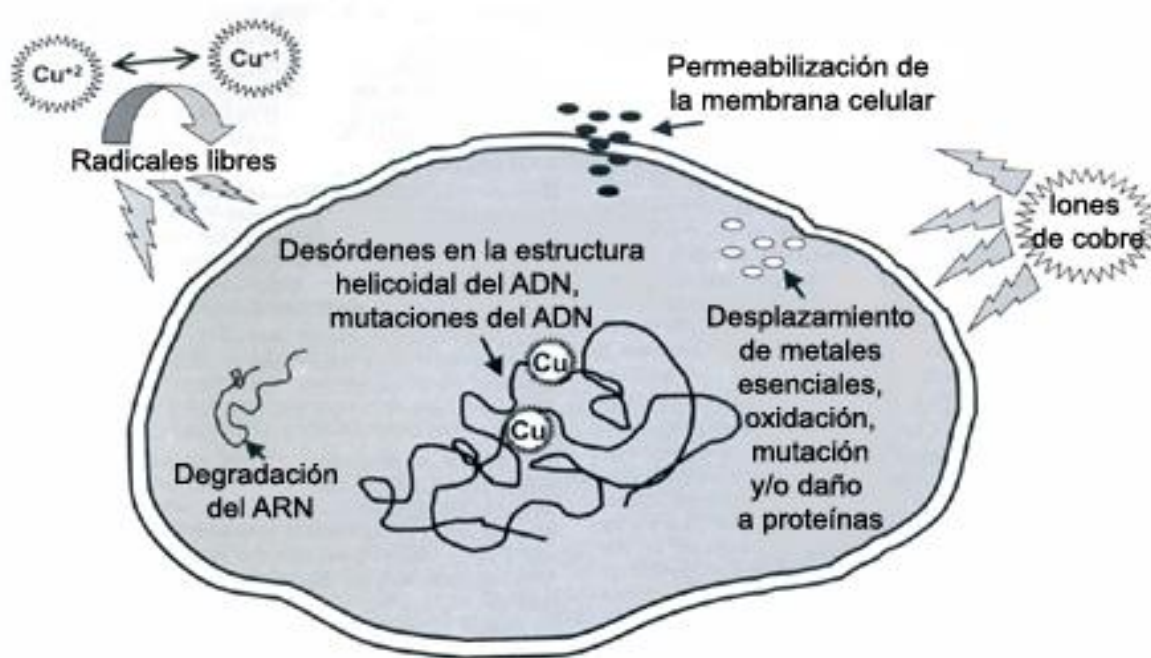


Figura 6. Mecanismos propuestos para explicar la toxicidad de los iones de cobre en las bacterias. ^[18]

La actividad antifúngica y anti-alga del cobre no ha sido bien estudiada, pero se sugiere que los iones de cobre forman enlaces electrostáticos con regiones cargadas negativamente en la pared celular de los microorganismos. Estos enlaces electrostáticos crean estrés suficiente para deformar la pared celular e incrementa la permeabilidad, mientras por otro lado reduce la ingesta normal de nutrientes necesarios para vivir. Una vez dentro de una célula de alga, el cobre podría atacar a los grupos sulfuros en aminoácidos contenidos en proteínas usadas para la fotosíntesis, bloqueando de esta manera el proceso de fotosíntesis, lo que da paso a la lisis celular (rompimiento celular) y a la posterior muerte de la célula. ^[18]

1.5. El cobre en el medioambiente acuático

Cierta preocupación por la presencia de cobre en el medioambiente acuático ha surgido, por el aumento del uso de productos antifouling basados en cobre luego de la prohibición de los compuestos en base a TBT.

Si bien, otros recubrimientos biocidas son encontrados menos ecotóxicos que el TBT, aún existe la incertidumbre. Al concentrarse en la química de los sistemas antifouling para predecir su impacto ambiental, no se refleja la influencia de muchos procesos del medio ambiente marino en su alcance y comportamiento. Entre estos, se encuentran los procesos bióticos tales como la bioconcentración/acumulación, los mecanismos de la red alimentaria, las estrategias de reproducción y los efectos indirectos o interactivos, y los procesos abióticos, tales como las condiciones hidrográficas, la interacción con la materia orgánica, la salinidad, el pH, la temperatura y la aireación. ^[1]

La cantidad de cobre usada en las pinturas antifouling normalmente varía entre 4 y 30% en peso y su velocidad de liberación depende de una serie de parámetros que interactúan, por ejemplo, tipo de ligante, condiciones del agua y la velocidad ^[19].

Una ventaja del uso de cobre como agente antifouling es que es un elemento natural, requerido para el crecimiento normal de plantas y animales. Sus concentraciones naturales están típicamente entre 0.03 y 0.23 µg/L en el agua de mar superficial y entre 0.2 y 30 µg/L en sistemas de agua dulce. ^[5]

Para proteger la vida marina y los organismos no acuáticos asociados se diseñan criterios que velan por esto, los que dependen de las condiciones propias de cada lugar. En el Reino Unido, la Calidad Estándar Medioambiental actual para el cobre en el mar es 5 µg/L (expresado como promedio anual) ^[20]. Por otro lado, la Agencia de Protección del Medioambiente de Estados Unidos ha derivado un criterio de calidad del agua (WQC), en que el límite de concentración para la toxicidad crónica es de 3.1 µg/L de cobre total y 4.8 µg/L para toxicidad aguda de organismos acuáticos de agua salada ^[19].

En la naturaleza, el cobre se encuentra en dos estados de valencia: cuproso (Cu^+) y cúprico (Cu^{2+}); el último es considerada la forma más tóxica del cobre debido a que fácilmente se desplaza a través de las membranas celulares ^[5].

Pocas investigaciones son capaces de monitorear in situ la velocidad de liberación de cobre en condiciones realistas al aire libre. Estas mediciones son difíciles de realizar con resultados reproducibles debido a, por ejemplo, diferencias en la formación del biofilm que reduce la tasa de liberación de cobre, y el efecto del movimiento, lo que resulta en tasas dependientes del tiempo ^[19].

1.6. Polímeros biocidas

Los agentes biocidas (o antimicrobianos), sustancias capaces de eliminar microorganismos patógenos, han ganado gran interés por parte de la investigación académica y la industria debido al potencial que tienen para proveer beneficios en la calidad y seguridad de muchos materiales, sin embargo tienen asociadas desventajas como la toxicidad al medio ambiente. Por esta razón, es necesaria la búsqueda de nuevos materiales que permitan solucionar esta problemática, en especial materiales plásticos. El uso de polímeros con características antimicrobianas ofrece una promesa para mejorar la eficacia de algunos agentes y minimizar los problemas ambientales que acompañan a los agentes biocidas convencionales, por medio de la reducción de la toxicidad residual, el incremento de su eficiencia y selectividad, y prolongando su vida útil. ^[21]

La prevención de la colonización microbiana de las superficies poliméricas puede ser lograda mediante la liberación de compuestos antimicrobianos incorporados físicamente dentro de los polímeros. Aunque estos sistemas de lixiviación son útiles, sus aplicaciones prácticas están limitadas porque ellos pierden naturalmente su capacidad biocida en el tiempo. En adición, la liberación de sustancias antimicrobianas al medioambiente tiene el potencial de incrementar la resistencia bacteriana a los biocidas. Las superficies poliméricas antimicrobianas no lixivadas, donde el agente antimicrobiano es fijado permanentemente a la superficie a través de enlaces covalentes, es una estrategia alternativa interesante. ^[22]

Existen numerosas formas por las cuales se pueden añadir propiedades antimicrobianas a una matriz polimérica, las que consisten en: la incorporación directa de agentes biocidas volátiles/no volátiles en los polímeros, por adsorción de los agentes en las superficies de los polímeros (coating), inmovilización de los agentes por

enlaces covalentes o iónicos, y el uso de polímeros que son intrínsecamente antimicrobianos.^[23]

Los materiales poliméricos que tienen el agente biocida como relleno tienen el potencial de poseer capacidades antimicrobianas a largo plazo^[24]. En este caso la fabricación se puede realizar mediante la incorporación de agentes antimicrobianos directamente en los polímeros, siendo el método más simple, ya que puede ser implementado en sistemas convencionales de procesamiento sin la necesidad de etapas adicionales.

Se han realizado esfuerzos significativos en el desarrollo de polímeros biocidas que posean metales. La mayoría de los trabajos reportados se enfocan en plata, como el efectuado por Münstedt et al., donde se fabricaron materiales plásticos antimicrobianos mediante la incorporación de polvo de plata durante el procesamiento en fundido de polipropileno^[23] y poliamida^[24]. Observaron que estos materiales tienen altas potencialidades biocidas que se pueden mantener a largo plazo.

El polipropileno, uno de los materiales poliméricos más ampliamente utilizados, es un buen candidato para añadir propiedades biocidas, debido a que puede tener uso en una gran variedad de aplicaciones. Al ser una poliolefina cuenta con un costo de producción y procesamiento menor que muchos otros plásticos y materiales a los que reemplaza, junto con una gran versatilidad en sus aplicaciones. Palza et al.^[25] fabricaron materiales compuestos de polipropileno con distintas cantidades de nanopartículas de cobre y demostraron su acción antimicrobiana con *E. coli*.

1.7. Nanocompuestos poliméricos

Los compósitos son materiales compuestos formados por dos o más fases donde una de ellas se denomina matriz, la cual soporta un relleno o refuerzo. La matriz puede ser una fase orgánica, metálica o cerámica. En caso de ser orgánica puede clasificarse en matrices poliméricas o de carbono.^[26]

A su vez, los nanocompuestos son un tipo de compósito donde el relleno es nanométrico, es decir, tiene una, dos o tres de sus dimensiones menores a 100 nm. La reducción en el tamaño de partícula disminuye la cantidad necesaria para lograr un

cambio significativo en las propiedades, facilitando la dispersión en la matriz y por ende la procesabilidad ^[26]. Como resultado las nanopartículas tienen aplicaciones útiles en celdas fotovoltaicas, sensores ópticos y biológicos, materiales conductivos y formulaciones en recubrimientos ^[27].

En los últimos años, se ha incrementado el uso de mezclas de polímeros sintéticos con compuestos biocidas, en particular los compósitos nanopartícula metálica/polímero. Las propiedades antibacterianas del cobre, plata y zinc han sido enormemente utilizadas en tecnologías avanzadas de recubrimientos, diseño de materiales para dispositivos médicos, equipamiento hospitalario, procesamiento de comida, materiales domésticos y pinturas antifouling. Sin embargo, aun quedan desafíos como la inestabilidad de las nanopartículas, el control de su tamaño y forma, la dispersión uniforme en la matriz, y el control de la tasa de liberación de especies metálicas. ^[27]

Kumar et al. ^[28] estudiaron el efecto de utilizar plata con diferentes áreas superficiales específicas: 0,78, 1,16 y 2,5 m²/g en compósitos con poliamida. Se observó que tras sumergir los compósitos en agua durante 7 días, los compósitos elaborados con plata de 0,78 m²/g fueron los que liberaron mayor cantidad de iones de plata, contrario a lo que se esperaba (ver Gráfico 1). Esto se explicó por la aglomeración que sufrieron las partículas de menor tamaño, disminuyendo el área disponible para la interacción con el agua y consecuentemente su liberación de iones.

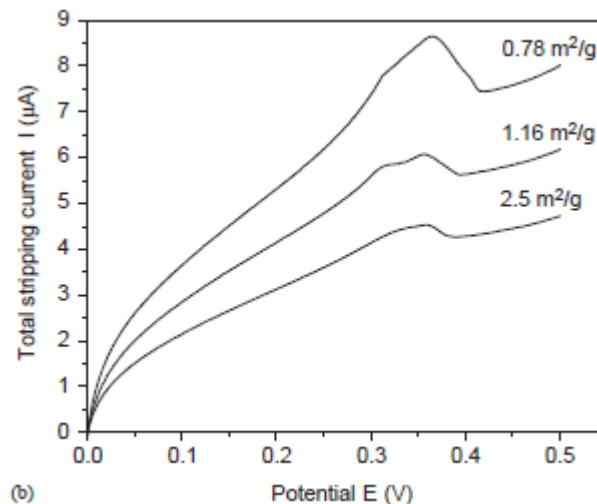


Gráfico 1. Voltagrama para los compósitos PA/Ag que contienen 4% p/p de plata de diferentes áreas superficiales específicas tras 7 días de inmersión en agua. ^[28]

De esta forma, para aprovechar las propiedades de estos materiales y conseguir un alto desempeño es importante lograr una dispersión homogénea del relleno dentro de la matriz polimérica, lo que en ocasiones resulta difícil debido a su alta tendencia a formar agregados y aglomeraciones.

1.7.1. Métodos para la fabricación de nanocompuestos poliméricos con partículas metálicas

En términos generales, los métodos para la fabricación de nanocompuestos poliméricos se pueden clasificar en dos: los métodos ex-situ y los métodos in-situ ^[29].

Los métodos ex-situ son aquellos en donde se mezcla el polímero con las partículas previamente formadas. El mezclado se puede realizar por medio de solventes o en fundido a altas temperaturas.

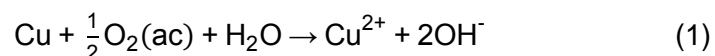
Los métodos in-situ son aquellos en donde se sintetizan las nanopartículas dentro de la matriz polimérica. Puede realizarse con la polimerización simultánea de un monómero (polimerización in-situ) o efectuarse con el polímero ya formado.

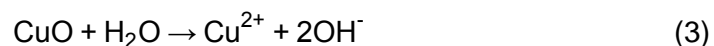
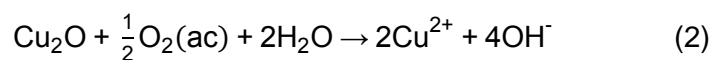
La síntesis de nanopartículas se lleva a cabo mediante reacciones que involucran precursores (sales metálicas). Dentro de las técnicas se encuentran el uso de agentes químicos (reductores), uso de radiación (gamma, microondas, etc.) o el empleo de métodos térmicos (termólisis).

Respecto a los métodos existentes para la fabricación de compósitos con relleno metálico, la utilización de precursores de bajo costo resulta bastante atractivo en comparación a la síntesis ex-situ o adquisición directa de nanopartículas pre-fabricadas ^[30].

1.7.2. Acción del cobre en los compósitos biocidas y antifouling

Para ser eficaces en medios con agentes patógenos, los polímeros fabricados con rellenos con cobre deben liberar iones, lo que se logra en medios acuosos donde la interacción entre moléculas de agua, el oxígeno disuelto y el cobre produce iones cúpricos. A continuación, se muestran las reacciones globales que sufren el cobre en su estado metálico y como óxidos, en los procesos de corrosión y disolución:





El proceso de liberación de iones a partir de materiales compuestos posee tres etapas elementales:

1. Difusión de agua dentro del material.
2. Reacción de corrosión en presencia de agua para la formación de iones cúpricos.
3. Difusión de los iones cúpricos desde el material hacia el medio.

Los polímeros que tienen un alto potencial en este ámbito son los higroscópicos, por su capacidad de absorber agua, entre los cuales los polímeros polares, como las poliamidas, son excelentes candidatos. Sin embargo, existe un interés por producir materiales biocidas y antifouling en base a polímeros de naturaleza no polar, como el polipropileno.

En diversos estudios han incorporado nanopartículas de cobre a distintos polímeros insolubles en agua como polivinilmetil cetona (PVMK), polivinil cloruro (PVC) y polivinildenfluoruro (PVDF). En ellos se ha demostrado la acción biocida del material producto de la liberación de iones de cobre, la cual aumenta al incrementar la carga de cobre en el polímero, como se observa en la Tabla 1. ^[31]

Tabla 1. Correlación entre el porcentaje en peso de las nanopartículas de cobre en los compósitos PVMK (columna 1), el número de colonias bacterianas (CFU) que crecieron sobre los films del material (columna 2) y la cantidad de cobre liberado después de 4 horas de incubación (columna 3). ^[31]

PVMK/Cu (% w/w)	CFU	[Cu] _{4h} (ppm)
0.5	2700	0.0260
2	1768	0.1490
3.5	1176	0.2460
5	1100	0.3980
10	900	0.7590
25	52	1.0800

Anyago et al. ^[27] reportan el potencial antifouling de compósitos con nanopartículas de cobre sintetizadas funcionalmente con grupos acrílicos en una matriz de acrilato. La actividad biológica de los nanocompósitos fue testada contra microorganismos

seleccionados que son constituyentes comunes de biopelículas formadas durante las etapas iniciales del biofouling marino. En el Gráfico 2 se aprecia la acción antifouling de las nanopartículas de cobre sintetizadas.

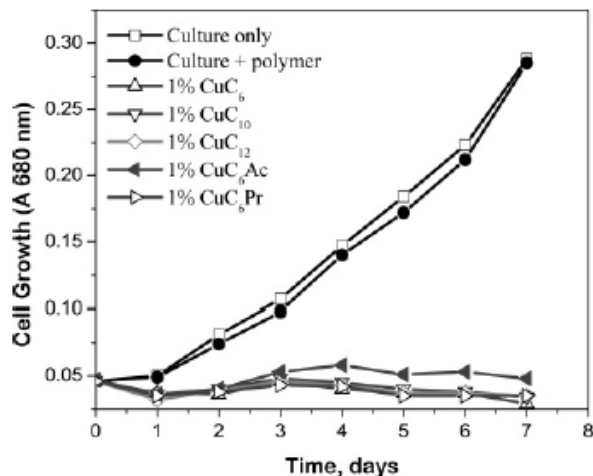


Gráfico 2. Actividad biológica de tioles con nanopartículas de cobre estabilizadas contra *Synechosystis sp. PCC 6803* (cianobacteria). Los puntos son medias de los cultivos triplicados. ^[27]

En los estudios realizados por Palza et al. ^[25] se fabricaron materiales compuestos de polipropileno con distintas cantidades de nanopartículas de cobre mediante mezclado en fundido y se estudió de forma cuantitativa su acción antimicrobiana con *E. coli*. Se observó que la cinética de los procesos biocidas puede controlarse mediante la concentración de nanopartículas presente en el polímero. Además, se determinó la posibilidad de establecer un valor umbral de concentración que acelera significativamente la muerte de bacterias (ver Gráfico 3).

