



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CIOA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN QUÍMICA APLICADA



Saltillo, Coahuila a 7 de enero de 2025

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

Coordinación de Posgrado
Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por JOSÉ ÁNGEL LEDÓN SMITH titulado Síntesis y caracterización de recubrimientos nanoestructurados con efecto antimicrobiano para su aplicación en superficies expuestas al océano el cual fue presentado el día 18 de diciembre de 2024, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

SINODALES

Dr. Enrique Javier Jiménez Regalado
Presidente

Dr. Claude St. Thomas
Secretario

Dr. Luis Alfonso García Cerda
Vocal

ASESORES

Dr. Gregorio Cadenas Pliego

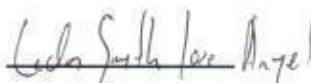
Dr. José Manuel Mata Padilla



TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: JOSÉ ÁNGEL LEDÓN SMITH

FIRMA 

TITULO: Síntesis y caracterización de recubrimientos nanoestructurados con efecto antimicrobiano para su aplicación en superficies expuestas al océano

ASESORES: Dr. Gregorio Cadenas Pliego

FIRMA 

Dr. José Manuel Mata Padilla

FIRMA 

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 18 de Diciembre de 2024


Sello de la Institución


Dra. Julieta Torres González
Directora General del CIQA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Síntesis y caracterización de recubrimientos nanoestructurados con efecto antimicrobiano para su aplicación en superficies expuestas al océano

Presentada por:

JOSÉ ÁNGEL LEDÓN SMITH

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dr. Gregorio Cadenas Pliego
Dr. José Manuel Mata Padilla

SINODALES



Dr. Enrique Javier Jiménez Regalado
Presidente



Dr. Claude St. Thomas
Secretario



Dr. Luis Alfonso García Cerda
Vocal

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 18 de diciembre de 2024

Ledon Smith Jose Angel

JOSÉ ÁNGEL LEDÓN SMITH

Nombre y Firma

CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE QUÍMICA APLICADA

Maestría en tecnología de polímeros

Tesis:

“Síntesis y caracterización de recubrimientos nanoestructurados con efecto antimicrobiano para su aplicación en superficies expuestas al océano”.

Presenta:

I.Q. José Ángel Ledón Smith

Para obtener grado de:

Maestría en tecnología de polímeros

Asesores:

Dr. Gregorio Cadenas Pliego

Dr. José Manuel Mata Padilla

Saltillo, Coahuila, diciembre del 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CIQA por otorgarme la confianza para ingresar a su programa de posgrado, así como por permitirme el uso de sus instalaciones y equipos para la realización del presente proyecto de investigación. Sin el enfoque y la formación de las personas del instituto, la redacción de esta tesis no hubiera sido posible.

Agradezco al proyecto CONACYT CF-2019-845101 DAMA: Descubrimiento Acelerado de Materiales Antibioincrustantes por el apoyo económico brindado al presente proyecto de tesis.

Agradezco el apoyo de la Dra. Sandra Cecilia Esparza González en mi formación en el área microbiológica. Su pasión, capacitación, equipo e instalaciones hicieron posible la obtención de los resultados microbiológicos.

Agradezco la colaboración del personal técnico: Maricela García Zamaro, Victor Eduardo Padilla, Myrna Salinas Hernández, Guadalupe Méndez Padilla, Alejandro Espinoza Muñoz, Beatriz Reyes Vielna y Víctor Sánchez, por su apoyo en las actividades de laboratorio y en la caracterización de los diferentes materiales obtenidos en el presente proyecto de investigación.

Agradezco el seguimiento y el juicio riguroso de mis sinodales: Dr. Enrique Javier Jiménez, Dr. Claude St. Thomas y, especialmente, al Dr. Luis Alfonso García. Este proyecto no sería el mismo sin su apoyo. Espero que su enfoque orientado al conocimiento de los estudiantes siga inspirando a más personas en el centro.

Agradezco el tiempo y la dedicación de mi asesor, el Dr. Gregorio Cadenas Pliego, y de mi coasesor, José Manuel Mata Padilla. Su experiencia y pasión por la ciencia son dignos de reconocimiento y admiración.

Finalmente, agradezco a mi madre, a mis hermanos y a "Vi". Sin su apoyo emocional, este logro no hubiera sido posible.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. ANTECEDENTES	10
2.1 Historia el biofouling	10
2.2 Historia de los nanomateriales	12
2.3 Fouling.....	13
2.4 Biofouling	14
2.4.1 Mecanismo de formación del biofouling	16
2.5 Pinturas antifouling	18
2.6 Nanomateriales	20
2.7 Nanocompuestos poliméricos.....	21
2.8 Nanopartículas	21
2.8.1 Efecto de superficie.....	21
2.9 Estabilidad de las nanopartículas.....	22
2.10 Problemas de aplicación de las nanopartículas	23
2.11 Nanopartículas con efecto biocida.....	23
2.12 Cobre	24
2.13 Selenio	25
2.14 Seleniuro de cobre	27
2.15 Goma arábica	28
2.16 Métodos de síntesis de nanopartículas	29
2.16.1 Método descendente	29
2.16.1.1 Litografía holográfica	30
2.16.1.2 Nanolitografía óptica.....	30
2.16.1.3 Evaporación térmica	30
2.16.1.4 Deposito químico en fase vapor	30
2.16.1.5 Clústeres gaseosos	31
2.16.1.6 Implantación de iones.....	31
2.16.2 Método ascendente	31
2.16.2.1 Reducción química	31
2.16.2.2 Reducción fotoquímica y radioquímica.....	32
2.16.2.3 Irradiación con microondas	32
2.16.2.4 Utilización de dendrímeros	33
2.17 Efecto de nucleación y crecimiento	33
2.18 Mecanismos de acción antimicrobiana de los metales	33
2.19 Mecanismos de defensa de los microorganismos	34
3. JUSTIFICACIÓN	36
4. HIPÓTESIS.....	37
5. OBJETIVO GENERAL.....	38
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
6. CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA Y/O TECNOLÓGICA	39
7. METODOLOGÍA	40