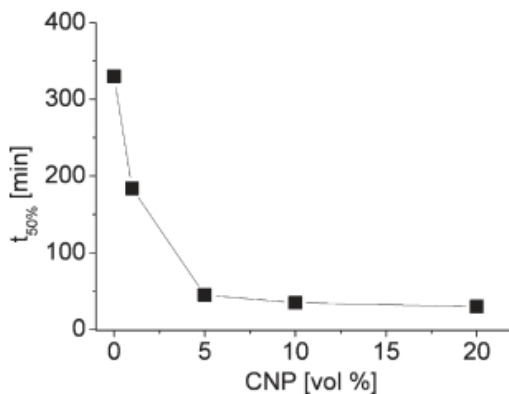


Gráfico 3. Efecto del contenido de nanopartículas de cobre respecto al tiempo necesario para eliminar el 50% de las bacterias iniciales ($t_{50\%}$). ^[25]

1.8. Características de agua de mar

La composición de agua de mar incluye tanto materiales disueltos desde la corteza de la Tierra como también materiales liberados desde los organismos. Las características más importantes del agua de mar que influyen a los organismos marinos son la salinidad, la temperatura, los gases disueltos, los nutrientes y el pH. Los organismos marinos necesitan condiciones específicas para sobrevivir. Un cambio en la salinidad y la temperatura, podría causar la muerte, migración o mala salud de los organismos. ^[32]

La salinidad de las aguas superficiales depende principalmente de la diferencia entre la evaporación y la precipitación. Otros factores menos importantes son el congelamiento y el derretimiento del hielo marino. En zonas de alta evaporación, tales como el Mar Rojo, la salinidad puede ser tan alta como 40 ‰ (partes por mil). Sin embargo, en la mayor parte del océano el rango de salinidad varía entre 33 y 37 ‰, con un valor promedio de 35 ‰, es decir por cada kg de agua contiene 35 g de sal (3,5% Cl). ^[33]

La salinidad en las costas de Chile disminuye de norte a sur, debido a la escasez y alta evaporación del norte. Los promedios anuales para algunas ciudades se muestran en la Tabla 2. ^[33]

Tabla 2. Promedios anuales de salinidad para ciudades de Chile. ^[33]

Ciudad	Promedio anual de Salinidad (‰)
Arica	35
Valparaíso	34,3
Talcahuano	33,7
Puerto Montt	32,8
Puerto Aysén	32,5

La temperatura juega un rol importante en el control de la velocidad de las reacciones que ocurren dentro de las células de los organismos. Ésta varía de acuerdo a la cantidad de luz solar que incide sobre la capa superficial de mar, incluyendo tanto el periodo de tiempo como el ángulo de inclinación de los rayos solares ^[32]. En la Figura 7 se muestran las temperaturas promedio para Octubre del 2009 ^[34].

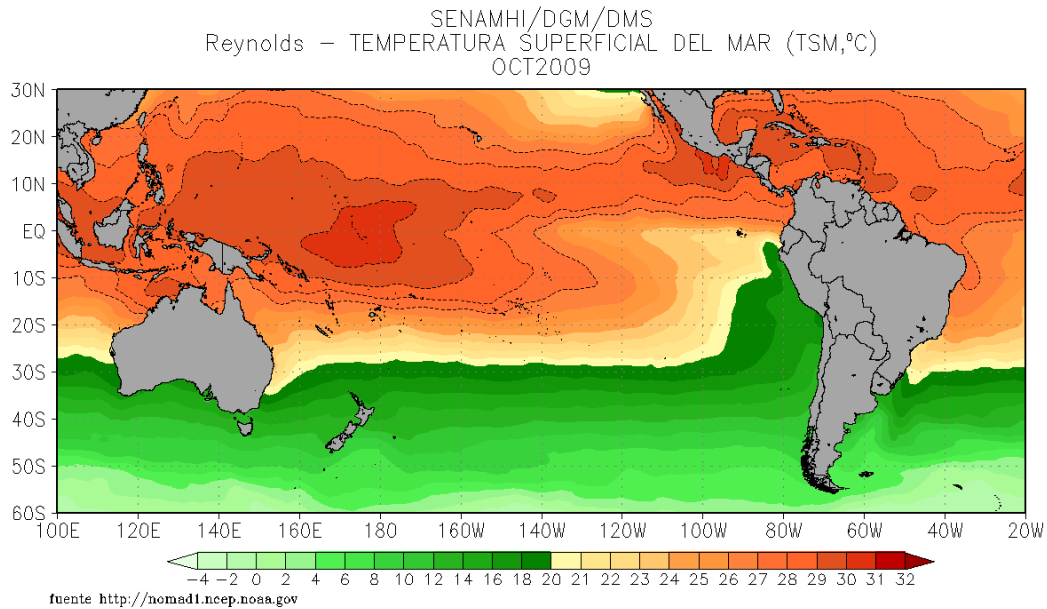


Figura 7. Temperaturas promedio de la superficie del mar para Octubre del 2009. [34]

El agua de mar es normalmente alcalina y el pH en la capa superficial del océano, donde el agua está en equilibrio con el dióxido de carbono de la atmósfera se encuentra entre 8.0 y 8.3, y en mar abierto es una propiedad muy constante. La temperatura modifica el valor del pH, usualmente disminuyéndolo cuando la temperatura se incrementa, a menos que mucho CO₂ se desorbe, el cual produce un incremento en el pH. [4]

1.9. Motivación y Alcances

1.9.1. Motivación

Dado los problemas asociados al biofouling y los costos que tienen en la industria marítima y acuícola, se hace necesario buscar nuevas alternativas de materiales para las estructuras afectadas, que minimicen el daño, disminuyan el impacto ambiental al permanecer sumergidas largos períodos y tengan un costo menor a las alternativas actuales. En particular, la fabricación de polímeros con nanopartículas de cobre que

poseen propiedades antifouling resulta de gran interés gracias a la mayor versatilidad de estos materiales en comparación al uso de cobre o sus aleaciones en forma directa.

Actualmente, la principal alternativa contra el biofouling son los recubrimientos y pinturas con agentes antifouling pero estos tienen desventajas relacionadas con su eficiencia y el impacto ambiental que producen ^[1]. Además, la durabilidad de esta protección depende de la estación del año y las variables propias de cada centro de cultivo, pero en promedio se deben cambiar cada tres meses en verano y cada cinco en invierno ^[2].

En Chile, hace algunos años ciertas empresas salmoneras comenzaron a utilizar redes fabricadas con aleaciones de cobre y zinc. Esta alternativa ha tenido resultados satisfactorios, funcionan muy bien como defensa contra los depredadores (lobos marinos), no sufren grandes deformaciones por las corrientes y se ha observado capacidad antifouling. Sin embargo, tienen asociados costos elevados y una instalación y manipulación más complicada en relación a las redes de nylon. Al ser rígidas y difíciles de maniobrar no permiten utilizar diferentes tamaños de mallas de acuerdo al tamaño de los peces, y son difíciles de construir, reparar y transportar ^[2,35].

Por esta razón surge la motivación de estudiar una metodología que permita fabricar compósitos poliméricos con nanopartículas de cobre y evaluar sus propiedades biocidas y antifouling. Además, resulta de gran interés sintetizar las partículas mediante metodología in-situ dentro del equipo para abaratar costos.

1.9.2. Descripción del proyecto

El proyecto consistió en la preparación in-situ de partículas de cobre mediante la adición de acetato de cobre como precursor, durante el proceso de mezclado en fundido de polipropileno.

Se estudiaron tres tipos de metodologías para la obtención de compósitos con partículas de cobre a distintos porcentajes en peso de cobre en la mezcla y se caracterizaron las partículas sintetizadas en estos materiales poliméricos. Asimismo, se realizaron estudios de la liberación de iones cúpricos de los compósitos simulando el sistema marino real mediante lixiviación a distintas condiciones de temperatura y

salinidad. Por último, se efectuaron estudios de la acción antifouling de los materiales mediante conteo de microflora bacteriana.

1.9.3. Alcances

La principal limitante del proyecto estuvo dada por el estudio antifouling de los materiales fabricados. Inicialmente, se esperaba realizar los análisis directamente en un ambiente marino natural sumergiendo en agua de mar placas de los materiales fabricados por un tiempo determinado, o en un laboratorio simulando la formación de biofouling mediante un cultivo de bacterias y diatomeas. Sin embargo, debido a complicaciones logísticas asociadas a recursos y tiempo esto no fue posible.

De esta manera, se optó por realizar los ensayos en laboratorio simulando el sistema marino real mediante la lixiviación de los materiales en agua de mar artificial, y evaluar su acción antifouling de acuerdo a la liberación de iones cúpricos.

Finalmente, fue posible realizar estudios de la acción antifouling en ambientes naturales gracias a un acuerdo con el Instituto de la Corrosión en Francia.

Capítulo 2: Objetivos

2.1. General:

- Preparar in-situ partículas de cobre mediante la adición de un precursor basado en una sal de cobre durante el proceso de mezclado en fundido de polipropileno, para obtener compósitos con propiedades antifouling.

2.2. Específicos:

- Preparar in-situ partículas de cobre en una matriz de polipropileno mediante mezclado en fundido, utilizando dos metodologías distintas, y variar el porcentaje en peso de cobre en la mezcla.
- Caracterizar las partículas en los polímeros preparados, utilizando las técnicas de Rayos-X y Microscopía óptica
- Estudiar la liberación de iones Cu^{2+} de los compósitos preparados y relacionar esta propiedad con las características de las partículas contenidas
- Analizar el efecto en la liberación de iones Cu^{2+} de las características del medio acuoso durante la lixiviación, como temperatura y salinidad.
- Comparar las partículas sintetizadas con nanopartículas de cobre metálico comercial.
- Comprobar las propiedades antifouling de los compósitos mediante pruebas con microflora bacteriana.

Capítulo 3: Materiales y Métodos

3.1. Preparación de compósitos poliméricos

3.1.1. Materiales

Para la preparación de los compósitos se utilizó polipropileno homopolímero PH0320, adquirido en Petroquim S.A. Entre sus características posee buena procesabilidad, alta resistencia al fundido, un índice de fluidez de 3,3 g/10 min (ensayo con 2,16 kg/230°C, ASTM D-1238/95) y densidad de 0,905 +/-0,005 g/cc. ^[36]

Los reactivos para la síntesis de partículas de cobre junto a sus propiedades físicas relevantes se detallan en la Tabla 3 y en la Figura 8 ^[37,38].

Tabla 3. Reactivos utilizados para la síntesis in-situ de partículas de cobre en la matriz de polipropileno

Tipo	Nombre	Fórmula química	Simbología	Proveedor	Peso Molecular (g/mol)	Densidad (g/cc)
Precursor	Acetato cúprico monohidratado	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	CuAc	Sigma Aldrich	199,5	1,882
Reductor	Formaldehído-sulfóxido sódico dihidratado	$\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	SFS	Sigma Aldrich	118,09	1,481
Nanopartículas (5 nm)	Nanopartículas de cobre	Cu	Cu	Versus Productos Industriales S.A.	63,5	8,4

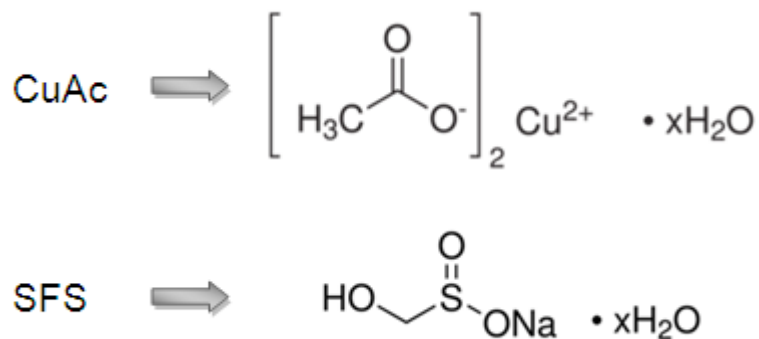


Figura 8. Estructura molecular del precursor CuAc y del reductor SFS.

3.1.2. Procedimiento

Los porcentajes de cobre utilizados en las mezclas fueron 1, 3, 5 y 10% p/p de cobre. En la Tabla 4 se muestran las características de los compósitos fabricados.

Tabla 4. Características de compósitos preparados.

Compósito	Cargas de reductor empleadas	Observaciones *(p)=polvo, (s)=sol. Acuosa
PP/Cu	-	Cu metálico: (p)
PP/CuAc	-	CuAc: (s)
PP/CuAc/SFS	Razón molar CuAc-SFS: 1:1	CuAc y SFS: (s)

El procedimiento para la fabricación de los compósitos consistió en mezclar en fundido la matriz polimérica con los reactivos en polvo o en solución (a una concentración de 20 g/L aproximadamente) según corresponda, bajo una atmósfera inerte de N₂. En el caso en que los reactivos se añadieron en solución acuosa, la carga demoró alrededor de 30 minutos debido a la evaporación violenta del medio acuoso.

El equipo utilizado para la fabricación fue un mezclador Brabender Plasticorder ubicado en el Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la Universidad de Chile. La temperatura de trabajo fue de 190°C, a una velocidad de 110 RPM durante 10 minutos.

El compósito fue moldeado en forma de placas de 1mm de espesor mediante una prensa "Industria HP", (ubicada en el mismo laboratorio) a 190°C durante un período de 2 minutos, seguido por un enfriamiento con agua durante 4 minutos aproximadamente. La presión ejercida sobre los compósitos fabricados fue de 50 bar.

El procedimiento anteriormente descrito está basado en el trabajo de Título de Wang S. (2011) ^[30].

3.2. Caracterización del material compuesto.

La composición química y cristalográfica del material compuesto se analizó mediante la técnica de Difracción de Rayos X con un equipo Siemens D5000 para muestras policristal, con una longitud de onda $\text{Cu(K}\alpha\text{)}$ $\lambda=1,546 \text{ \AA}$ en el Laboratorio de Cristalografía del Departamento de Física de la Universidad de Chile.

Se utilizó un microscopio óptico Leica Germany modelo DM LM con zoom de hasta 50x ubicado en el Laboratorio de Polímeros y la imágenes se tomaron con una cámara fotográfica Canon Powershot A630 de 8 megapíxeles y un zoom óptico de 4x.

Para verificar el porcentaje de carga de cobre en las mezclas, se calcinaron en una mufla 3 g de cada tipo de compósito a 10% p/p de cobre a una temperatura máxima de 400°C por 2 horas.

3.3. Ensayo de liberación de iones de cobre

Para cuantificar la liberación de iones de cobre a partir de los compósitos se utilizaron placas de $2 \times 3 \text{ cm}^2$ y de 1mm de espesor, las que se lixiviaron a distintas condiciones. Para las condiciones base, se cortaron 2 placas por cada compósito y cada una se sumergió en 40 ml de agua desionizada en un baño a 20°C. El periodo de lixiviación tuvo una duración de 46 días, dentro del cual se tomaron muestras a distintos tiempos, con recambio de agua luego de los muestreos.

Asimismo, se repitió este método para las mezclas con 5% p/p de cobre cambiando las condiciones del medio. Para ello, se sumergieron 2 placas de cada tipo de compósito en 40 ml de agua desionizada a 10°C y agua de mar artificial a 10 y 20°C.

Preparación del agua de mar artificial:

El agua de mar artificial se preparó de acuerdo a la metodología de Kester (1967) con una salinidad de 35‰ (partes por mil) equivalente a 35 g/L aproximadamente ^[39]. La Tabla 5 muestra la fórmula para 1 kg de agua de mar artificial:

Tabla 5. Fórmula para 1 kg de agua de mar artificial 35 ‰. [39]

A.Sales Gravimétricas				
Sal	Peso Molecular		g/kg de solución	
NaCl	58,44		23,926	
Na ₂ SO ₄	142,04		4,008	
KCL	74,56		0,677	
NaHCO ₃	84,00		0,196	
KBr	119,01		0,098	
H ₃ BO ₃	61,83		0,026	
NaF	41,99		0,003	
B.Sales Volumétricas				
Sal	Peso Molecular	Moles/kg de solución	Soluciones	
			Concentración	Densidad
MgCl ₂ ·6H ₂ O	203,33	0,05327	1,0 M	1,071 g/ml
CaCl ₂ ·2H ₂ O	147,03	0,01033	1,0 M	1,085 g/ml
SrCl ₂ ·6H ₂ O	266,64	0,00009	0,1 M	1,013 g/ml
C.Agua destilada para 1kg				

Para evitar la precipitación de las sales, el agua de mar artificial se preparó en dos contenedores separados. En un contenedor se preparó una solución con las sales gravimétricas usando alrededor de 2/3 de la cantidad total de agua requerida. En el otro contenedor las soluciones de sales volumétricas fueron diluidas con el tercio de agua remanente. Luego, las dos soluciones fueron mezcladas y se midió el pH, que debía ser cercano a 8.