7.1	Reactivos	40
7.2	Síntesis de nanopartículas de cobre-selenio.....	41
7.2.1	Reducción química húmeda.....	41
7.3	Separación de las nanopartículas del medio coloidal.....	42
7.4	Preparación de los sustratos de acero inoxidable	43
7.5	Formulación del recubrimiento.....	43
7.6	Aplicación de los recubrimientos nanoestructurados	44
7.7	Preparación de las muestras para pruebas antimicrobianas.....	45
7.8	Preparación de muestras para prueba de liberación de iones	45
8.	TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	46
8.1	Espectroscopia (UV-Vis)	46
8.2	Difracción de rayos X.....	46
8.3	Análisis Termogravimétrico (TGA)	46
8.4	Espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR)	47
8.5	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	47
8.6	Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	47
8.7	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹ H).....	48
8.8	Pruebas antimicrobianas.....	48
8.9	Potencial Z.....	50
9.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
9.1	Caracterización de la resina acrílica	51
9.1.1	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier	51
9.1.2	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón	52
9.2	Caracterización de las nanopartículas.....	54
9.2.1	UV-Absorbancia.....	54
9.2.2	Difracción de rayos X.....	55
9.2.3	Espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier	58
9.2.4	Análisis termogravimétrico	59
9.2.5	Análisis de composición por microscopia electrónica de barrido	62
9.2.6	Análisis morfológico por microscopía electrónica de transmisión	64
9.2.7	Espectrometría de emisión por plasma de acoplamiento inductivo	67
9.2.8	Potencial Z.....	70
9.3	Pruebas antimicrobianas.....	71
9.3.1	Método de Kirby-Bauer.....	71
9.3.2	Método 1 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados	76
9.3.3	Método 2 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados	81
10.	CONCLUSIONES	86
11.	REFERENCIAS.....	87
12.	ANEXOS	99
12.1	Estructura química de la goma arábica	99

Resumen

La bioincrustación de los microorganismos en las superficies expuestas al mar representa una fuga económica para el sector comercial y de transporte, con esa problemática en mente, en el presente trabajo de investigación se plantea la formulación de una nueva familia de recubrimientos antimicrobianos a base de una mezcla de nanopartículas de CuSe, goma arábiga y una resina comercial. Las NPs de CuSe han sido principalmente utilizadas en el campo de los semiconductores, por lo que los resultados antimicrobianos favorables obtenidos en este trabajo a bajas concentraciones abren la posibilidad a un gran número de investigaciones de este sistema. Las nanopartículas de CuSe fueron caracterizadas con el objetivo de conocer su morfología, sus estructuras cristalinas, su estabilidad térmica y sus propiedades antimicrobianas, además de estudiar su estabilidad en solución y su liberación de iones, con el fin de evitar los problemas de aplicación. Se demostró al igual que en muchas investigaciones que el uso de gomas como sistemas de protección anti oxidación es bastante eficaz y que la aplicación de procesos térmicos a las nanopartículas de selenio y sus derivados provoca cambios de morfología que podrían afectar sus propiedades. Este estudio propone dos nuevos métodos de análisis antimicrobianos de recubrimientos que permitirán obtener resultados de su actividad antimicrobiana antes de aplicarlos directamente en el mar.

1. INTRODUCCIÓN

El Fouling y el biofouling son fenómenos producidos por la acumulación de depósitos indeseados en las superficies de materiales expuestos a diversos fluidos como: el agua, los hidrocarburos, los gases, el aire o el vapor [1].

Los materiales expuestos a ecosistemas marinos presentan bastantes desafíos para cumplir su función, debido a las interacciones y efectos que presentan con este medio. Uno de los fenómenos a los que están expuestos es el biofouling, que puede definirse como la acumulación indeseable de microorganismos, plantas y animales sobre superficies inmersas en agua de mar. Este proceso biológico resulta bastante inconveniente para las embarcaciones, ya que provoca un aumento de la resistencia a la fricción debido a la rugosidad generada, lo que genera un aumento de peso e implica una reducción potencial de velocidad y maniobrabilidad que incrementa los costos de combustible y, por ende, las emisiones de compuestos a la atmósfera. Además, este fenómeno deteriora el sistema protector del revestimiento, favorece a la corrosión, decoloración y altera diversas propiedades de los materiales como la conductividad eléctrica y térmica, lo que incrementa la frecuencia de mantenimientos en los equipos. Finalmente, se deben considerar los residuos tóxicos generados durante el proceso en los cuerpos de agua, resultado del desprendimiento de los revestimientos y óxidos metálicos provenientes de dichos materiales [2,3,4].

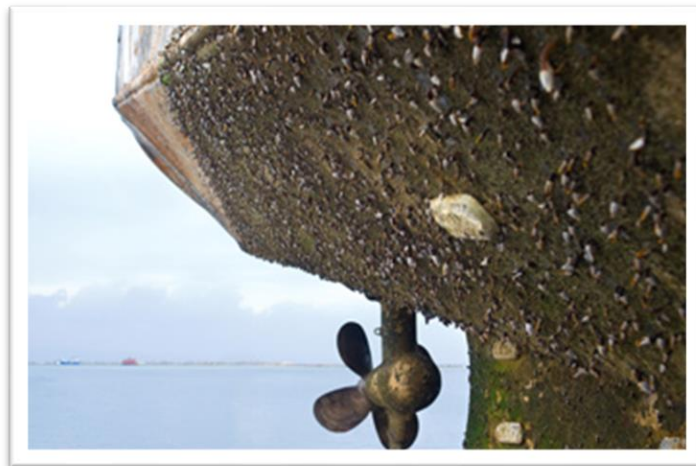


Figura 1: Crecimiento de biofouling en una superficie expuesta al agua de mar sin ningún tipo de protección antimicrobiana o mantenimiento.

El control de los depósitos de biofouling se convierte en un problema desafiante y persistente, ya que a pesar de remover el 99% de ellos por técnicas

físicas o químicas, aún hay suficientes microorganismos presentes, los cuales pueden seguir creciendo a costa de las sustancias biodegradables presentes en el agua [3]. La formación y la gravedad de la película biológica depende de diversos parámetros provenientes de las condiciones del agua, como la salinidad, la concentración de nutrientes disueltos y temperatura, así como de la localización geográfica (las zonas tropicales favorecen el crecimiento de los microorganismos, mientras que las zonas gélidas disminuyen la proliferación del fenómeno) y las propiedades del material expuesto al mar. En resumen, es un campo de estudio multivariable, en la que se pueden tomar diferentes rutas para la reducción del problema [1,2].

Una de las soluciones más eficaces para reducir el problema de las incrustaciones biológicas es el uso de sustancias tóxicas para recubrir las embarcaciones, lo cual conlleva a la contaminación en los medios marinos. No obstante, durante las últimas décadas, las leyes medioambientales se han vuelto más rigurosas y han prohibido varios tipos de recubrimientos tóxicos, lo que ha disminuido el impacto negativo causado al ambiente marino. A pesar de estos avances, todavía se requiere de un esfuerzo mucho más intenso para evitar daños a largo plazo para la flora y fauna marina. Con dicha perspectiva presente, surge la necesidad de desarrollar nuevos aditivos que inhiban o disminuyan la posibilidad de la incrustación biológica marina y que presenten menor toxicidad a los presentes en el mercado [4,5,6,7].

Actualmente una gran cantidad de recubrimientos antifouling comerciales son fabricados con porcentajes altos de aditivos como el óxido de cobre (CuO) y el zinc (Zn), los cuales son materiales tóxicos para los cuales existen regulaciones de uso. Sin embargo, el cobre y zinc presentan una buena actividad biocida, lo que los hace difícil de reemplazar. A pesar de que el cobre se encuentra de forma natural en el agua y es necesario para los procesos biológicos esenciales de animales y plantas [3] existe una gran preocupación por el peligro que representa tenerlo en altas concentraciones en el ambiente marino, ya que se considera tóxico para la flora y fauna [8]. Actualmente, las pinturas antifouling que liberan iones de cobre cumplen con las normas medioambientales existentes [9].

Aprovechando las propiedades únicas que presentan las nanopartículas (NPs), consecuencia de su tamaño, se pueden desarrollar sistemas antimicrobianos más eficaces y menos dañinos para el medio ambiente. El uso de nanopartículas permite evitar la alta resistencia de los microorganismos ante los agentes biocidas y su adaptabilidad. Además de aumentar la eficacia, reducir costos y reducir material utilizado en su fabricación, evitando así, el uso de procesos de remoción de los residuos contaminantes de los cuerpos de agua (ríos, lagos, lagunas, etc.) [9,10,11,12].

Actualmente, los materiales nanoestructurados son de bastante interés en diversas áreas (investigación, agronomía, construcción, etc.), ya que permiten

solucionar problemáticas complejas que los materiales macroestructurados no pueden, esto debido a que presentan mejores propiedades en comparación (ya sean mecánicas, electrónicas, ópticas, etc.) [10]. Este tipo de materiales pueden obtener propiedades significativamente diferentes, dependiendo de su ruta de fabricación. Las propiedades de los nanomateriales generalmente dependen de su estructura cristalina, orientación de cristal, forma, condiciones de superficie, distribución de nanopartículas y entorno de síntesis. La razón principal por la que se presenta esta alteración en estas propiedades es debido al incremento de la relación superficie/volumen. El interés en la nanociencia se debe a las infinitas posibilidades que pueden ofrecer los materiales a una escala atómica [13,14].

La fuerte tendencia a la aglomeración de las nanopartículas, es un problema que impide la aplicación del material. Según reportes, la manera más simple de estabilizar la nanopartícula es recubriéndola con un polímero o un surfactante, ya que ambos aumentan la viscosidad y reducen la interacción entre las NPs evitando la aglomeración [15].

Varios recubrimientos como los polímeros, surfactantes o agentes biocompatibles han sido usados en diferentes estudios para estabilizar NPs. Donde sugieren que la concentración del estabilizante tiene un efecto importante en el tamaño de la nanopartícula [15].

La goma arábica es un polisacárido extraído de un exudado de un árbol llamado *Acacia Seyal*, su estructura está compuesta de L-arabinosa, D-galactosa, L-rhamnose, D-ácido glucurónico y algunas especies de base nitrogenada. No presenta toxicidad y funciona como un agente protector que forma suspensiones con buena estabilidad. La goma arábica previene la degradación de los materiales a los cuales está adherida y es soluble en agua [16,17]. El objetivo de este material en la presente investigación es mantener estables las nanopartículas sintetizadas y evitar su aglomeración.

Las nanopartículas de cobre son de gran interés debido a su efectividad, estabilidad, disponibilidad y sus excelentes propiedades comparadas con nanopartículas de otros metales tales como la plata y el oro que resultan ser mucho más costosos. Las nanopartículas de cobre se han utilizado en múltiples aplicaciones como en baterías, catalizadores, celdas solares, sensores, conductores, pinturas, tintas, agentes antimicrobianos, tratamiento de aguas residuales, etc. [13].

Por otro lado, se tiene que el selenio es un material versátil con excelentes propiedades antimicrobianas en sus formas micro y nanométrica. Las nanopartículas de selenio han atraído atención debido a sus aplicaciones potenciales en la nanomedicina, ya que son consideradas de baja toxicidad y han sido empleadas para propósitos médicos como antimicrobianas y antifúngicos [18,19], motivo por el cual se considera emplear el material en el presente proyecto de investigación. El uso de ligantes (polímeros) solubles en agua, generarán una

fase que puede funcionar como un estabilizante [11] en la síntesis de las NPs de selenio.

El método de reducción química húmeda es ampliamente usado en la síntesis de nanopartículas y se considera un método bastante simple, debido a que los tiempos de las reacciones son cortos y permite el control de tamaño y forma de los cristales nanométricos. Además, es un método relativamente económico cuando se compara con otros métodos como el de sol-gel [13,14].

El manejo de nanopartículas biocidas representa un área de oportunidad en la que aún falta mucha investigación, ya que son de particular interés por su actividad antimicrobiana que está altamente influenciada por su gran área superficial en relación a su volumen. Este potenciamiento de las propiedades facilita reducir la cantidad de materiales usados para la fabricación de nanocompuestos y posibilita generar nuevas aplicaciones para nuevos materiales, dándoles por lo tanto un valor agregado [20].

Las NPs tienden a ser bastante reactivas, por lo que en muchos casos se opta por funcionalizarlas. Los polímeros son probablemente los materiales más viables que hay en el mercado para funcionalizar las NPs, debido a las diferentes estructuras químicas que presentan, las cuales favorecen la generación de nuevos compuestos [21].

Este proyecto de investigación plantea el desarrollo de una nueva familia de recubrimientos antifouling de bajo impacto ambiental, a base de una matriz de acrilato comercial con una mezcla bien dispersa de nanopartículas de cobre y selenio (CuSe) con alta actividad antimicrobiana. Para lograrlo se plantea sintetizar una mezcla de nanopartículas CuSe de manera *in situ* empleando ligantes y disolventes amigables con el medio ambiente. Las nanopartículas se incorporarán dentro de una resina acrílica en emulsión comercial y la formulación de los recubrimientos. Con este trabajo de investigación se busca reducir la cantidad del biocida que se usa en la fabricación de las pinturas antifouling comerciales, favoreciendo de esta manera al medio ambiente como se ha logrado en otros estudios [22,23].