Para cuantificar los iones de cobre presentes en el agua se utilizó una técnica colorimétrica que, por medio de reacciones químicas, crea complejos de color amarillo. A estas muestras coloreadas se les determinó la absorbancia (A) a una longitud de onda de 455 nm mediante un equipo de Espectroscopía UV-vis. Este equipo cuenta con una fuente de luz que emite radiación en el rango visible-UV, y la luz emitida se ajusta a través de un monocromador que permite seleccionar un haz de luz de una determinada longitud de onda. Luego, el haz pasa por la muestra en estudio contenida en una celda e incide sobre un detector que permite medir la intensidad del haz transmitido.

La absorbancia (A) relaciona la intensidad del haz de luz que incide en la muestra ($I_{\lambda,0}$) con la que se transmite (I_{λ}), mediante la siguiente relación:

$$A = \log\left(\frac{I_{\lambda,0}}{I_{\lambda}}\right) \quad (4)$$

El espectrofotómetro mide la absorbancia relativa de una muestra respecto a un blanco, que contiene el disolvente no coloreado, a una determinada longitud de onda en el rango UV-visible. La absorbancia de la muestra medida dependerá de la cantidad de moléculas coloreadas que contenga, por lo que es posible relacionar la absorbancia con la concentración (C_B). Además, la absorbancia dependerá de otros factores como la longitud de la celda que contiene la muestra (l), el tipo de solución y la longitud de onda del haz incidente. Estos parámetros se relacionan entre sí mediante la ley de Beer-Lambert:

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} * l * C_B \quad (5)$$

Donde ϵ_{λ} corresponde al coeficiente de extinción molar de la muestra a la longitud de onda λ y se determina mediante la calibración del equipo.

A continuación, se detallan los materiales y procedimientos utilizados para preparar los reactivos que se emplean en la técnica colorimétrica mencionada.

3.3.1. Materiales

- Agua desionizada con conductividad de 0,0054 mS
- Hidroxilamina al 10%
- Solución tampón ácido acético/acetato (pH 4,5)
- Neocuproina $1,92 \cdot 10^{-3}$ M
- Etanol al 10%
- Ácido acético 0,1 M
- Acetato de sodio 0,1 M
- Pipeta de 5 mL
- Micropipeta de 1000 μ L
- Tubos de ensayo
- Gradillas

Los equipos empleados fueron:

- Columnas de intercambio iónico Millipore
- Agitador magnético
- Sonificador

3.3.2. Preparación de soluciones

El agua se desionizó en un equipo Millipore del Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología (CIBYB) de la Universidad de Chile.

Las soluciones se prepararon en matraces aforados, y dependiendo del estado de los reactivos era la forma de mezclado. Cuando se utilizaban reactivos en polvo, la solución se agitaba en un sonicador durante 10 minutos o hasta que la mezcla se observara homogénea, en cambio cuando se usaban sólo reactivos líquidos, se mezclaban en un agitador magnético durante algunos minutos.

Para preparar 200 mL de tampón ácido acético/acetato de sodio a un pH de 4,5 se mezcló 93 mL de ácido acético 0,1 M con 107 mL de acetato de sodio 0,1 M.

Asimismo, la solución de neocuproina $1,92 \cdot 10^{-3}$ M se preparó con 0,04 g de neocuproina en polvo y 100 mL de etanol al 10% en un matraz aforado de 100 mL.

3.3.3. Procedimiento

Para los compósitos PP/Cu y PP/CuAc/SFS (en las 2 primeras semanas) se prepararon las muestras para el análisis de la siguiente manera:

1. Se agregaron 3 mL de solución extraída de la lixiviación en un tubo de ensayo. Adicionalmente se hizo una muestra control con 3 mL de agua desionizada.
2. Se añadió 1 mL de hidroxilamina al 10% a cada muestra y se agitó.
3. Se añadió 1 mL de tampón ácido/acetato y se agitó.
4. Se añadió 1 mL de solución de neocuproina $1,92 \cdot 10^{-3}$ M y se agitó. En este paso la muestra se torna amarilla si contiene cobre.
5. Se midió en el espectrofotómetro primero la muestra blanco para calibrar el equipo, y posteriormente se midió la concentración del resto de las muestras.

En los casos en que los compósitos liberaban gran cantidad de iones cúpricos (PP/CuAc y PP/CuAc/SFS a partir de la segunda semana) se producía un precipitado en la muestra que impedía realizar las mediciones adecuadamente, por lo que hubo que hacer un ajuste de pH diferente. Para ello, luego de añadir a la muestra 1 mL de la solución de hidroxilamina, se efectuaron los siguientes pasos:

1. Se añadió 0,5 mL de ácido acético 0,1 M y se agitó.
2. Se añadió 0,3 mL de acetato de sodio 0,1 M y se agitó.
3. Se añadió 0,5 mL de tampón ácido/acetato y se agitó.
4. Se añadió 1 mL de solución de neocuproina $1,92 \cdot 10^{-3}$ y se agitó.
5. Se realizaron las mediciones de concentración en el equipo.

El procedimiento descrito fue el utilizado en la memoria de título de Wang S. (2011) ^[30].

Para cuantificar los iones de cobre de los compósitos se utilizó un espectrofotómetro modelo Jenway 6320D. Con este equipo se construyó curvas de calibración para el agua desionizada y para el agua de mar artificial, que relacionan la concentración de la muestra con la absorbancia, obteniéndose una relación lineal entre las variables con buena correlación en ambos casos. Las curvas y las ecuaciones de ajuste para los dos tipos de agua se muestran en el Gráfico 4 y Gráfico 5.

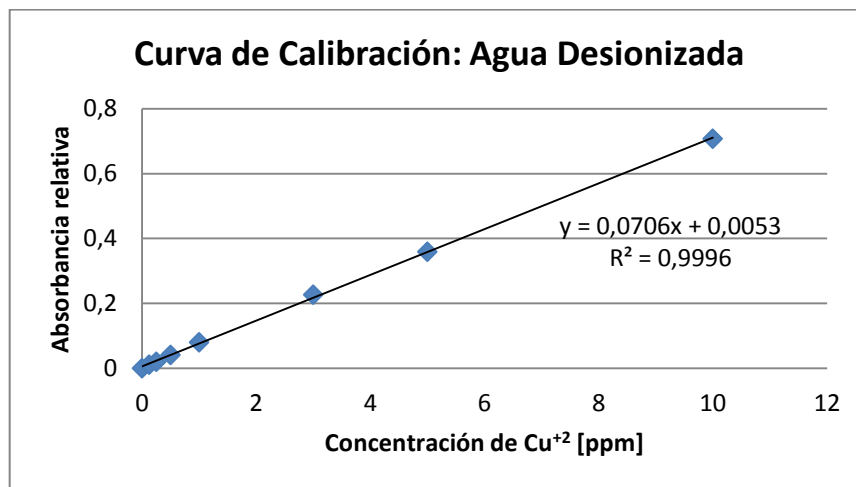


Gráfico 4. Curva de calibración que relaciona la concentración de iones cúpricos con la absorbancia para las muestras con agua desionizada.

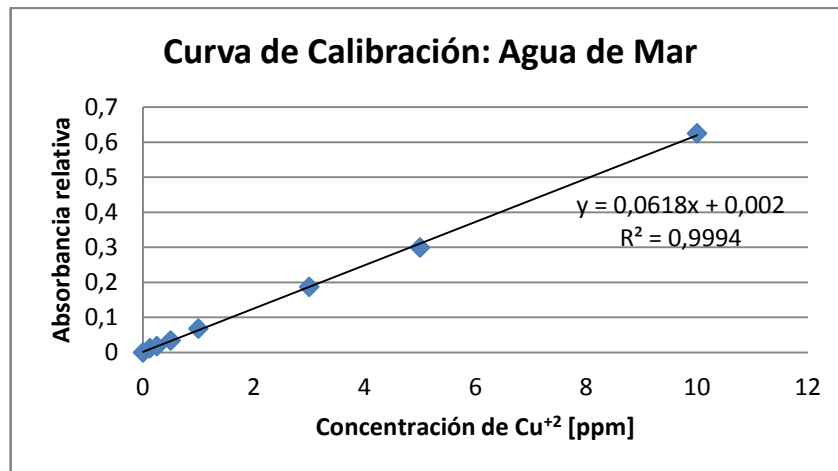


Gráfico 5. Curva de calibración que relaciona la concentración de iones cúpricos con la absorbancia para las muestras con agua de mar artificial

3.4. Ensayo antifouling

Se realizaron estudios de la actividad antifouling en el Instituto de la Corrosión en Francia. Para ello, se sumergieron placas de 5x5 cm² de PP/CuAc, PP/CuAc/SFS y PP/Cu con 10% p/p de cobre en agua de mar (3,5% de Cl) a 22°C por 2 meses junto a un blanco de PP, y luego se realizó un conteo de la microflora bacteriana presente en las placas.

Además, se analizaron las colonias bacterianas asentadas en cada placa mediante microscopía de epifluorescencia. En esta técnica una muestra de agua en la que se desea conocer el número de bacterias, se pone en contacto con un fluorocromo (Ej. Naranja de acridina) y luego es filtrada a través de un filtro de membrana negro. Este filtro es luego montado entre porta y cubre objetos y observado en un microscopio especialmente equipado (lámpara, filtros, espejos) para realizar observaciones con epifluorescencia. La siguiente es una muy rápida explicación de su funcionamiento: la luz proviene de una lámpara especial, se refleja en un espejo dicroico hacia abajo a través del objetivo y se proyecta sobre la membrana, donde excita al colorante que tiñe a las bacterias. Estas fluorescen con una luz, de menor energía (mayor longitud de onda) que la utilizada para la excitación, que pasa a través del objetivo y el espejo hacia el ocular. ^[40]

El análisis de las imágenes de epifluorescencia obtenidas dependerá del número, la forma y la intensidad de la fluorescencia de las células.

Capítulo 4: Resultados y Discusión

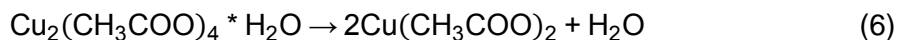
4.1. Caracterización de los compósitos

4.1.1. Síntesis in-situ de compósitos de partículas de cobre por descomposición térmica

Estudios anteriores muestran que la forma más simple de fabricar un compósito polimérico con acetato de cobre (CuAc) es añadiendo el relleno directamente en la forma en que se comercializa (polvo en estado monohidratado); sin embargo este procedimiento presenta un alto nivel de aglomeración de las partículas ^[30]. Por esta razón, se eligió disolver el acetato de cobre en agua para lograr una mejor dispersión en el polímero.

Sin embargo, el uso de soluciones acuosas en el equipo mezclador produce como problema operacional la ebullición violenta del líquido, por lo que por razones de seguridad y limitaciones en la operación, se agregó lentamente la solución de sal de cobre al polímero fundido demorando en ocasiones hasta 30 minutos.

Como resultado se obtuvo un compósito de color negro, lo que da cuenta la presencia de óxidos como el óxido cúprico (CuO) que posee esa coloración característica. Esta observación se confirma mediante los resultados de los análisis de Difracción de Rayos X (ver Gráfico 6) que muestran peaks de intensidad relativa de óxido cúprico y óxido cuproso (Cu₂O), lo que evidencia la descomposición térmica del acetato de cobre a la temperatura de mezclado. Como primera etapa el precursor sufre una deshidratación que ocurre entre los 100-190 °C, en donde el compuesto pierde el agua que contiene y forma el anhídrido ^[41], tal como se describe en la Ecuación 6.



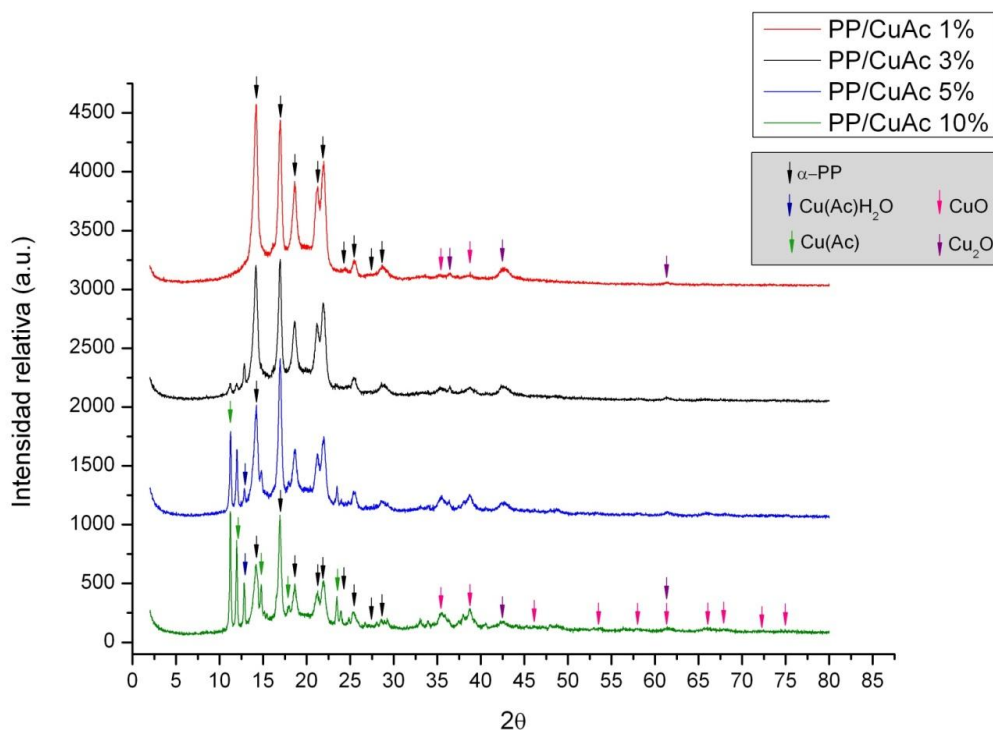
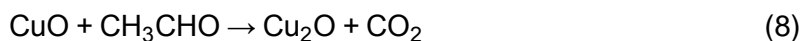
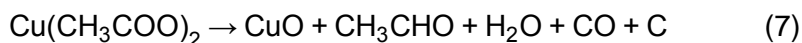


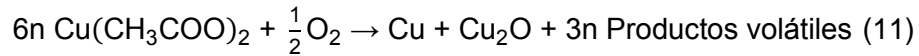
Gráfico 6. Difractogramas de los compósitos fabricados con acetato de cobre diluido.

Luego de la deshidratación ocurre la descomposición térmica, que consiste en varias reacciones simultáneas dependientes de la temperatura y del oxígeno presente en el ambiente. Si el proceso se efectúa bajo una atmósfera inerte se obtienen óxidos de cobre y cobre metálico según las reacciones que se muestran a continuación, que se desencadenan preferentemente a partir de los 200 °C ^[41]:



Sin embargo, el difractograma (ver Gráfico 6) no muestra la presencia de cobre metálico, lo que hace presumir que el tiempo y las condiciones de la carga alteraron la atmósfera inerte durante la descomposición térmica del precursor. La cámara del equipo se mantuvo abierta a la atmósfera mientras se efectuó la carga del relleno, lo que produjo que el acetato de cobre entrara en contacto con el oxígeno presente en el

aire, promoviendo probablemente la generación de óxidos de cobre (CuO y Cu₂O), como se muestra a continuación ^[42]:



Asimismo, a partir del difractograma de PP/CuAc (ver Gráfico 6) se observa que la descomposición térmica de acetato de cobre no fue total en los compósitos con 3, 5 y 10% p/p de cobre, puesto que los peaks asociados al precursor deshidratado permanecen ($2\theta \approx 11^\circ, 12^\circ, 15^\circ$ y 23°). Mientras mayor es el porcentaje de cobre en la mezcla, mayor es la intensidad relativa del acetato de cobre en el gráfico, lo que da cuenta que en las reacciones no se consumió todo el precursor, quedando mayor cantidad en el compósito.

Las fotografías de las placas y las imágenes de microscopía óptica corroboran los resultados del difractograma (ver Figura 9-12). Se aprecian más cristales de acetato de cobre (cristales de color verde azulado), y de mayor tamaño, a mayor porcentaje de cobre en el compósito. Además, se observan pequeñas partículas oscuras que dan cuenta de la presencia de óxidos en las muestras. Sin embargo, no se observan partículas de cobre metálico, por lo que las Ecuaciones 9 y 10 no se llevaron a cabo.

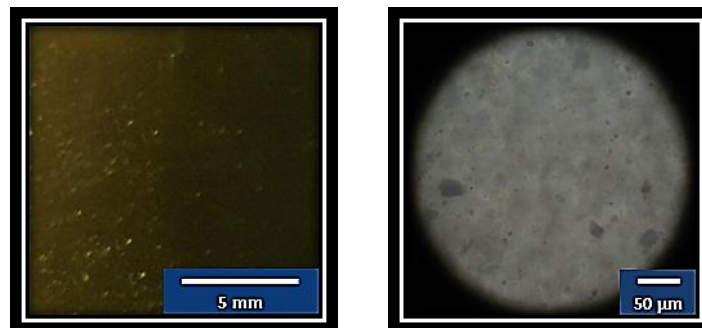


Figura 9. Imagen de la placa y micrografía del compósito PP/CuAc 1% p/p de Cu.

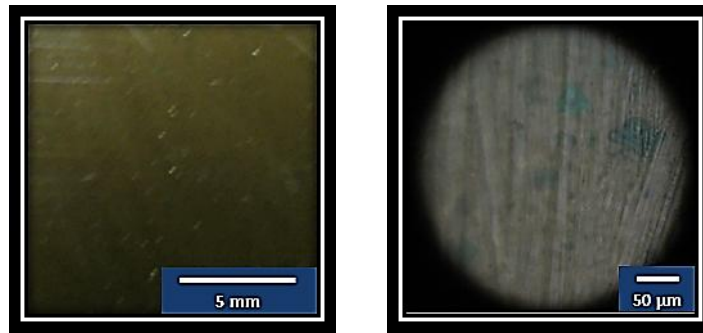


Figura 10. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc 3% p/p de Cu.