2. ANTECEDENTES

2.1 Historia del biofouling

Desde el momento que nació la navegación miles de organismos acuáticos encontraron nuevas superficies donde crecer y desarrollarse, provocando enormes problemas a todas las personas que viven de la industria marítima, incluyendo la del aprovechamiento de energías marinas. Lo anterior, debido a que el material sumergido en los océanos permite la adherencia de este tipo de bioincrustaciones llamadas biofouling. Los impactos negativos y significativos que tiene el biofouling en la viabilidad y rentabilidad de la industria marina han hecho necesario un largo y persistente esfuerzo en el control del problema. Las pinturas antifouling son comúnmente usadas sobre superficies en las industrias del transporte marino, representan una solución viable y de relativamente bajo costo para inhibir la proliferación de estos microorganismos [5,12,23,24].



Figura 2: *Casco de barco severamente afectado por el crecimiento de algas, requerirá de un mantenimiento correctivo.*

El biofouling en barcos, nació de la mano con la navegación, por lo tanto, la búsqueda de tecnologías para prevenirlo también tiene antecedentes históricos. El empleo de sustancias tóxicas data desde los 700 años A.C., cuando los fenicios, cartagineses, romanos y griegos para proteger los cascos de sus embarcaciones empleaban metales como el cobre, plomo, arsénico, azufre, aceites, breas, etc. Posteriormente, aproximadamente en el año 412 A.C se utilizaban mezclas con

alquitrán, azufre y arsénico para proteger los barcos de madera del ataque de gusanos tubícolas. Hacia el año 480 A.C. se utilizaban bronce y plomo en láminas para proteger los cascos de barcos de guerra, para evitar pérdidas de movilidad. La primera patente de pintura antifouling fue registrada en el año 1625 y fue realizada por William Beale, la pintura estaba compuesta por polvo de hierro, cemento y probablemente compuestos de cobre, desafortunadamente no funcionaba efectivamente. En el siglo XVIII se permitió la implementación de recubrimientos basados en metales, desde ese momento se empezó a utilizar el estaño en forma de polvo y el cobre, en ambos se obtuvieron buenos resultados con altas concentraciones. En el siglo XIX comenzaron a desarrollarse las primeras pinturas antifouling, a base de cobre, arsénico o mercurio mezclados con resina, lo que supuso la gran ventaja militar de la armada inglesa frente a las fuerzas napoleónicas, atribuido en parte a que las naves británicas poseían una mayor velocidad, debido a la aplicación mejores recubrimientos. En 1851, en Alemania, el uso de barnices oleosos fue el primer método de protección, el cual fue sustituido por pinturas de benceno permitiendo el uso de resinas más baratas y más fáciles de aplicar [25,26].

A través de la historia de la industria marina, las pinturas de copolímeros de metacrilato de tributil estaño y metilmetacrilato (TBT-SPC), que han estado presentes desde los años 60 y 70 hasta los inicios del 2000 han sido las más exitosas combatiendo el biofouling. Los componentes más empleados han sido el tributilo de estaño y tributileno de fenilo. Desafortunadamente, estos sistemas afectan adversamente el medio ambiente causando malformaciones en distintas especies marinas, daña el sistema inmunológico y se dispersa fácilmente, lo cual condujo a una regulación que obliga a los fabricantes a buscar alternativas que no dañen el ecosistema [2,23,25,27].

2.2 Historia de los nanomateriales

El uso de los nanomateriales ha estado presente desde hace mucho tiempo. Su aplicación se remonta desde la medicina china tradicional, la cultura maya y las pinturas medievales italianas. Los nanomateriales han sido usados en el arte. La copa de Lycargus, una pieza que comprende desde el siglo IV y que fue pintada con tinta a base de NPs de oro. La producción de vidrieras para castillos y catedrales como la de Notre Dame, las estructuras con nanocuerdas de cementita y nanotubos de carbón de aceros de estilo damasquino inventados en el mediterráneo son apenas unos ejemplos. A pesar de que las tecnologías antiguas y las anteriores a la moderna no tenían control sobre las propiedades, ni las bases del conocimiento para lograr modificaciones a una escala nanométrica, se tenían las técnicas y métodos para producirlas.

Las tintas negras de carbón antiguas, el oro en la medicina, suspensiones coloidales de Faraday son solo unos ejemplos del uso de los nanomateriales que datan desde antes del año 6000 A. de C. Mientras que las síntesis de nanopartículas tienen apenas aproximadamente unos 50 años.

La historia de los nanomateriales dio un salto importante en el siglo XX, con la introducción de los semiconductores, con lo que el campo de la electrónica se enfocó en la miniaturización y permitiendo fabricar los primeros chips. En 1959, el físico Richard Feynman presentó una conferencia acerca del aprovechamiento de la escala atómica de los materiales llamada "There is a plenty of room at the bottom" en una reunión de la sociedad americana de física, donde se habló acerca de la manipulación de los átomos y cómo esto afectaría las propiedades de los materiales en el futuro, convirtiéndose en uno de los pioneros en el desarrollo de las nanociencias. La nanotecnología fue conocida como ciencia por primera vez en 1974 [28].

Dentro de los últimos 50 años se han descubierto algunos materiales que han cambiado totalmente nuestra percepción y han ampliado nuestra visión hacia nuevos horizontes. El descubrimiento de formas alotrópicas del carbono (nanodiamantes, fullerenos, nanotubos, grafeno, nanocuerdas, etc.) abre un mundo de posibilidades y de actuales retos para la investigación de vanguardia [29].

2.3 Fouling

El fouling se puede definir como la acumulación y/o adsorción de un material proveniente de un medio sobre una superficie que está expuesta al mismo medio. Esta acumulación genera una presión y una fricción superior en la superficie. Durante la generación de la capa de fouling se generan ciertos procesos adicionales que dependen de esta deposición y remoción de partículas y de las condiciones de operación tales como: la sedimentación, cristalización, disolución, desprendimiento y la erosión [30,31].

Las tasas de remoción incrementan con el aumento de las cantidades de depósito mientras que la tasa de deposición es independiente de la cantidad de depósito, pero depende de los cambios causados por los depósitos como el cambio en la rugosidad de la pared y de flujo de agua (o cualquiera que sea el ambiente al que está sometido el material) [30].

El fouling puede ser categorizado de distintas maneras, ya que la mayoría de las situaciones donde se presenta son prácticamente únicas, con esto en cuenta se puede clasificar en las siguientes categorías:

Tabla 1: Principales tipos de fouling, causas que los generan y ejemplos [2,5,18,30,32,33]

TIPO DE FOULING	PRINCIPAL CAUSA	EJEMPLOS DE SISTEMAS AFECTADOS
POR PARTÍCULAS	Partículas pesadas en un medio.	Intercambiadores de calor, calderas, etc.
POR PRECIPITADO	Saturación de sales inorgánicas en el medio, generalmente causada por un cambio de temperatura.	Calderas y evaporadores.
POR REACCIÓN QUÍMICA	Reacción química que produce material sólido o gelatinoso	Reactores.
POR CORROSIÓN	Reacción química corrosiva.	Calderas.
BIOFOULING	Micro y macro organismos presentes en el medio ambiente.	Equipos de procesado de alimentos, condensadores que mueven agua de mar, transporte marítimo, bases marítimas, etc.