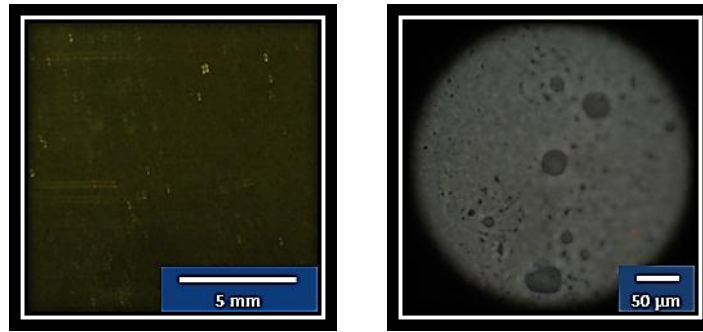


Figura 11. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc 5% p/p de Cu.

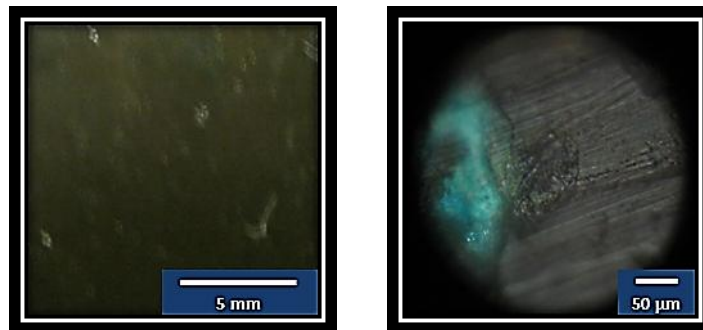


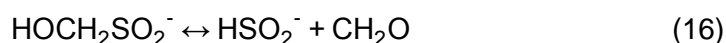
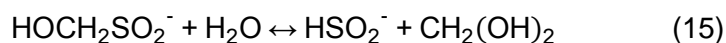
Figura 12. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc 10% p/p de Cu.

A partir del difractograma (ver Gráfico 6) también se extrae que cuanto mayor es el porcentaje de cobre en el compuesto, mayor intensidad tienen los peaks de CuO y menores son los peaks de Cu₂O, y a medida que el porcentaje de cobre en la mezcla disminuye, esta relación se invierte. Esto se puede explicar porque a mayores porcentajes de cobre en el compuesto, mayor es la cantidad de precursor que debe ser diluido, por lo que para mantener la concentración de la solución, se debe utilizar mayor cantidad de agua, aumentando así el volumen de la solución agregada al

equipo, lo que incrementará el tiempo de carga. De esta forma, a medida que el proceso de carga demore más, mayor incidencia tendrá el oxígeno, promoviendo la formación de CuO de acuerdo a la Ecuación 14, por lo que la atmósfera con oxígeno durante la carga de los reactivos (30 min) tendrá mayor incidencia que la atmósfera inerte al momento del mezclado (10 min).

4.1.2. Síntesis in-situ de partículas de cobre con Formaldehído-sulfóxido sódico

El Formaldehído-sulfóxido sódico (SFS) actúa como reductor gracias al ion sulfoxilato HSO_2^- y productos secundarios de la descomposición del SFS [43,44].



Como el SFS es muy reactivo con el acetato de cobre [30], para fabricar los compósitos fue necesario agregar el precursor disuelto en agua, con una concentración de 20 g/L aproximadamente, y el reductor por etapas, de modo que cada una de ellas demorara menos de 10 minutos para así asegurar que las reacciones ocurrieran en la matriz polimérica dentro del equipo y no antes. El proceso de carga completo demoró hasta 30 minutos dependiendo del porcentaje de cobre del compósito y fue seguido por 10 minutos de mezclado a 110 RPM en el equipo.

Al igual que en el caso anterior, se prepararon compósitos con 1, 3, 5 y 10 % p/p de cobre con las cantidades de precursor calculadas para ello. Además, se optó por una razón molar entre reductor y precursor igual a 1:1 para así asegurar la reducción completa del acetato de cobre.

Los compósitos obtenidos con este procedimiento poseen un color marrón, el que se hace más intenso y oscuro a medida que aumenta el porcentaje de cobre. Esta coloración da cuenta de la existencia de partículas de cobre metálico, lo que se corrobora con las micrografías ópticas (ver Figura 13-16).

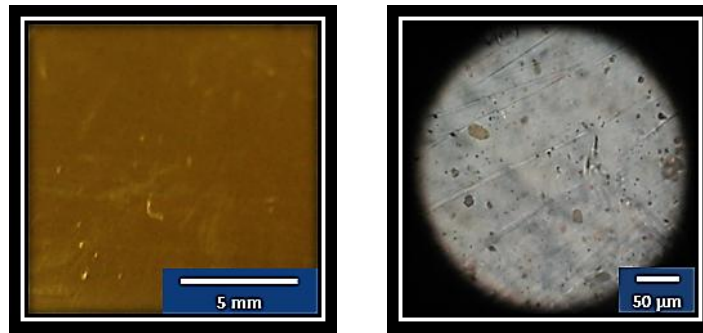


Figura 13. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc/SFS 1% p/p de Cu.

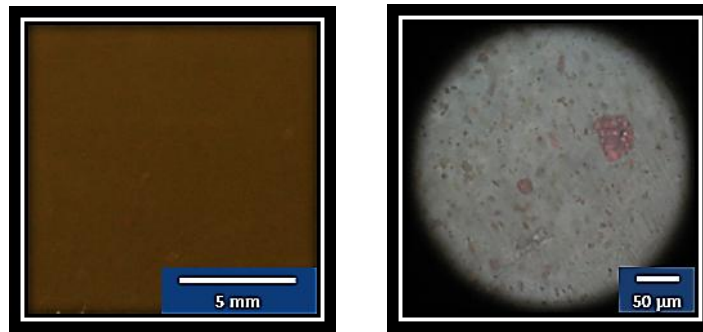


Figura 14. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc/SFS 3% p/p de Cu.

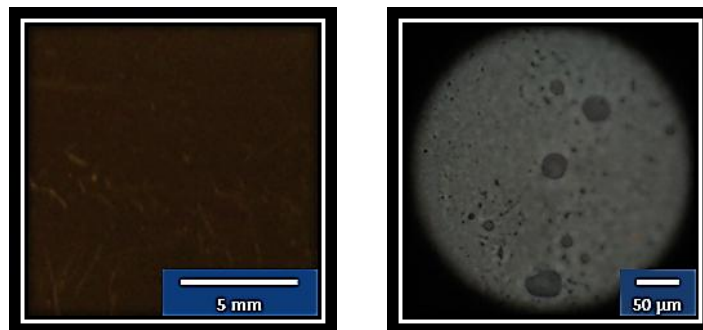


Figura 15. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc/SFS 5% p/p de Cu.

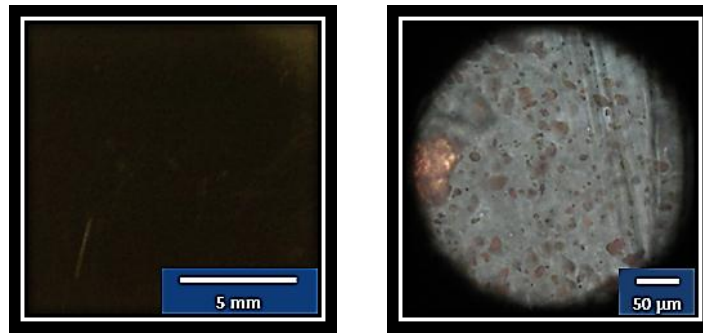


Figura 16. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/CuAc/SFS 10% p/p de Cu.

Los resultados de difracción de rayos X confirman la presencia de cobre metálico en los compósitos (ver Gráfico 7). La intensidad de los peaks de cobre metálico es mayor en las mezclas que contienen mayor porcentaje de cobre, mientras que en los compósitos con menores porcentajes predominó la formación de óxido cuproso (Cu_2O). Además, en ninguna mezcla se observa presencia de acetato de cobre, lo que da cuenta de que todo el precursor reaccionó con el reductor. Asimismo, tampoco se presenta óxido cúprico en los compósitos preparados.

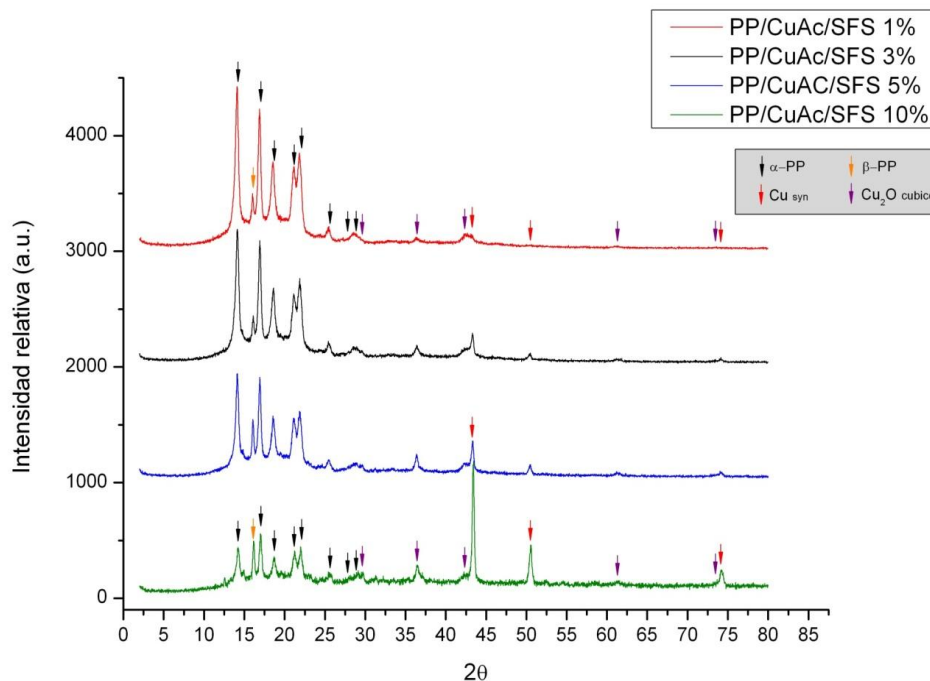


Gráfico 7. Difractogramas de los compósitos fabricados con acetato de cobre y SFS.

En esta metodología los iones Cu^{2+} provenientes de la descomposición térmica del acetato de cobre son reducidos por el ion sulfoxilato a Cu^+ o Cu^0 , logrando de esta forma la síntesis de partículas de cobre metálico (ver Figura 17). A su vez, al estar en contacto con el oxígeno al momento de la carga el cobre es oxidado a óxido cuproso. Sin embargo, la forma de cobre metálico es más estable que el Cu_2O , lo que explica la mayor intensidad de los peaks de Cu a mayor porcentaje en la mezcla (ver Gráfico 7).

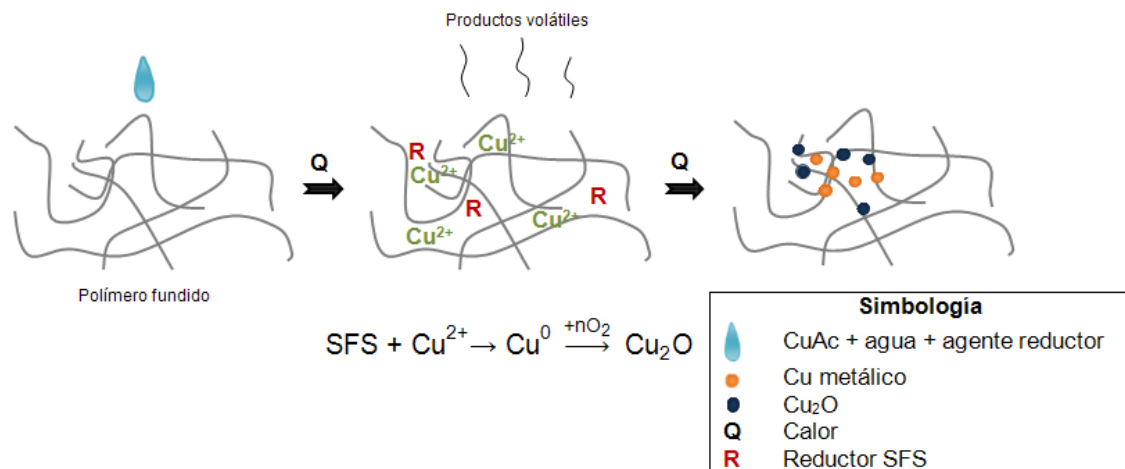


Figura 17. Esquema general de la síntesis in-situ de nanopartículas por reducción química del precursor, con razón molar CuAc-SFS 1:1.

Consecuentemente, se propone que el CuO no está presente en el material debido a que el periodo de carga de los reactivos al equipo y la cantidad de oxígeno no alcanzaron a ser los necesarios para que este compuesto se formara.

Una característica particular que presentaron sólo los compósitos sintetizados con SFS fue la aparición de la fase β del polipropileno, como lo muestra el peak característico a un ángulo $2\theta=16^\circ$ presente en los difractogramas del Gráfico 7. Esto da cuenta que de alguna manera la síntesis in-situ con SFS modificó la fase cristalina del polímero. Sin embargo, las causas de este fenómeno escapan de los objetivos de este trabajo.

4.1.3. Síntesis ex-situ de compósitos con nanopartículas de cobre

Con el fin de tener un parámetro de comparación de los resultados obtenidos por métodos in-situ, se fabricaron compósitos PP/Cu con nanopartículas de cobre comercial de 5 nm para porcentajes de 1, 3, 5 y 10% p/p de cobre en la mezcla. Los

films de las mezclas PP/Cu son traslúcidos y si se observan con un microscopio óptico se detectan grandes aglomeraciones de partículas dispersas en el polipropileno, los que aumentan en cantidad al incrementar el porcentaje de cobre en la mezcla (ver Figura 18-21).

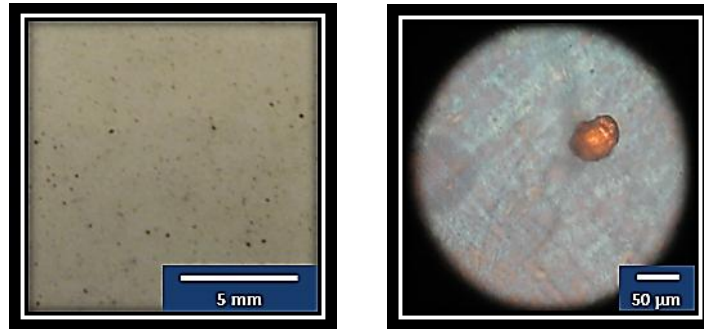


Figura 18. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/Cu 1% p/p de Cu.

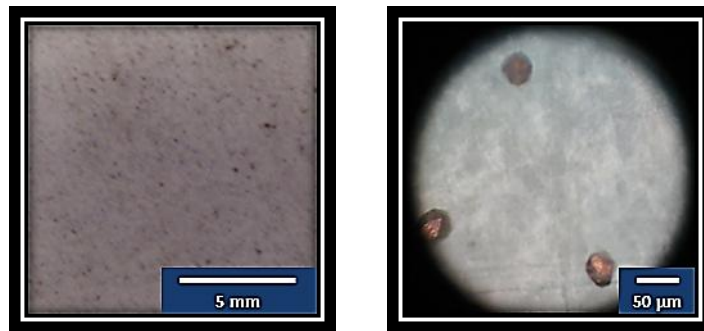


Figura 19. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/Cu 3% p/p de Cu.



Figura 20. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/Cu 5% p/p de Cu.

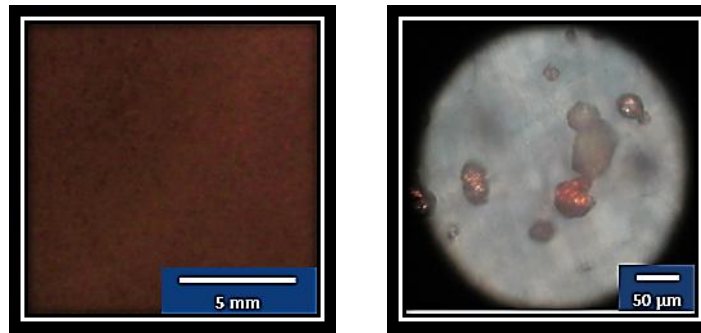


Figura 21. Imagen de la placa y micrografía del compuesto PP/Cu 10% p/p de Cu.

Al observar los análisis de Difracción de Rayos X se aprecian sólo peaks de polipropileno en su fase α y cobre metálico, lo que descarta la formación de óxidos durante el proceso (ver Gráfico 8). Esto se debe a la atmósfera inerte que se mantiene durante todo el proceso, que no permite que el oxígeno del aire intervenga produciendo reacciones adicionales.