Ante esta problemática, se han desarrollado diferentes estrategias o métodos para combatir el fouling. Los principales métodos que han sido empleados en los últimos años para combatir el este problema pueden ser clasificados como: químicos y mecánicos [30].

Método químico: Diferentes aditivos químicos desarrollados por muchas compañías han sido usados ampliamente para mitigar el fenómeno en el sector industrial. Estos aditivos aplicados actúan en formas diferentes como: Agentes secuestrantes (EDTA), agentes de umbral (polifosfatos y polifosfanatos), modificadores de cristales (ácido poli carboxílico) y dispersantes. La mitigación por medios químicos tiene serias repercusiones debido a que los inhibidores de fouling y de corrosión usualmente contienen una considerable cantidad de cloro, bromo, cromo, zinc, etc. Su concentración debe medirse cuidadosamente y el tratamiento de las aguas involucradas es complicado, debido a que altas concentraciones en sistemas cerrados pueden causar precipitaciones. Además, usar más de un componente químico puede resultar en reacciones químicas peligrosas y algunos aditivos suelen tener una limitada actividad [30].

Los métodos mecánicos se clasifican en dos categorías dependiendo su vía de acción. Pueden ser divididos como: De fuerza bruta (chorros de alta presión, taladros, lanzas, etc.) y métodos amigables (cepillos, esponjas, etc.) [34].

2.4 Biofouling

El término biofouling puede ser descrito de una manera vaga como una fijación y crecimiento de micro y macroorganismos sobre un sustrato natural o sintético sumergido en agua [26]. Donde algunos microorganismos forman biopelículas protectoras. Una biopelícula es una comunidad compleja de microorganismos que crecen adheridos a una superficie o sustrato y que generan polisacáridos que les permiten fijarse de una mejor manera, generando así una matriz que los protege y les permite formar estructuras organizadas y tridimensionales, de otra forma no podrían prosperar en su ciclo biológico. Las biopelículas no son realmente sólidas, tienen espacios intersticiales huecos que permiten el flujo de agua, difusión de nutrientes y oxígeno al interior y la expulsión del desecho metabolito [35,36].

La proliferación de los organismos es dada por un ambiente hidratado y una mínima presencia de nutrientes. Bajo estas condiciones, los microorganismos pueden crecer en superficies hidrófobas o hidrófilas, bióticas o abióticas. La biopelícula está compuesta principalmente por agua y representa hasta el 97% de toda su estructura [37]. Por otra parte, esta puede estar formada por un tipo de microorganismo o por varios como bacterias, hongos, algas, etc. La estructura de

esta película está formada por exo-polisacáridos (EPS), generados por los microorganismos, pueden estar asociados con iones metálicos y cationes divalentes y pueden tener carga neutra o aniónica. En menor medida está compuesta por sustancias poliméricas extracelulares (SPE) como polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas. También contiene nutrientes, metabolitos, productos de lisis celular y sustancias inorgánicas [36,38].

Las biopelículas juegan el rol principal en muchas infecciones, ya que le podrían otorgar resistencia a las colonias de especies que crecen en su interior, esta matriz actúa como una barrera mecánica, evitando que los agentes antimicrobianos penetren. La gran parte de los antibióticos que funcionan contra microorganismos individuales o en cultivo son menos efectivos contra las mismas especies cuando se presentan en una biopelícula. Las bacterias pueden resultar altamente resistentes por otros factores como lo son: la limitación de nutrientes, la liberación de un fenotipo persistente que limita el crecimiento, pero permite a las células combatir eficientemente factores de estrés ambientales (incluidos los antibióticos) [39].

Los organismos marinos se pueden clasificar según su origen, dividiéndolos en de origen vegetal, que se clasifican entre microalgas y macroalgas, y de origen animal, que se dividen en de cuerpo blando y de cuerpo duro. Estos se pueden acumular en cualquier superficie artificial sumergida o en contacto con el agua y existe una inmensa variedad entre 1700 y 4000 especies diferentes [40,41,42].

Los principales parámetros que condicionan el fenómeno y que afectan su crecimiento en embarcaciones o infraestructura marina son factores de operación y ambiente tales como: temperatura, salinidad, nutrientes en el agua como fosfatos y nitratos, etc. La formación del biofouling es más probable en las zonas más cálidas que en las frías del globo, por el condicionamiento de los organismos huéspedes, por lo que, la temperatura tiene un factor de control sobre la distribución y funciones vitales de los organismos. Por otra parte, la salinidad afecta los fenómenos de ósmosis de los organismos y, además, los cambios de salinidad varían la densidad específica del agua influyendo en la flotabilidad de los microorganismos. Mientras que el pH del medio también influye sobre la actividad enzimática y las reacciones fisiológicas de los organismos [40].

El oxígeno es fundamental para los procesos de intercambio gaseoso en las bacterias aeróbicas y participa fundamentalmente en la actividad fotosintética de las algas. La luz determina la distribución vertical de los organismos. Las algas están confinadas a la zona eufótica para disponer de energía y los animales se localizan en esta zona o cerca de ella dado que obtienen su alimento directa o indirectamente de los vegetales. Las variaciones de luz provocan migraciones del fitoplancton y zooplancton, movilizándolo a su vez organismos que los secundan en la línea trófica. Los sustratos son muy importantes y sus características como: la dureza, textura,

composición química, color e inclinación condicionan el asentamiento de las especies de microorganismos [26].

Son múltiples y variadas las especies que causan el biofouling, estas se encuentran en todos los océanos, mares, lagos, ríos y en cualquier cuerpo de agua que cumpla condiciones básicas para estos tipos de microorganismos. En general, todas las especies identificadas que forman esta capa biológica se pueden clasificar en 6 grupos principales que son: Algas, hidroides, cirrípedos, gusanos tubícolas, mejillones azules y sifones de mar [25].

La formación del biofouling afecta múltiples tipos de aplicaciones y materiales dentro de los cuales se pueden mencionar: Implantes médicos, equipos quirúrgicos, ropa de hospital, equipo industrial, equipos marinos, plataformas marinas, envases, bolsas, tratamiento de aguas, etc. [35].

Las principales desventajas de la presencia del biofouling en cascos de las embarcaciones abarcan más no son limitativas al incremento de rugosidad, pérdidas de velocidad, aumento de consumo de combustible, aceleración de la corrosión, aumento en el riesgo de aparición de osmosis en los cascos de fibra reforzada y efecto estético. Para la prevención de problemas como estos la Organización Marítima Internacional (IMO por sus siglas en inglés) recomienda poner en seco la embarcación, limpiar y repintar los fondos. Además de eso se recomienda el uso de pinturas de antifouling para mayor protección [7,40].

Las pinturas antifouling con biocidas resultan ser bastante útiles para el propósito inicial. Estas están formadas en su composición por los biocidas que son los componentes activos, en su mayoría de cobre, que inhiben el crecimiento de la bioincrustación en las embarcaciones y están presentes en gran porcentaje. El vehículo para estos compuestos puede ser una resina, pigmentos y otros aditivos que dependen del uso y quien los fabrique [40].

La selección del mejor biocida depende de ciertas condiciones como son: su toxicidad ante los organismos incrustantes, no acumulación en organismos superiores, rápida biodegradación, solubilidad adecuada en el mar, estabilidad en la pintura líquida, aprobación por la legislación vigente, efecto medioambiental, etc. [40].

2.4.1 Mecanismo de formación del biofouling

Tradicionalmente, el proceso de biofouling puede ser considerado en 4 etapas generales:

- I. Creación de la película acondicionadora. Las moléculas orgánicas, como los polisacáridos, proteínas, proteoglicanos y posiblemente compuestos inorgánicos son acumulados rápidamente sobre cada superficie y dan paso al crecimiento de la película.
- II. Adsorción y adhesión de las moléculas. Rápidamente se forman bacterias y células simples que se asientan en esta superficie modificada. Estas especies son primeramente adsorbidas principalmente por un proceso físico y después adheridas formando una biopelícula microbiana.
- III. Crecimiento y colonización. La presencia de exudados adhesivos como los polisacáridos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos y la rugosidad de las colonias microbianas irregulares ayuda a atrapar más partículas y organismos. Esos incluyen esporas de algas, ciprés de percebe, hongos y protozoarios marinos, algunos de los cuales podrían ser atraídos por estimulación sensorial.
- IV. Formación de la biocapa. Esta corresponde al asentamiento y el crecimiento de la macroalga, una vez formada la biocapa, contiene una matriz de sustancias poliméricas extracelulares y estructuras verticales por espacios intersticiales. Esto permite el almacenamiento de más organismos de mayor tamaño [2,40].

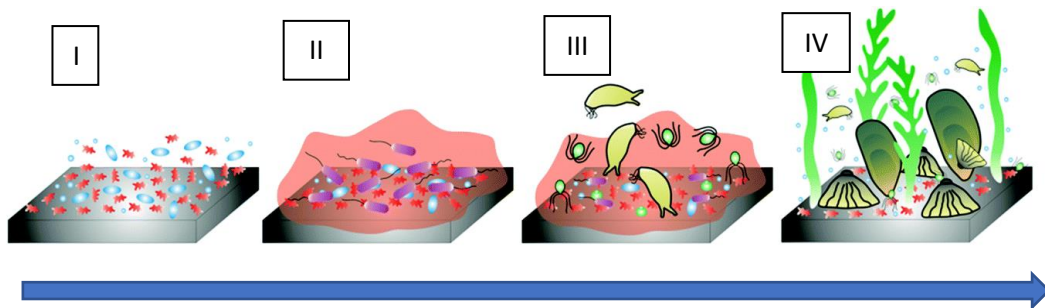


Figura 3: Esquema del mecanismo de adherencia de la biocapa.

2.5 Pinturas antifouling

Las primeras composiciones de pinturas o recubrimientos antifouling a partir del año 1865 fueron en su mayoría un fracaso, debido a que parecían atraer más el fouling que repelerlo, por lo que no fueron bien recibidas al principio de su investigación. Se producían a base de compuestos tóxicos, entre los más utilizados estaban el cobre, el arsénico y el mercurio en diferentes composiciones y se usaban por separado y mezclados entre ellos. Como resultado de los avances en las pinturas antifouling hoy en día pueden pasar hasta dos años en el mar sin problemas de reducción de velocidad ni aumento de combustible debido al fouling [40]. Las principales formas de combatir el fenómeno del biofouling son: evitar la colonización inicial, impedir el crecimiento de los microorganismos en la capa y crear superficies fácilmente limpiables o remoción de fouling [24,25].

Las pinturas antifouling se aplican a superficies como sistema de protección para combatir el desarrollo y el asentamiento del biofouling en superficies expuestas al agua. Otra de sus funciones es evitar la corrosión del tipo químico y biológico. Las características que se buscan en este tipo de recubrimientos es el equilibrio entre la eficacia de los materiales y la durabilidad, respetando los niveles de toxicidad tolerables. Además de tener un amplio espectro de acción para varias especies de organismos, baja toxicidad para la flora y fauna, baja solubilidad en el agua, bajo potencial de acumulación, protección anticorrosiva, compatibles con las superficies, etc. [25]. Este problema de la generación de biopelículas, en los últimos 20 años, ha obligado a la comunidad científica a enfocar esfuerzos en líneas de investigación dedicadas a la síntesis de recubrimientos [35].

Los componentes principales (el aglutinante y el biocida) varían con el tipo de pintura, con su aplicación, comportamiento y con la duración del recubrimiento antifouling. En la mayoría de los casos, las formulaciones de las pinturas de matriz soluble emplean aglutinantes basados en resinas y sus derivados junto con pigmentos tóxicos como el óxido de cobre, hierro y óxido de zinc [5,6]. Esas pinturas se componen de una solución coloidal suspendida y pueden ser clasificadas dentro de tres grupos dependiendo del mecanismo que emplean para liberar el biocida como de: Matriz soluble, matriz insoluble y pintura autopulible [2,11,19].

- a) Matriz insoluble o dura: En estas se utilizan biocidas que se liberan muy lentamente en el agua, de modo que van actuando gradualmente a medida que pasa el tiempo. La pintura que contiene las partículas forma una capa dura que se puede limpiar periódicamente lo cual permite mantener el casco en perfecto estado. Están diseñadas para una liberación controlada inicial alta y a medida que pasa el tiempo esta liberación va disminuyendo hasta que se pierde el efecto biocida, lo cual deja la pintura en la embarcación, pero deja su superficie rugosa. El principal problema en el uso de esta matriz es

que al final si se desea conservar el efecto biocida hay que retirar la capa de pintura para poder aplicar otra.