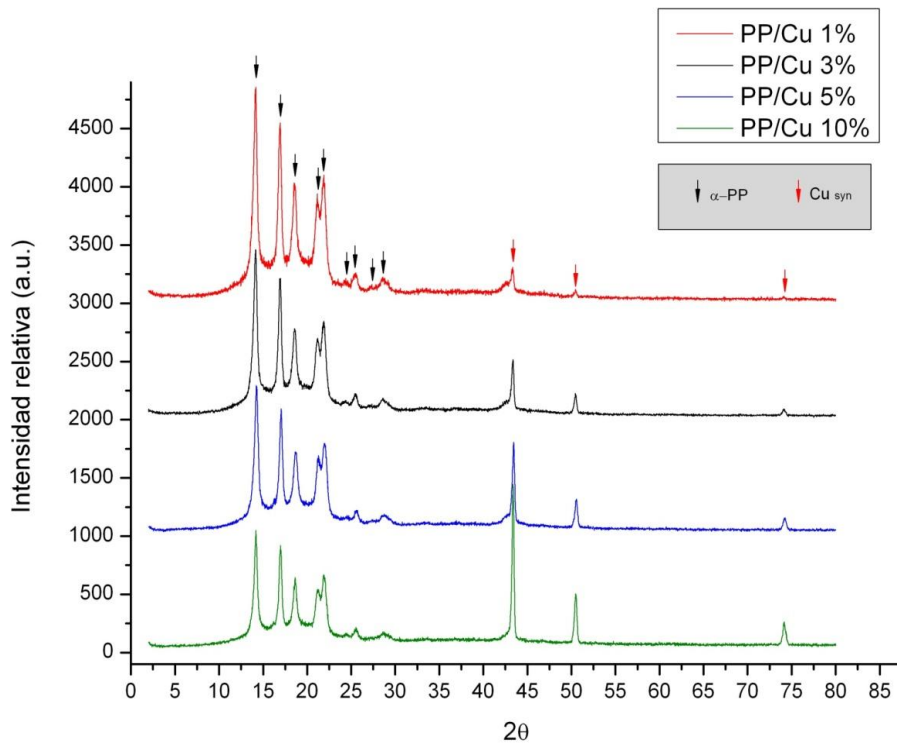


Gráfico 8. Difractogramas de los compósitos fabricados con nanopartículas de cobre comerciales.

4.1.4. Calcinación

El porcentaje p/p de cobre en cada mezcla fue calculado en base a los reactivos que se agregaron al equipo mezclador, por lo que era probable que éste no coincidiera con el porcentaje final en la mezcla en los casos en que se produjeron compuestos volátiles durante el proceso. Para verificar esto, se calcinaron en una mufla 3 g de cada tipo de compósito a 10% p/p de cobre a una temperatura máxima de 400°C por 2 horas.

De acuerdo al cobre contenido en los reactivos y al total de compuestos agregados al equipo, se calculó un porcentaje p/p teórico aproximando a que el compósito final contenía solamente polipropileno y cobre. Del mismo modo, para calcular el porcentaje de cobre en las mezclas con metodología in-situ luego de la calcinación, se asumió que todo el polipropileno había sido degradado y que todo el cobre presente se había oxidado a CuO. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Porcentajes de cobre teóricos y medidos para los compósitos con 10% p/p de cobre inicial.

Mezcla	PP/Cu	PP/CuAc	PP/CuAc/SFS
% Cu (teórico)	10,0	12,7	13,5
% Cu mezcla calcinada	10,4	10,5	22,0

Se observa que el compósito preparado con nanopartículas de cobre comercial presenta un porcentaje de cobre real similar al utilizado en la carga, debido a que su proceso no considera productos volátiles. En este caso, la masa del metal en la mezcla calcinada se consideró igual a la masa contenida en el crisol después de calcinar, ya que se apreciaba mayor cantidad de cobre metálico que de óxidos. Del mismo modo, el compósito PP/CuAc tiene un porcentaje similar al valor inicial considerado, lo que da cuenta que las reacciones que ocurren en el procesamiento no producen variaciones del porcentaje del metal entre la entrada y la salida del equipo. Sin embargo, para el caso del compósito con reductor, se aprecia una gran diferencia entre el porcentaje de cobre de carga considerado inicialmente y el de la mezcla final. Esto demuestra que en este tipo de metodología se produce gran cantidad de compuestos volátiles, por lo que el cobre en el compósito final corresponderá a un mayor porcentaje, lo que se debe tener en consideración al analizar los próximos resultados. Además, al calcinar el

reductor puro bajo las mismas condiciones se obtuvo una disminución de la masa inicial de 45%, lo que reafirma lo anterior.

A partir del difractograma de las mezclas calcinadas (ver Gráfico 9) se verifican los supuestos realizados para el cálculo de los porcentajes de cobre. Se observa que el polímero PP/Cu efectivamente no logra oxidar la totalidad del cobre metálico que contenía, al presentar los peaks característicos de este metal ($2\theta \approx 43^\circ, 50^\circ$ y 74°). A diferencia de esto, se aprecia una oxidación completa de los compuestos que contenían cobre por parte de los compósitos preparados con metodología in-situ al presentar altas intensidades en los peaks característicos del CuO. Sin embargo, se constata la presencia de Na_2SO_4 en el polímero PP/CuAc/SFS calcinado ($2\theta > 35^\circ$), lo que significa que parte del SFS o compuestos conteniendo Na y S productos de la descomposición térmica del SFS quedaron en la mezcla.

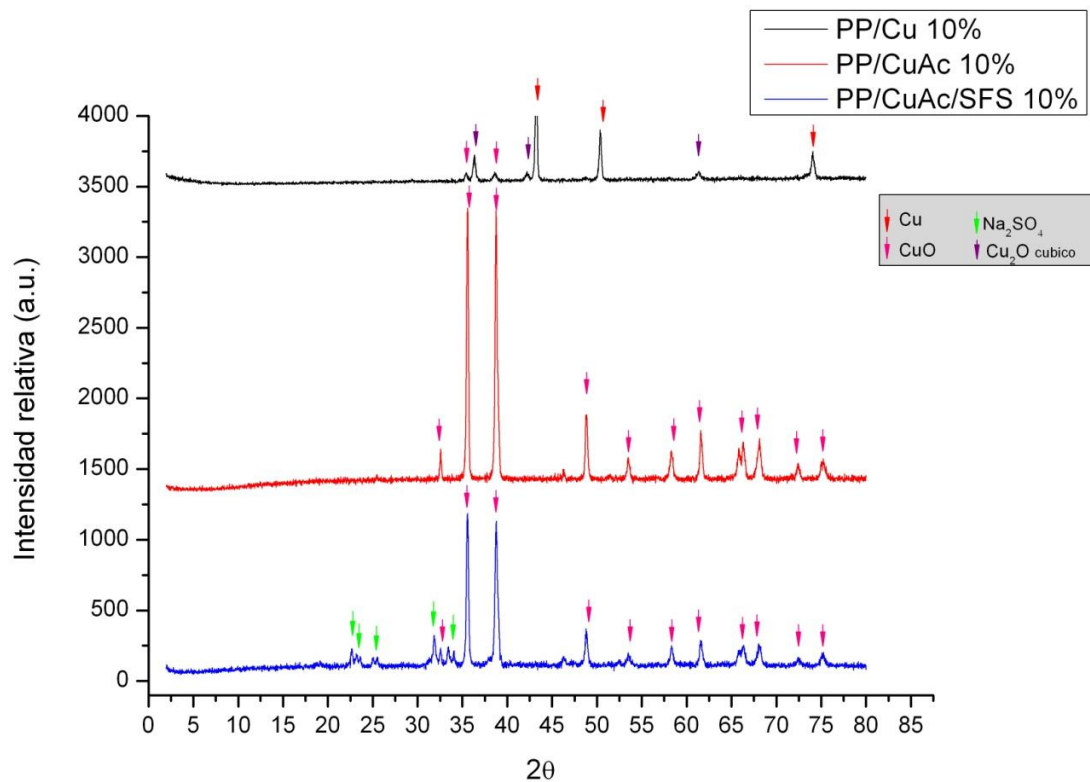


Gráfico 9. Difractogramas de los compósitos PP/Cu, PP/CuAc, PP/CuAc/SFS 10% p/p de cobre calcinadas por 2 h a 400°C.

4.2. Liberación de iones de cobre

4.2.1. Lixiviación: Condiciones base

Las condiciones basales definidas en la metodología corresponden a la lixiviación de las placas en agua desionizada a una temperatura de 20°C por 46 días.

En el Gráfico 10 se presenta la variación de iones de cobre en el tiempo para los compósitos preparados con acetato de cobre diluido (PP/CuAc) a 1, 3, 5 y 10% p/p de cobre. Se aprecia una gran diferencia entre la cantidad de iones de cobre liberados por el compósito con 10% y el resto de los compósitos PP/CuAc, liberando 6 veces más el de mayor porcentaje, lo que corresponde a una cantidad acumulada de cobre de 2,75 mg equivalentes a un 0,07% de su carga inicial. Como se observó en los difractogramas del Gráfico 6, las mezclas con mayor porcentaje de cobre contienen una mayor cantidad de acetato de cobre que no fue posible descomponer térmicamente, lo que se confirma con las micrografías (ver Figura 9-11). En particular, el compósito con 10% posee grandes aglomerados de cristales de CuAc en comparación con el resto de las mezclas. Al contactar partículas de esta sal con agua, el compuesto se hidrata y libera rápidamente iones de cobre a la solución, de acuerdo a las siguientes reacciones químicas ^[30]:

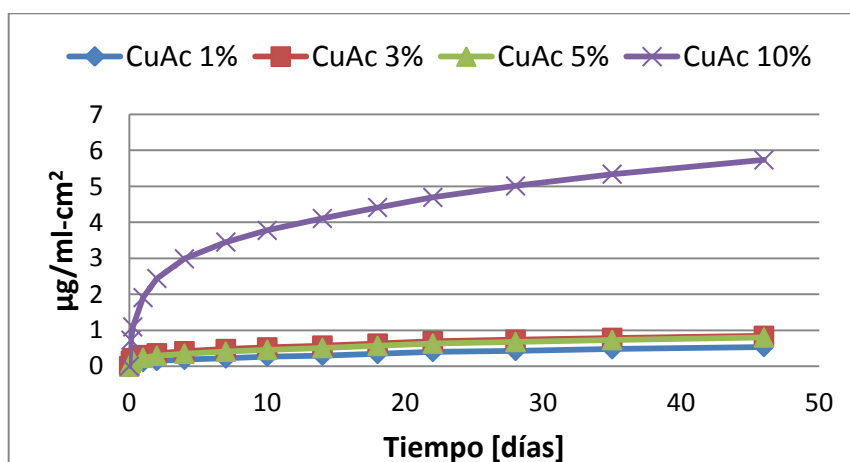
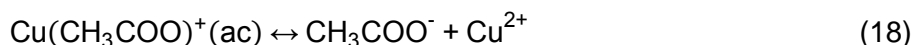
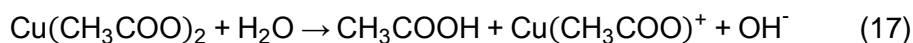


Gráfico 10. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del compósito PP/CuAc 10% p/p de cobre lixiviado en agua desionizada a 20°C.

Los difractogramas de las muestras de PP/CuAc al 10% p/p de cobre antes y después de ser lixiviadas por 46 días (ver Gráfico 11) muestran una disminución de la intensidad de los peaks de CuAc ($2\theta \approx 11^\circ$, 12° y 15°) y una intensificación del principal peak de acetato de cobre hidratado ($2\theta \approx 13^\circ$), lo que da cuenta de las reacciones anteriores. Además, esto se evidencia por la aparición de manchas blancas correspondientes al polipropileno, producto de la disolución de una parte del relleno (ver Figura 22).

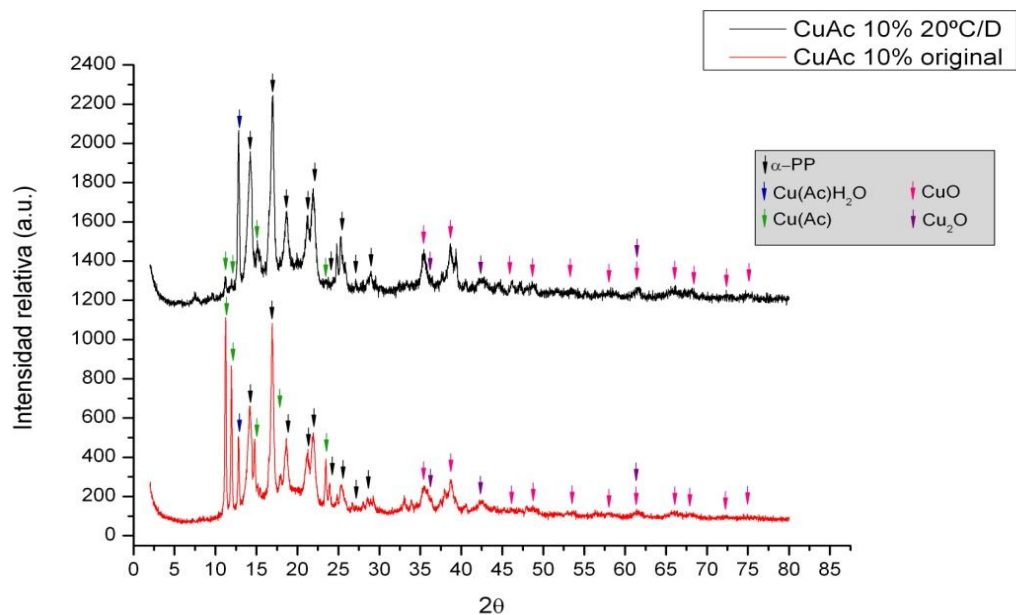


Gráfico 11. Difractograma del compuesto PP/CuAc 10% p/p de cobre antes y después de 46 días sumergido en agua desionizada a 20°C.

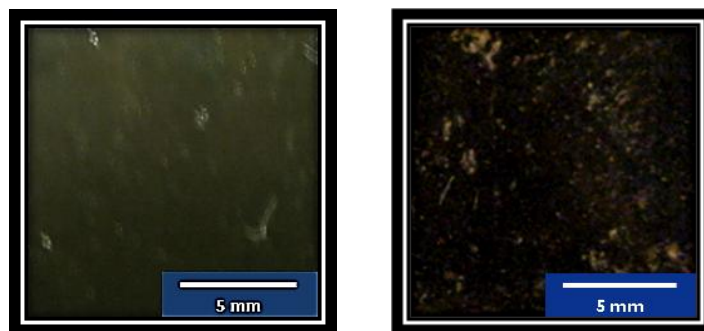


Figura 22. Imágenes de las placas del compuesto PP/CuAc antes y después de 46 días inmerso en agua desionizada a 20°C.

La disolución de CuAc también da cuenta de la penetración del agua a través de la matriz de polipropileno, a pesar de la naturaleza apolar de éste y de su baja capacidad

de absorber agua, lo que en reportes se explica por la cualidad del agua de difundir atravesando zonas amorfas del polipropileno [23].

Por otro lado, para el caso de los compósitos preparados con reductor (PP/CuAc/SFS) se tiene un aumento en la liberación de iones de cobre a medida que aumenta el porcentaje de cobre en la mezcla, debido a la mayor presencia de compuestos de cobre (ver Gráfico 12). Además, las concentraciones acumuladas al final del periodo estudiado para cada porcentaje de cobre en la carga son similares a las obtenidas por el compósito PP/CuAc, produciéndose también el salto al 10% p/p de cobre (ver Gráfico 10).

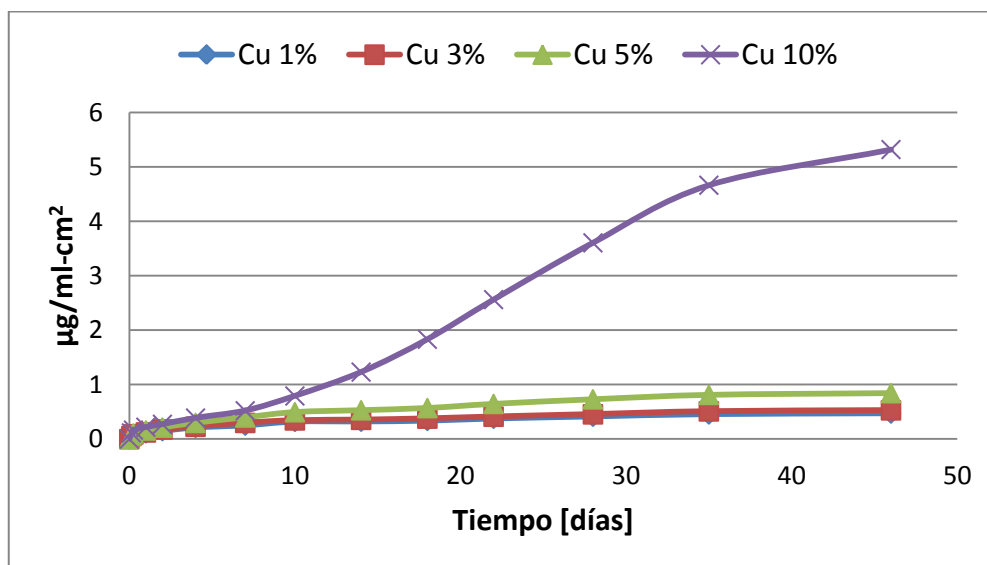


Gráfico 12. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del compósito PP/CuAc/SFS lixiviado en agua desionizada a 20°C.

Cabe destacar que alrededor de los 10 días de inmersión en agua, la placa con 10% de cobre aumenta su capacidad de liberación de iones considerablemente en comparación a los compósitos con menores porcentajes de cobre. Además, a partir de esta fecha sólo la placa de 10% p/p de cobre muestra rastros de corrosión y formación de poros por los cuales se desprende una sustancia verdosa, posiblemente provocados por el aumento en la liberación de iones (ver Figura 23).