- b) Matriz soluble blanda: Son las más eficientes en la liberación del biocida, ya que emplean una menor cantidad y ofrecen la mayor protección. El término blando se refiere a que esta se erosiona con facilidad. Generalmente contienen óxido cuproso y se componen de una parte soluble y una insoluble en su estructura. El mecanismo de desintegración depende de la absorción del agua en la matriz que al ser sensible al agua permite la degradación de la parte soluble del material, dejando una estructura insoluble que se va desprendiendo con el tiempo y liberando su agente biocida, con la finalidad de evitar la adherencia de organismos marinos. Tienen un tiempo de vida útil de 6 a 12 meses.
- c) Autopulimentables: Este tipo de pintura aprovecha un cierto grado de solubilidad en el agua, de modo que sus fragmentos microscópicos se van erosionando paulatinamente dejando expuesto el biocida activo. Una ventaja obvia es que no hay acumulación de capas, ya que su espesor se va reduciendo con el tiempo y a la larga tiende a ser más barato que el uso de recubrimientos de matriz insoluble. La liberación del biocida se origina cuando la capa superficial del polímero se convierte en soluble en el agua salada y se disuelve progresivamente [40].

Las pinturas antiadherentes son una alternativa al uso de biocidas en los recubrimientos para las superficies expuestas al mar. Estos son recubrimientos que se basan en polisiloxanos o polialcoholes fluorados con pigmentos de teflón. Los microorganismos generan un fluido polar como adhesivo, si la energía superficial del recubrimiento es baja los organismos no se pueden adherir. Los efectos de este tipo de pinturas se deben a la tensión superficial y al efecto hidrófobo de la resina. La razón de que no sean tan empleadas es que no son suficientemente resistentes a condiciones extremas, además de presentar propiedades mecánicas bajas [25].

Existen varios factores a considerar al aplicar una pintura antibioincrustante. Primeramente, el efecto de la temperatura del agua, un aumento de la temperatura disminuye la vida útil de las mismas por el incremento de la disolución del agente biocida. Posteriormente, la salinidad afecta la solubilidad de la matriz polimérica, ya que, al aumentar la salinidad aumenta la solubilidad, por lo tanto, el agente biocida se lixivia. Adicionalmente, el pH afecta la solubilidad de la resina de las pinturas, observándose que a valores de pH altos la solubilidad aumenta [26].

2.6 Nanomateriales

Los nanomateriales nos permiten obtener propiedades que antes eran imposibles de conseguir, imprácticas para producir o demasiado caras para usar a una escala suficientemente grande para que sea útil usarlo en el día a día [29]. Uno de los nanomateriales más antiguos de los que se tiene evidencia son los nanocarbonos, estos pueden ser creados en abundancia de una manera rápida y económica, obtenidos en el proceso de quemado de la materia orgánica. El uso que tenía en la antigüedad (algunos 14,000 años) era el artístico, la mezcla de estas nanopartículas con grasa permitió la generación de pinturas, de las cuales se pueden encontrar en cuevas. En tiempos premodernos el uso de este nanomaterial fue la fabricación de tintas y pasta de impresión. En la actualidad los compuestos a base de fullerenos, nanotubos y nanodiamantes ofrecen múltiples aplicaciones potenciales. El grafeno es una estructura 2D que tiene propiedades únicas basadas en física cuántica, útil para fabricación de electrónicos transparentes y ligeros. Los nanometales han sido usados por miles de años debido a sus múltiples aplicaciones, como en suspensiones para pinturas y en medicina. Los nanocerámicos, conocidos como uno de los materiales artificiales más usados, el cemento nanocerámico es un material usado desde la cultura macedónica y ampliamente usado en la arquitectura romana [43].

La morfología, el tamaño y las propiedades físicas de los nanomateriales dependen de varios factores como: la síntesis de las NPs, materiales usados, surfactantes, aditivos, temperatura de reacción y ambiental, pH, tiempo de reacción, medio de reacción y naturaleza del disolvente entre otros [44]. Además, los nanomateriales se pueden clasificar de acuerdo a sus dimensiones como:

De cero dimensiones (0-D): Son materiales con todas las dimensiones en escala nanométrica; por ejemplo: Puntos cuánticos (QD), nanopartículas y clusters.

Unidimensional (1-D): Una de sus características se encuentra en la escala nanométrica (diámetro), mientras que sus longitudes podrían estar en la escala nanométrica o micrométrica; por ejemplo: nanotubos, nanofibras, nanoalambres y nanorodillos.

Bidimensional (2-D): Su espesor se encuentra en promedio en el orden de nanómetros, las demás dimensiones en escala micrométrica; como ejemplo tenemos: nanocapas y nanorecubrimientos.

Tridimensional (3-D): Sus átomos, moléculas o iones forman arreglos tridimensionales los cuales ocupan posiciones específicas con ordenamiento regular bien definido y repetitivo a largo alcance; como ejemplo se cuenta con el grafito [43].

2.7 Nanocompuestos poliméricos

Estos nanocompuestos presentan la posibilidad de dispersar y mantener estables ciertas partículas a través de su matriz polimérica, lo que les permite resolver necesidades actuales que no fuera posible sin la mezcla de las propiedades de sus componentes. Existen polímeros que se pueden usar como dispersantes para formar nanocompuestos, algunos ejemplos son: Policloruro de vinilo (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), etc. Todos estos polímeros pueden dispersar NPs de Cu y formar nanocompuestos antimicrobianos. Los termoplásticos son particularmente buenos para estas aplicaciones por sus propiedades y fácil procesabilidad, así como su posible reciclado y moldeado.

Los sistemas nanofuncionalizados termoplástico-NPs Cu, tienen bastante importancia por su versatilidad de aplicaciones en artículos de limpieza, médicos, antisépticos, bactericidas, textiles, pinturas, recubrimientos [21,45].

2.8 Nanopartículas

Las propiedades y comportamientos de los nanomateriales varían en respuesta a ciertos estímulos y difieren con respecto a sus homólogos en escala macrométrica. Al presentarse en esta escala nanométrica las partículas también se ven afectadas por su relación de aspecto, tamaño de partícula, fuerzas de Van Der Waals, etc. Por otra parte, el método síntesis de nanopartículas causa diferentes efectos en las propiedades. Los métodos de síntesis reproducibles y controlados solamente han estado presentes por las últimas dos décadas. Lo cual ha permitido mejorar las propiedades de los materiales, además de potenciar la reactividad, abriendo un mundo de posibilidades para la generación de materiales avanzados [45,46,47].