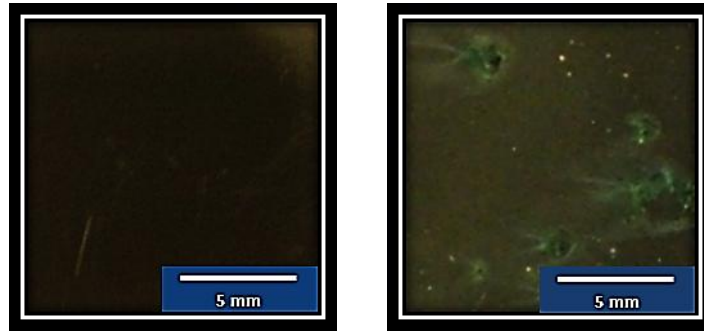


Figura 23. Imágenes de las placas del compuesto PP/CuAc/SFS antes y después de 46 días inmerso en agua desionizada a 20°C.

En el Gráfico 13 se muestran los resultados de liberación de iones de cobre para el caso de los compósitos fabricados con nanopartículas de cobre metálico comercial:

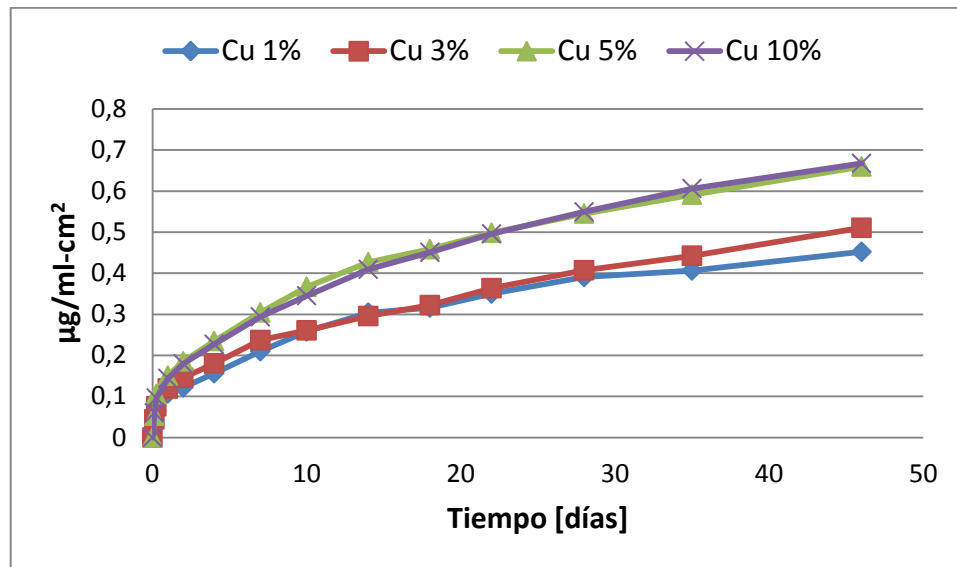


Gráfico 13. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del compuesto PP/Cu lixiviado en agua desionizada a 20°C.

Se aprecia que la mezcla con mayor porcentaje de cobre logra una mayor liberación de iones, sin embargo no se observa la gran diferencia entre la mezcla a 10% p/p y el resto que se presenta en los compósitos con metodología in-situ (ver Gráfico 10 y 12). Además, en este caso se observa que los compósitos con 1 y 3% alcanzan concentraciones de iones de cobre similares, mientras que lo mismo ocurre para los compósitos con 5 y 10%, produciéndose de esta forma una notable diferencia entre las mezclas con 3 y 5% p/p de cobre. Esto puede explicarse por la relación que existe entre el factor cantidad y el factor agregación en cada una de las mezclas. Se sabe que mientras mayor cantidad de partículas de cobre se tengan en un compuesto, mayor

será la liberación de iones cúpricos en la solución. Sin embargo, también el fenómeno de agregación puede afectar a las partículas. Las nanopartículas al formar aglomerados metálicos disminuyen el área superficial disponible para la interacción con moléculas de agua, necesaria para su corrosión ^[45], lo que afecta aún más si se tiene una baja cantidad de estas partículas.

A partir del Gráfico 14 se pueden comparar las concentraciones de iones cúpricos liberados de los 3 tipos de mezclas al 10%, donde se presentan las mayores diferencias, bajo las condiciones base de lixiviación (20°C y agua desionizada). Se observa que los compósitos preparados mediante la metodología in-situ liberan mayor cantidad de iones Cu^{2+} que la mezcla fabricada con nanopartículas de cobre metálico comercial. El polímero PP/Cu sólo alcanzó una concentración de 0,66 $\mu\text{g/ml}$ por cm^2 dentro del periodo estudiado, mientras que los polímeros PP/CuAc y PP/CuAc/SFS lograron concentraciones de 5,73 y 5,31 $\mu\text{g/ml}$ por cm^2 respectivamente. Sin embargo, se debe considerar que el compósito preparado con reductor presentó un porcentaje real de cobre de 22%, duplicando el porcentaje de los otros compósitos, por lo que su liberación de iones debe ser analizada sujeta a este valor. De esta forma, el polímero PP/CuAc presenta la mayor liberación de iones cúpricos por una amplia diferencia con respecto a los otros tipos de mezcla, donde la liberación de iones por parte de PP/CuAc/SFS y PP/Cu son menores en un 56% y un 88% respectivamente. Además, las concentraciones acumuladas de iones cúpricos alcanzadas son consistentes con valores obtenidos en estudios previos ^[30].

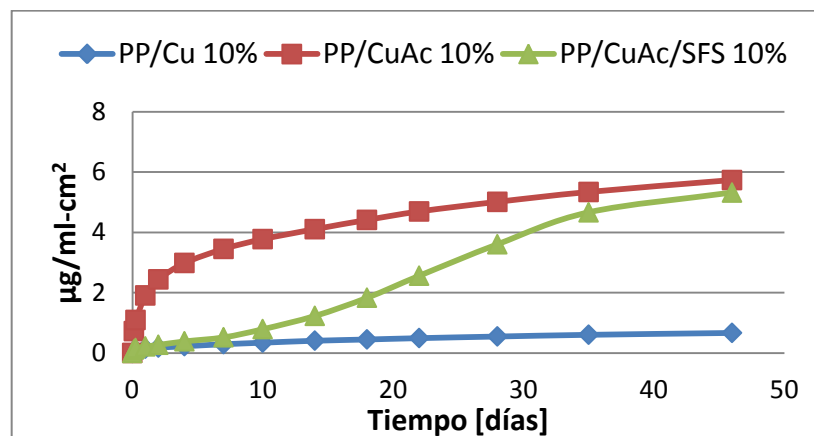
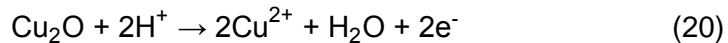
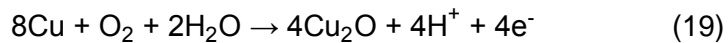


Gráfico 14. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del compósito PP/Cu, PP/CuAc y PP/CuAc/SFS con 10% p/p de cobre lixiviados en agua desionizada a 20°C.

Se aprecia que el compósito con mayor capacidad de liberar iones de cobre es el fabricado con polipropileno y acetato de cobre diluido, liberando el 0,07% de la masa de cobre contenida en un periodo de 46 días. Esto fue explicado anteriormente por la alta capacidad que tiene esta sal de liberar iones cúpricos en un medio acuoso mediante las reacciones de hidratación de CuAc (ver Ecuaciones 17 y 18).

Además, el polímero PP/CuAc/SFS, al igual que el polímero PP/Cu, contiene una gran cantidad de partículas de cobre metálico, pero libera 8 veces más que éste; se debe considerar sin embargo que contiene un mayor porcentaje real de cobre. Los resultados muestran que el compósito preparado con reductor libera el 0,06% del cobre que contiene a diferencia del preparado con nanopartículas de cobre que sólo libera el 0,009%. Esto se puede explicar por los grandes aglomerados de nanopartículas de cobre que se formaron en el compósito PP/Cu, disminuyendo su área superficial y así su capacidad de corrosión. Asimismo, otro hecho que podría influir es que para que el cobre metálico libere iones cúpricos se debe oxidar primero a Cu₂O con el oxígeno presente en el ambiente, el que a su vez se oxida a CuO o libera directamente iones, como se muestra en las siguientes reacciones químicas ^[46, 47]:



A diferencia de los polímeros PP/Cu, los compósitos PP/CuAc/SFS contienen Cu₂O (ver Gráfico 7) por lo que no necesitarían la primera etapa de oxidación (ver Ecuación 19), facilitando su liberación de iones cúpricos. Esto se confirma mediante el difractograma del Gráfico 15, que muestra la disminución de los peaks asociados al cobre metálico ($2\theta \approx 43^\circ$ y 50°) del compósito PP/CuAc/SFS 10% p/p de cobre tras ser sumergido en agua desionizada a 20°C por 46 días, y a la vez muestra la aparición de un pequeño peak de óxido cúprico que no estaba presente en la placa original ($2\theta \approx 39^\circ$).

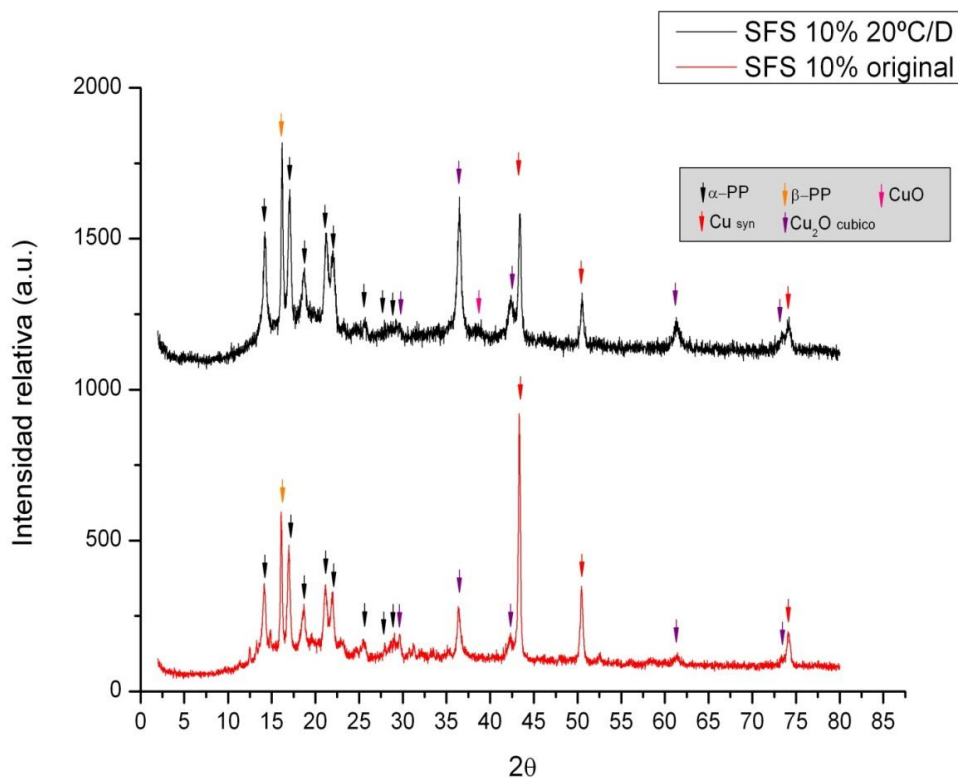


Gráfico 15. Diffractograma de la placa de compuesto PP/CuAc/SFS 10% p/p de cobre antes y después de 46 días sumergido en agua desionizada a 20°C.

4.2.2. Efecto de temperatura y salinidad en la lixiviación

Como en el mar la temperatura y la salinidad son variables, para analizar su efecto se estudió la liberación de iones de cobre a partir de los compósitos poliméricos lixivando las mezclas preparadas con 5% p/p de cobre en distintas condiciones. Para ello se cortaron placas de 2x3 cm² y 1 mm de espesor, y se sumergieron por 46 días en diferentes medios acuosos: agua de mar artificial a 20°C, agua de mar artificial a 10°C y agua desionizada a 10°C. Para cuantificar la cantidad de iones liberados por las distintas placas al medio acuoso se utilizó la misma metodología que se usó para el estudio con condiciones base, con lo cual fue posible determinar la concentración de iones de cobre presentes en cada uno de los casos.

En el Gráfico 16 se muestra la variación de la concentración de iones de cobre para los compósitos sintetizados in-situ (PP/CuAc y PP/CuAc/SFS) con 5% p/p de cobre

sumergidos en agua desionizada a 10 y 20°C, mientras que el Gráfico 17 muestra los resultados de concentración para el compuesto PP/Cu.

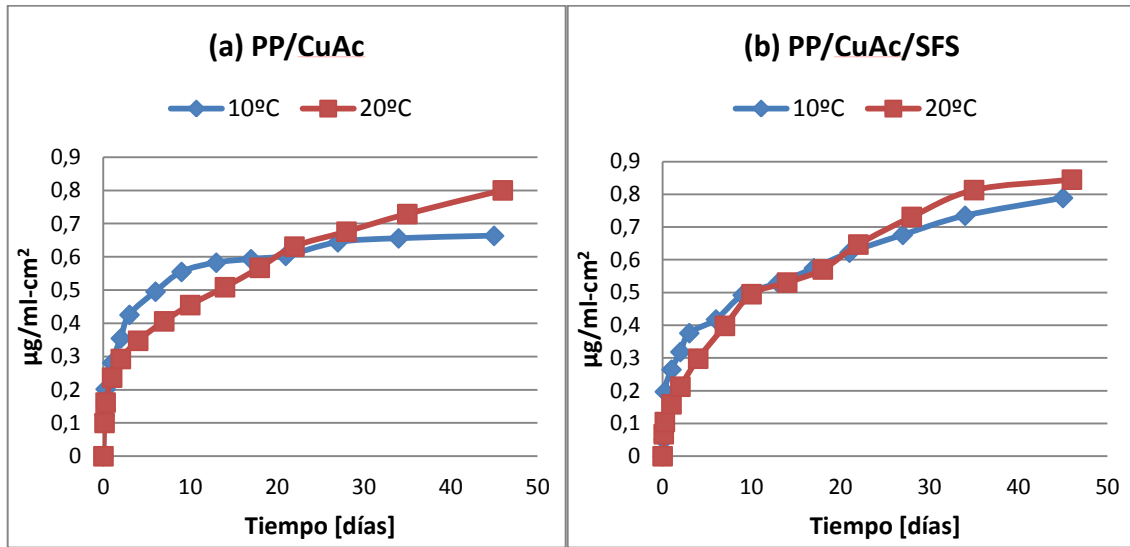


Gráfico 16. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie de los compósitos PP/CuAc (a) y PP/CuAc/SFS (b) con 5% de cobre lixiviados en agua desionizada.

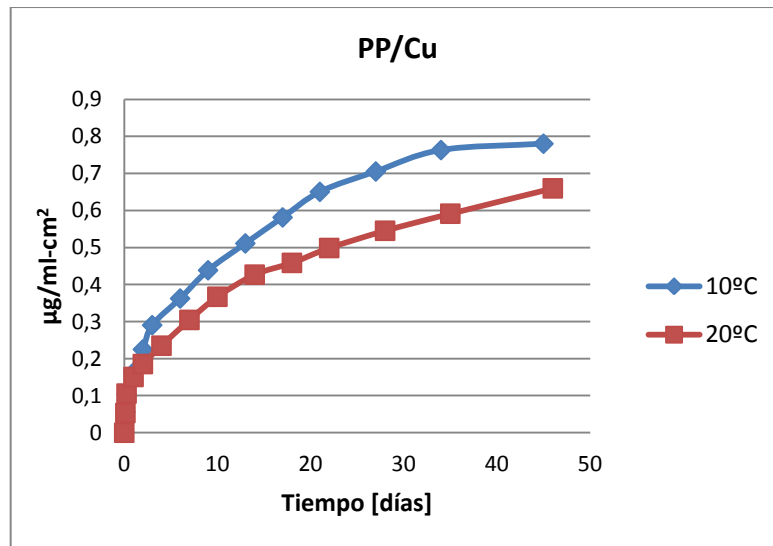


Gráfico 17. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del compuesto PP/Cu con 5% de cobre lixiviados en agua desionizada.

Del Gráfico 16 y Gráfico 17 es posible observar que el compuesto PP/Cu fue el más sensible a la temperatura presentando diferencias de hasta el 30% entre las concentraciones de iones liberados a una temperatura u otra; en cambio el compuesto PP/CuAc/SFS muestra una liberación de iones cúpricos independiente de la

temperatura. La mezcla PP/CuAc no muestra una tendencia clara debido al entrecruzamiento de las curvas producto de la disminución de la tasa de liberación de iones a 10°C a partir de la segunda semana, lo que puede deberse a errores en el procedimiento experimental, por lo que convendría repetir este estudio.

Se sabe por la teoría de velocidad de reacciones químicas que al aumentar la temperatura, la cinética de las reacciones de disolución en el proceso de corrosión de partículas de cobre aumenta de acuerdo a la ecuación de Arrhenius (ver Ecuación 22) ^[48]. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran en general una leve tendencia de disminución de liberación de iones al aumentar la temperatura.

$$k(T) = A * e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (22)$$

La corrosión del cobre también se ve influenciada por el oxígeno disuelto que contenga la solución ^[46]. De acuerdo a las ecuaciones 1 y 2, las reacciones de disolución de partículas de cobre son aeróbicas por lo que dependen del oxígeno disponible, el que a su vez depende de la temperatura. Si se aumenta la temperatura de 10 a 20°C, el oxígeno disuelto en agua a 1 atm disminuye un 20% aproximadamente ^[49], por lo que se perjudicaría el proceso de corrosión. Como en el estudio de liberación de iones de cobre realizado no se monitoreó la concentración de oxígeno disuelto durante el período de inmersión de las placas, no es posible establecer la influencia real que tuvo éste parámetro en los resultados obtenidos. Sin embargo, para disminuir su influencia se cambiaba el agua cada vez que se sacaba una muestra de la solución de lixiviación.

Por otro lado, el Gráfico 18 presenta los resultados obtenidos de la liberación de iones de cobre para los compósitos sintetizados in-situ (PP/CuAc y PP/CuAc/SFS) con 5% p/p de cobre sumergidos en agua desionizada y agua de mar artificial a 20°C, mientras que el Gráfico 19 muestra los resultados de concentración para el compuesto PP/Cu.

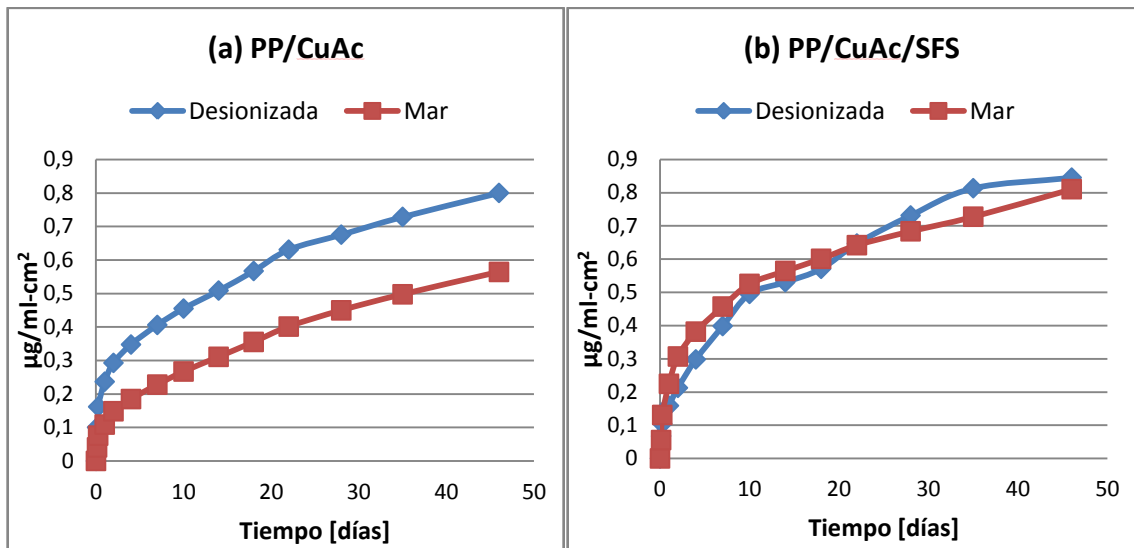


Gráfico 18. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie de los composites PP/CuAc (a) y PP/CuAc/SFS (b) con 5% de cobre lixiviados a 20°C.

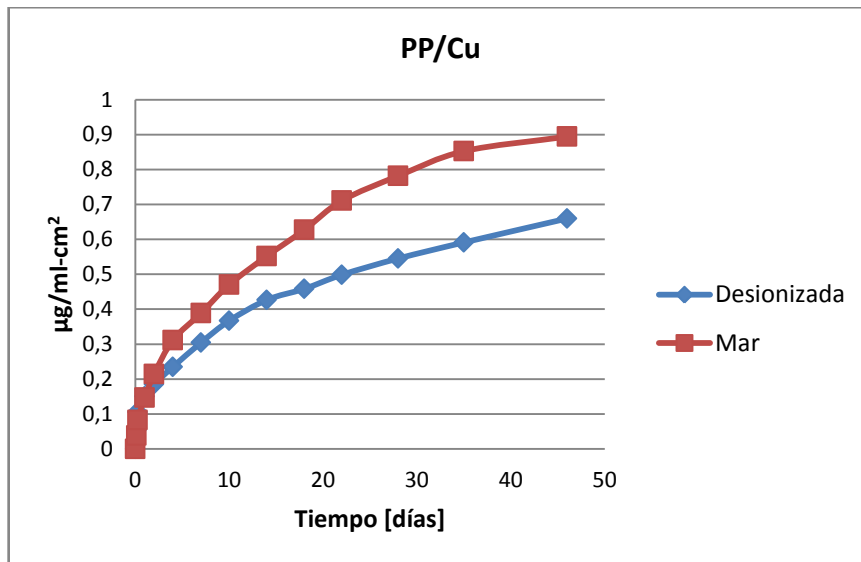
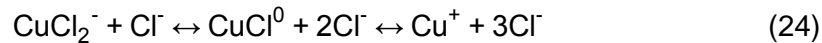
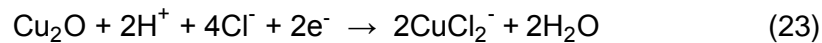


Gráfico 19. Variación en el tiempo de la concentración de iones cúpricos por unidad de superficie del composite PP/Cu con 5% de cobre lixiviados a 20°C.

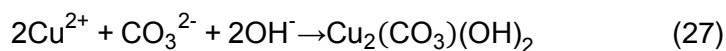
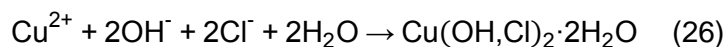
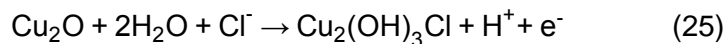
A partir del Gráfico 18 y 19 es posible observar que el composite que contiene sólo partículas de cobre metálico (PP/Cu) muestra un aumento en la capacidad de corrosión del cobre de hasta el 44% al aumentar la salinidad, en cambio el composite que tiene mayor cantidad de óxidos de cobre (PP/CuAc) presenta el efecto contrario, disminuyendo la concentración hasta un 36%. Además, no se logra apreciar un efecto de la salinidad en el composite PP/CuAc/SFS al no presentar diferencias definidas.

La especie que define un efecto de la salinidad del agua de mar en la corrosión de cobre es el ion cloro (Cl⁻). La solución de agua de mar artificial preparada contiene una salinidad de 35 ‰ (partes por mil) que corresponde aproximadamente a 35 gramos de sal por litro de solución (g/L), de los cuales el contenido del ion Cl⁻ corresponde a 19,35 g/kg de solución (3,5% con respecto al total) [39]. Diversos estudios han observado ambos efectos del cloro, es decir, un incremento y una disminución de la corrosión del cobre, dependiendo de la temperatura y el pH de la solución [50]. Además, algunos investigadores han concluido que el cloro es un fuerte agente oxidante en las superficies de cobre [51], lo que explica el aumento de la concentración de iones cúpricos en el polímero con nanopartículas de cobre metálico comercial al incrementar la salinidad.

Por otro lado, la disolución de óxido cuproso se produce por la reacción de iones Cl⁻ y H⁺ con partículas de Cu₂O formando complejos cloro-cobre como el mostrado en la Ecuación 23 [52]. Luego, estos son oxidados a Cu²⁺ y liberados como cobre iónico o complejos de cobre inestables (Ecuación 24) [1]. La Ecuación 23 es irreversible e influenciada por la cinética.



Sin embargo, la liberación de iones Cu²⁺ se puede ver disminuida por la formación de productos insolubles a partir de las especies disueltas en el agua de mar, y su adsorción a las superficies, lo que retarda la corrosión de partículas de cobre [53]. La formación de Cu₂(OH)₃Cl, calumetita, Cu(OH,Cl)₂·2H₂O, y malaquita, Cu₂(CO₃)(OH)₂, se muestra en las siguientes reacciones químicas [45,53]:



Lindner en 1988 estudió la formación de una capa en la superficie, tratada con recubrimiento antifouling, que atrapaba iones de cobre disminuyendo su velocidad de

lixiviación ^[54]. Esos iones reaccionaban con iones de cloro e hidroxilos en el agua de mar para formar complejos menos solubles que precipitaban en la superficie, bloqueando la disolución de Cu_2O .

Esto podría explicar el descenso de la capacidad de corrosión de las partículas de cobre del compuesto PP/CuAc 5% al lixiviarlo a 20°C en un medio acuoso con mayor salinidad, dado que esta mezcla contiene sólo óxidos de cobre, a diferencia de los otros tipos. Sin embargo, debido a que el análisis de rayos X no permite identificar con claridad sustancias superficiales, no fue posible observar compuestos como los de las ecuaciones 25, 26 y 27 en el difractograma de este compuesto después de ser lixiviado por 46 días en agua de mar artificial.

Por otro lado, se estima que no es posible ver un efecto definido de la salinidad de la solución en la lixiviación del compuesto PP/CuAc/SFS 5% debido a que éste contiene partículas de cobre metálico y óxidos de cobre, por lo que es influido por todos los fenómenos que afectan a ambos tipos de partículas.

Asimismo, las ecuaciones de disolución de partículas de cobre en el mar (Ecuaciones 20, 23 y 24) dan cuenta de la dependencia de la velocidad de liberación de iones de cobre de la concentración de iones H^+ y Cl^- , por lo que la liberación incrementa al disminuir el pH ^[52] y aumentar la salinidad. Al pasar de agua desionizada a agua de mar artificial, el pH aumenta de 5,5 a 8,2 aproximadamente, lo que disminuiría la capacidad de corrosión del cobre.

En general, existen muchos estudios de efectos de temperatura y salinidad en la corrosión del cobre ^[45-47, 50-52], pero si bien se tienen resultados teóricos esperados, los resultados de cada ensayo dependerán de las condiciones bajo las que se realice y el fenómeno específico que defina el proceso. Para el caso descrito, los resultados obtenidos al incrementar la salinidad consideran un aumento en la liberación de iones cúpricos para los compósitos con partículas de cobre metálico y una disminución para aquellos que contienen sólo óxidos de cobre.

4.2.3. Velocidades de liberación

En los Gráficos 20, 21 y 22 se presentan las velocidades de liberación de iones de cobre de los 3 tipos de compósitos, al lixiviarlos en agua desionizada a 20°C .

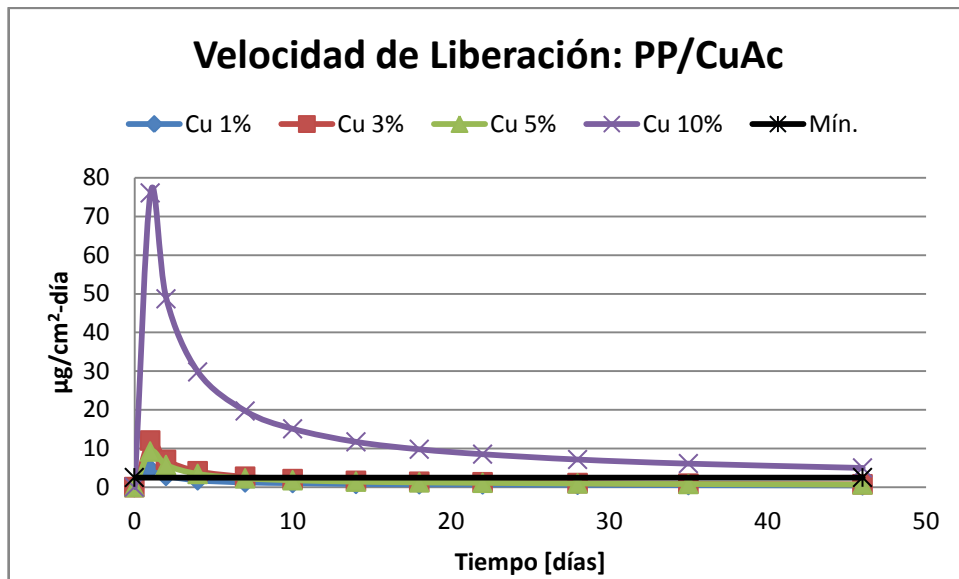


Gráfico 20. Variación en el tiempo de la velocidad de liberación de iones cúpricos por unidad de superficie de los compósitos PP/CuAc sumergidos en agua desionizada a 20°C. La recta "Mín." de color negro indica el valor mínimo necesario para poseer propiedades antifouling.

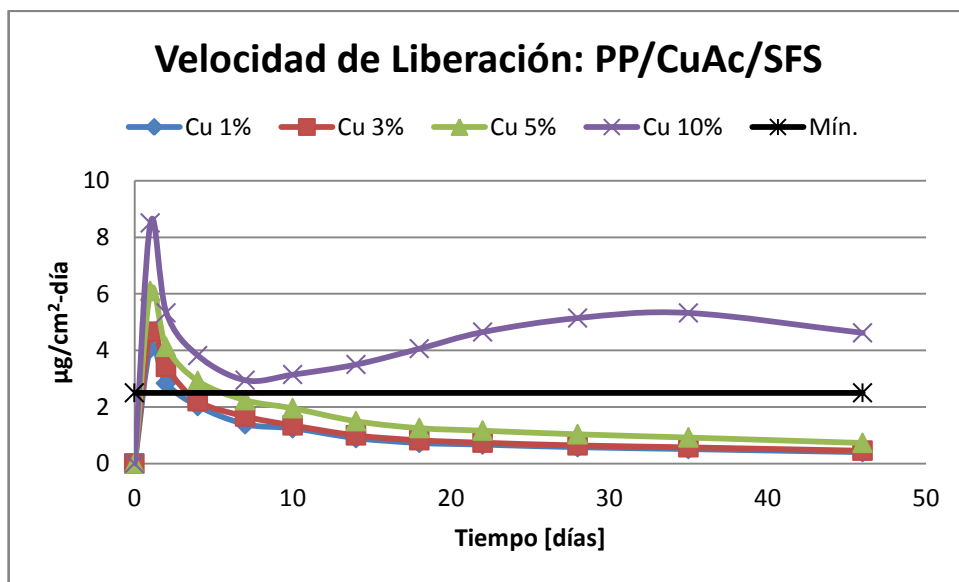


Gráfico 21. Variación en el tiempo de la velocidad de liberación de iones cúpricos por unidad de superficie de los compósitos PP/CuAc/SFS sumergidos en agua desionizada a 20°C. La recta "Mín." de color negro indica el valor mínimo necesario para poseer propiedades antifouling.

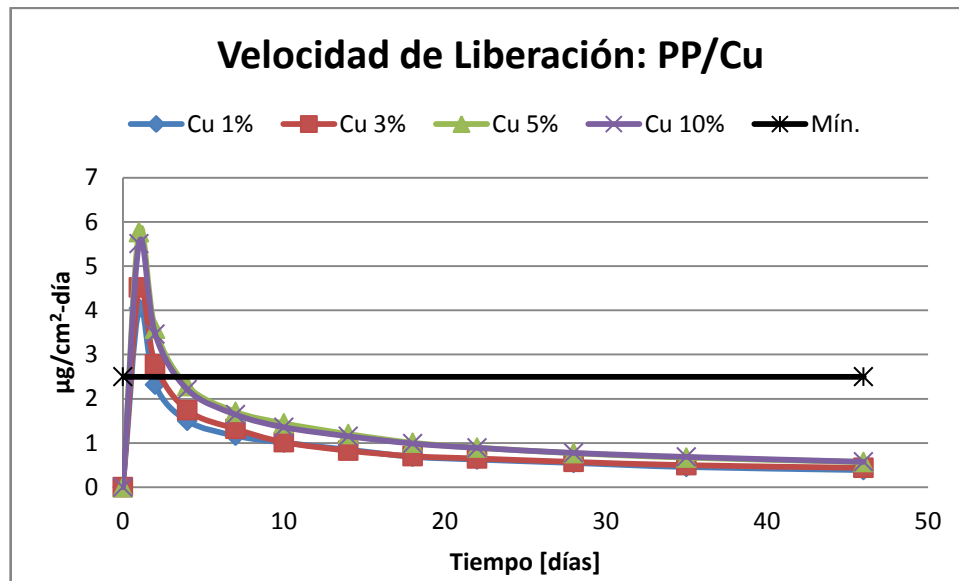


Gráfico 22. Variación en el tiempo de la velocidad de liberación de iones cúpricos por unidad de superficie de los compósitos PP/Cu sumergidos en agua desionizada a 20°C. La recta "Mín." de color negro indica el valor mínimo necesario para poseer propiedades antifouling.

Se observa que en todos los casos la velocidad de liberación de iones alcanza un máximo al primer día, lo que se debe a que al inicio del proceso el gradiente de concentración es mayor, por lo que las partículas de cobre al entrar en contacto con el agua liberan iones rápidamente, y a medida que las partículas de cobre se disuelven la liberación se va haciendo más lenta.

Los compósitos PP/CuAc y PP/CuAc/SFS 10% p/p de cobre alcanzan las mayores velocidades de liberación de iones cúpricos, sin contar el peak inicial, alcanzando al final del periodo de lixiviación 5,0 y 4,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{día}$ respectivamente. Para identificar si un material posee propiedades antifouling, se han reportado diversos valores de tasas de liberación de iones de cobre. Banfield et al. ^[55] reportó que se requiere una tasa de liberación de iones cúpricos de 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{día}$ para que exista efectividad contra los moluscos, y una una tasa de 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{día}$ era requerida para ser adicionalmente efectivo contra las diatomeas; sin embargo estos valores deben ser tomados como indicativos y no como valores absolutos de limitación ^[56]. A su vez, Efird et al. ^[57] reportó que para que existiera una acción antifouling por parte de un material, éste debía liberar al menos 2,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{día}$. Tomando este último valor como referencia, se espera que los compósitos al 10% p/p de cobre preparados por metodología in-situ

tengan potencial contra el biofouling, a diferencia de los compósitos preparados por metodología ex-situ que no alcanzan la tasa de liberación de iones cúpricos requerida.

4.3. Ensayos antifouling

Se realizaron estudios de la actividad antifouling de los compósitos preparados mediante síntesis in-situ. En particular, se sumergieron placas de PP/CuAc, PP/CuAc/SFS y PP/Cu con 10% p/p de cobre en agua de mar (3,5% de Cl) a 22°C por 2 meses junto a un blanco de PP, y luego se realizó un conteo de la microflora bacteriana presente en las placas. Al final de este estudio, el polímero utilizado como blanco (PP) presentó una colonización de $3,3 \cdot 10^6$ bacterias/cm², la placa PP/CuAc alcanzó $3,4 \cdot 10^7$ bacterias/cm², el compósito PP/CuAc/SFS tuvo una población bacteriana de $4,2 \cdot 10^7$ bacterias/cm² y el conteo para la placa de PP/Cu fue de $6,8 \cdot 10^5$ bacterias/cm².

A partir de los resultados del conteo de la microflora bacteriana se observa que los compósitos sintetizados por metodología in-situ (PP/CuAc y PP/CuAc/SFS) presentan densidades bacterianas globales 10 veces mayor que la placa de control (PP), lo que da cuenta de una baja efectividad de la actividad antifouling bajo las condiciones en las que se realizó el ensayo. Por el contrario, las propiedades antifouling del compósito PP/Cu fueron efectivas al disminuir la población bacteriana en un orden de magnitud.

Además, se tomaron fotografías mediante microscopía de epifluorescencia a las colonizaciones bacterianas asentadas, las que se muestran a continuación:

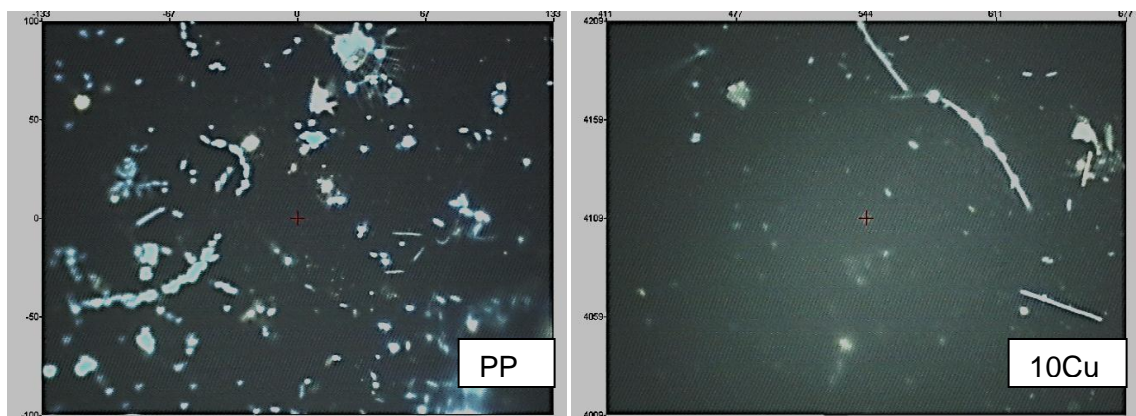


Figura 24. Fotografías mediante microscopía de epifluorescencia de placas de PP y PP/Cu 10% p/p de cobre después de 2 meses sumergidos en el mar a 22°C.

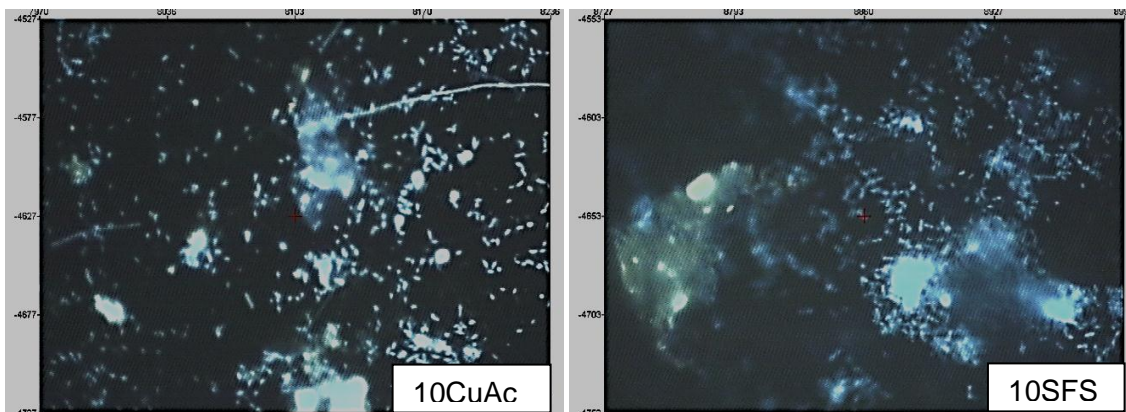


Figura 25. Fotografías mediante microscopía de eplifluorescencia de placas de PP/CuAc y PP/CuAc/SFS 10% p/p de cobre después de 2 meses sumergidos en el mar a 22°C.

La placa control presenta una colonización relativamente regular y diversa en toda su superficie, con la aparición de formas filamentosas y células de mayor tamaño (ver Figura 24). En el polímero PP/Cu las células bacterianas se observan mucho más apagadas que la muestra control y apenas son visibles, presentando algunas formas filamentosas y algunas muy pequeñas (ver Figura 24), lo que da cuenta de su alto potencial antifouling.

A su vez, los compósitos sintetizados in-situ (PP/CuAc y PP/CuAc/SFS) muestran masas celulares poco definidas y opacas (ver Figura 25), que implican una alteración del metabolismo de las células bacterianas, dando cuenta de una acción antifouling. Sin embargo, se aprecia una mayor fluoerescencia en las muestras de estos compósitos en comparación con el polímero PP/Cu, lo que indica un mayor número de bacterias.

A pesar de haber tenido tasas considerables en las pruebas de liberación de iones cúpricos y alcanzar el valor requerido, las mezclas PP/CuAc y PP/CuAc/SFS no resultaron completamente efectivas contra el biofouling, lo que da cuenta de que las condiciones en las que se realizaron los estudios no son favorables para el desarrollo de la acción antifouling. Sin embargo, llama la atención que el polímero PP/Cu haya presentado tan buenos resultados, siendo el que tenía la menor velocidad de liberación de iones dentro de los 3 tipos de mezclas.

Capítulo 5: Conclusiones

Como resultado del trabajo realizado se concluye que la metodología de síntesis in-situ de partículas de cobre con mezclado en fundido de polipropileno (PP) planteada, permite fabricar compósitos con acción biocida y antifouling capaces de liberar iones cúpricos.

La síntesis in-situ de partículas de cobre se realizó por medio de descomposición térmica del precursor de acetato de cobre (CuAc), y mediante el uso del reductor formaldehido-sulfóxido sódico (SFS). Además, se preparó un compósito utilizando metodología ex-situ para contar con un parámetro de comparación. De esta forma, para el caso de los compósitos preparados con CuAc diluido se lograron sintetizar óxidos de cobre, en cambio en la metodología con reducción química el SFS fue un agente reductor efectivo para la generación de partículas de cobre metálico in-situ.

Se observó que la composición del material influye en la liberación de iones al medio acuoso, debido a las distintas reacciones de corrosión que sufren las partículas de cobre, tanto metálico como óxido, y a la disolución del CuAc de los compósitos. En este aspecto, el compósito que obtuvo la mayor tasa de liberación de iones cúpricos fue el preparado con CuAc, alcanzando la tasa mínima necesaria para evitar el crecimiento del biofouling.

Además, en la liberación de iones tienen incidencia las condiciones de temperatura y salinidad del medio acuoso en el que se sumerjan los materiales, las que beneficiarán o perjudicarán la acción antifouling de acuerdo a las partículas que contenga el compósito.

Para los casos estudiados se obtuvo un aumento de la liberación de iones cúpricos al disminuir la temperatura en la lixiviación de los compósitos con partículas de cobre metálico. Asimismo al aumentar la salinidad, la liberación de iones fue mayor en los polímeros con partículas de cobre metálico y disminuyó en los que contenían óxidos de cobre.

Las imágenes obtenidas del ensayo antifouling mediante microscopía muestran cambios fenotípicos que sugieren una alteración del metabolismo de las células bacterianas, a pesar de no haber eliminado efectivamente la colonización de microflora.

De esta manera, se concluye que es posible fabricar compósitos antifouling efectivos de forma sencilla y económica. Convendría para futuros estudios, explorar el aumento del porcentaje de cobre real en el compósito, con el fin de aumentar la efectividad de los materiales.

Capítulo 6: Bibliografía

- [1] Dürr S. y Thomason J.C. Biofouling, Reino Unido, Blackwell Publising Ltd., 429p, 2010.
- [2] Tang M. Nuevas Alternativas de Redes Rígidas y Semi-rígidas para el Cultivo de Peces. SalmoCiencia, (1), oct. 2006.
- [3] Directorio de Acuicultura y pesca [en línea] <<http://www.directorioaqua.com>> [consultada agosto 2011]
- [4] Yebra D.M. et al. Review. Antifouling technology – past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. Progress in Organic Coatings, 50: 75 – 104, 2004.
- [5] Srinivasan M. y Swain G. W. Managing the used of copper-based antifouling paints. Environ Manage, 39: 423-441, 2007.
- [6] Qian P.Y. et al. Marine biofilms as mediators of colonization by marine macroorganisms: Implications for antifouling and aquaculture. Marine Biothecnology, 9: 399 – 410, 2007.
- [7] Whelan A. y Regan F. Antifouling strategies for marine and riverine sensors. J. Envirom. Monit. 8 (9): 880 – 886, 2006.
- [8] Abarzua S. y Jakubowski S. Review. Biotechnological investigation for the prevention of biofouling. I. Biological and biochemical principles for the prevention of biofouling. Marine Ecology Progress Series, 123: 301 – 312, 1995.
- [9] Cao S. et al. Progress of marine biofouling and antifouling technologies. Chinese Science Bulletin, 55: 1 – 15, 2010.
- [10] Kristensen J. B. et al. Antifouling enzymes and the biochemistry of marine settlement. Biotechnology Advances, 26: 471 – 481, 2008.
- [11] Gatidou G. y Thomaidis N. S. Evaluation of single and joint toxic effects of two antifouling biocides, their main metabolites and copper using phytoplankton bioassays. Aquatic Toxicology, 85: 184-191, 2007.
- [12] Abarzua S. et al. Biotechnological investigation for the prevention of marine biofouling II. Blue-green algae as potential producers of biogenic agents for the growth inhibition of microfouling organisms. Bot Mar, 42: 459-465, 1999.
- [13] Bazes A. et al. Active substances from *Ceramium botryocarpum* used as antifouling products in aquaculture. Aquaculture, 258: 664-647, 2006.
- [14] Bazes A. et al. Investigation of the antifouling constituents from the Brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. J Appl Phycol, 21: 395 – 403, 2009.

-
- [15] Silkina A. et al. Antifouling activity of macroalgal extracts on *Fragilaria pinnata* (Bacillariophyceae): A comparison with Diuron. *Aquatic Toxicology*, 94: 245-254, 2009.
- [16] Torres J. Cobre, Medioambiente y Salud, Aportes de la Ciencia. Comisión Chilena del Cobre, 2005.
- [17] Olivares el al. Cobre: Salud, Medio Ambiente y Nuevas Tecnologías. CINUT-INTA, ProCobre, Conmetal, Innova-Chile Corfo, International Copper Association Ltd, 2009. 126 p.
- [18] Borkow G. y Gabbay J. Copper as a biocidal tool. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 2163-2175, 2005.
- [19] Sandberg J., Odenvall I., Leygraf C. y Virta M. Release and chemical speciation of copper from anti-fouling paints with different active copper compounds in artificial seawater. *Materials and Corrosion*, 58 (3): 165-172, 2007.
- [20] Voulvoulis N., Scrimshaw M. D. y Lester J. N. Review: Alternative Antifouling Biocides. *Applied Organometallic Chemistry*, 13: 135-143, 1999.
- [21] Kenawy E., Worley S. y Broughton R. The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review. *Biomacromolecules*, 8: 1359 – 1385, 2007.
- [22] Huang J., et al. Antibacterial Polypropylene via Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization. *Biomacromolecules*, 8: 1396 – 1399, 2007.
- [23] Radheshkumar C. y Münstedt H. Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites-Ag⁺ released measured by anode stripping voltammetry. *Reactive and Functional Polymers*, 66: 780 – 788, 2006.
- [24] Damm C., Münstedt H. y Rösh A. Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. *Journal of Material Science*, 42:6067 – 6073, 2007.
- [25] Palza H. et al. Toward Tailor-Made Biocide Materials Based on Poly(propylene)/Copper Nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications*, 31: 563 – 567, 2010.
- [26] Gutiérrez S. Preparación y caracterización de materiales compósitos biocidas basados en polipropileno con nanopartículas de cobre. Tesis (Ingeniero Civil Químico) Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, 2009.
- [27] Anyaogu K., Fedorov A. y Neckers D. Synthesis, Characterization, and Antifouling Potential of Functionalized Copper Nanoparticles. *Langmuir*, 24: 4340 – 4346, 2008.

-
- [28] Kumar R. y Münstedt H. Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials*, 26: 2081 – 2088, 2005.
- [29] Rozenberg B. y Renne R. Polymer-assisted fabrication of nanoparticles and nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 33: 40 – 112, 2008.
- [30] Wang S. Preparación in-situ de materiales compuestos de polipropileno con partículas de cobre para aplicaciones biocidas. Tesis (Ingeniero Civil Químico). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, 2011.
- [31] Cioffi et al. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties. *Chem. Mater.*, 17: 5255 – 5262, 2005.
- [32] Wannawong W., Humphries U. y Wongwises P. A study of Temperature and Salinity Changes of Seawater by Mathematical Modeling. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 8 (4): 446 – 451, 2010.
- [33] Fundación Mar de Chile [en línea] < <http://www.mardechile.cl> > [consulta noviembre de 2011]
- [34] Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú [en línea] <<http://www.senamhi.gob.pe>> [consulta noviembre 2011]
- [35] Ecosea [en línea] <<http://www.ecosea.cl>> [consulta noviembre de 2011]
- [36] Hoja de especificaciones del PH0320 [en línea] <http://www.petroquim.cl/archivos/PH0320_3.09.pdf> [consulta septiembre 2011]
- [37] Sigma Aldrich [en línea] <<http://www.sigmaaldrich.com>> [consulta marzo 2011]
- [38] Merck [en línea] <<http://www.merck.com>> [consulta marzo 2011]
- [39] Kester D. R. et al. Preparation of artificial seawater. *Limnology and Oceanography*, 12 (1): 176 – 179, 1967.
- [40] Di Siervi M. Bacterias. Instituto de Limnología “Dr. Raúl A. Ringuelet”. UNLP-CONICET, 2002.
- [41] Malowska J. y Baranowska A. Kinetic parameters of the thermal decomposition of Cu (II) and Zn (II) salts of carboxylic acids. *Journal of Thermal analysis*, 29: 309 – 315, 1984.
- [42] Bellini J., Machado M. y Kiminami R. Thermal, Structural and Morphological Characterization of freeze-dried copper (II) acetate monohydrate and its solid decomposition products. *Material Research*, 5: 453 – 457, 2002.

-
- [43] Makarov S. Recent Trends in the chemistry of sulfur-containing reducing agents. *Russian Chemical Review*, 70 (10): 885 – 895, 2001.
- [44] Terskaya I., Budanov V., Makarov S. y Ermolina L. Electroless Nickel and Copper Plating of Carbon Fibers with the Use of Sulfur-containing Reducing Agents. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 77 (2): 236 – 240, 2004.
- [45] Xia X. et al. Corrosion characteristics of copper microparticles and copper nanoparticles in distilled water. *Corrosion Science*, 48: 3924 – 3932, 2006.
- [46] Mora N., Cano E., Mora E. M. y Bastidas J. M. Influence of pH and oxygen on copper corrosion in simulated uterine fluid. *Biomaterials*, 23: 667 – 671, 2002.
- [47] Cai S., Xia X. y Xie C. Research on Cu²⁺ transformations of Cu and its oxides particles with different sizes in the simulated uterine solution. *Corrosion Science*, 47: 1039 – 1047, 2005.
- [48] IUPAC Goldbook [en línea] <<http://old.iupac.org>> [consulta septiembre 2011]
- [49] USGS Water Resources of the United States [en línea] <<http://water.usgs.gov>> [consulta agosto 2011]
- [50] Boulay N. y Edwards M. Role of temperature, chlorine and organic matter in copper corrosion by-product release in soft water. *Water Research*, 35 (3): 683 – 690, 2001.
- [51] Hong P. K. A. y Macauley Y. Corrosion and leaching of copper tubing exposed to chlorinated drinking water. *Water, Air and Soil Pollution*, 108: 457 – 471, 1998.
- [52] Singh N. y Turner A. Leaching of copper and zinc from spent antifouling paint particles. *Environmental Pollution*, 157: 371 – 376, 2009.
- [53] Swain G. W. J., Farrar R. A. y Hutton S. P. The use of controlled copper dissolution as an anti-fouling system. *Journal of Materials Science*, 17: 1079 – 1094, 1982)
- [54] Lindner E. Failure mechanism of copper antifouling coatings. *International Biodeterioration*, 24: 247 – 253, 1988.
- [55] Banfield T. Marine finishes: part 2. *Journal of the Oil and Colour Chemists Association*, 69: 93 – 100, 1980.
- [56] De Wolf P. y Londen A. Anti-fouling compositions. *Nature*, 209:272 – 274, 1966.
- [57] Efirid K. y Anderson D. Sea water corrosion of 90-10 and 70-30 Cu-Ni: 14 year exposures. *Materials Performance*, 14 (11): 37 – 40, 1975.