Un efecto particular de importancia de las nanopartículas es conocido como el efecto de superficie [46].

2.8.1 Efecto de superficie

Está relacionado con la cantidad de átomos que están presentes en la superficie. Los átomos que están en la superficie se encuentran con menos contacto átomo-átomo en comparación que los que están en el centro del material. Las partículas con una gran cantidad de átomos en la superficie tienen un bajo número de coordinación, este a su vez está relacionado con la dispersión de los átomos en

la partícula, ya que son medidas equivalentes para medir los efectos de superficie, debido a que siguen la misma ley escalar. Los átomos de los nanomateriales presentan mayor inestabilidad que los que están en materiales de tamaño macrométrico, esa estabilidad viene de la energía requerida de los átomos para unirse unos a otros, que en el caso de las nanopartículas es menor. Esta afirmación tiene peso sobre las transiciones de fase y sobre la tensión superficial. Un menor número de átomos en la superficie de un grupo provoca menor precisión a la hora de definir las transiciones de fase. Un ejemplo sería el cambio en el punto de fusión de la partícula de oro, se ha reportado que el punto de fusión de las NPs de oro de 2.5 nm es de 656 °C y es mucho menor que el valor del punto de fusión del material a granel con 1062 °C. Otro ejemplo se presentó en las NPs bimetálicas AgCu, su punto de fusión fue de 780 °C, mientras que de Cu y Ag fue de 1084 °C y 961 °C respectivamente [48,49]. Es un efecto que tiene consecuencias en la condensación y en el calor latente de evaporación [46,50].

2.9 Estabilidad de las nanopartículas

La gran superficie de las NPs en relación a su masa, les provee de un exceso de energía libre superficial comparado con su energía de formación, en otras palabras, son inestables, por lo cual se usan compuestos estabilizadores para suspenderlas. Los estabilizadores deben superar las fuerzas atractivas que existen en las partículas producto de las fuerzas repulsivas electrostáticas y estéricas. La función de los estabilizadores es controlar la velocidad de reducción de los iones metálicos y controlar el proceso de agregación de los átomos metálicos.

Dependiendo del tipo de capa protectora, la estabilización se puede clasificar de las siguientes formas: Electrostática, estérica, electroestérica, ligantes y disolventes.

La estabilización electrostática se da a través de la adsorción de los iones en la superficie metálica electrofílica, que hacen que se repelen cuando se acercan. La carga superficial puede ser contrarrestada por los iones presentes en el medio de dispersión. Esto forma una doble capa eléctrica lo cual determina la fuerza de repulsión Coulombica entre las partículas individuales. El disolvente afecta el grado de dispersión de las nanopartículas.

La estabilización estérica consiste en rodear los centros metálicos por capas de materiales estéricamente voluminosos como polímeros y surfactantes. Estos le otorgan una barrera que previene que los centros metálicos interaccionen. Los polímeros se enlazan débilmente a la superficie de las NPs.

La estabilización por ligantes, requiere de ligantes orgánicos que, en general, portan átomos donadores como las fosfinas, aminas, alcanotioles y los tioéteres.

La estabilización electroestérica se da principalmente con el uso de surfactantes como haluros cargados negativamente, los cuales se enlazan a la superficie metálica. Las cadenas alquílicas largas generan una barrera estérica en el núcleo metálico [51-53].

2.10 Problemas de aplicación de las nanopartículas

Las posibles aplicaciones y ventajas de las nanopartículas solo se ven opacadas por su reactividad, que las vuelve complicadas de usar en algunos casos y se requiere de métodos de procesados específicos para su aplicación como: la dispersión y la deposición. La reactividad de estas es consecuencia de su tamaño, de la relación de superficie/área y de su tendencia a la aglomeración.

La aglomeración es una consecuencia de la relación superficie/área y de las fuerzas de Van der Waals de las nanopartículas. Al aglomerarse las nanopartículas ganan volumen y pierden propiedades únicas de su tamaño. Una forma para evitar este fenómeno es la dispersión de las nanopartículas en la matriz polimérica, otra solución es soportar las nanopartículas en una base generando un material compuesto. Ambos métodos ayudan a que las partículas presenten una liberación controlada a través del tiempo, evitando ciertos problemas inherentes a sus propiedades, ampliando la gama de aplicaciones y prolongando la vida de las nanopartículas en los materiales compuestos. Recubrir las nanopartículas con matrices poliméricas resulta ser muy positivo, ya que tanto en solución como en polvo la matriz les permite permanecer en tamaños pequeños por más tiempo, evitando en cierto grado la interacción partícula/partícula. [35].

2.11 Nanopartículas con efecto biocida

Estas nanopartículas ofrecen soluciones dependientes del tamaño de los materiales, son eficaces debido a la habilidad de las nanoestructuras de interactuar eficientemente con materiales biológicos debido a su gran razón de área superficial sobre volumen, morfología y tamaño, haciéndolas extremadamente reactivas. Los microorganismos generalmente no desarrollan resistencia a los metales, como es en el caso de los antibióticos por lo que las NPs son consideradas óptimos agentes antimicrobiales [54]. Las propiedades antimicrobiales de estas nanopartículas tienen su aplicación en diferentes campos de investigación como el médico, agrícola, tratamientos de aguas y procesamiento de alimentos [35,55,56].

2.12 Cobre

Las NPs de cobre (Cu) son efectivas como agentes antibacteriales, antifúngicos y antivirales. Además, han atraído la atención por sus propiedades catalíticas, térmicas, ópticas y eléctricas. También por su bajo comportamiento migratorio electroquímico, alta biodisponibilidad y relativamente bajo costo de producción. Como se mencionó anteriormente el cobre es un elemento fundamental en la dieta de algunos animales, por lo que su existencia en ciertas concentraciones es beneficiosa para estos [55]. Como precursor del cobre en el presente trabajo de investigación, se empleará el sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) una sal con propiedades antimicrobianas de bajo costo.

El cobre y sus aleaciones debido a las propiedades antifouling son bastante usadas para el diseño de equipo marino y para recubrimientos. El cobre tiene efecto tóxico sobre muchos organismos marinos, debido a que puede liberar iones cúpricos Cu(II) en presencia de agua y oxígeno. El efecto antimicrobial y la corrosión del cobre es influenciado por muchos parámetros como las propiedades del organismo, composición química del agua y concentración de los iones de cobre [36].

Las nanopartículas de Cu han sido sintetizadas a través de diferentes métodos, como síntesis de vapor metálico, métodos de radiación, técnicas hidrotérmicas, electrodeposición, técnicas de micro emulsión, método sonoquímico, descomposición térmica, reducción química, reducción radiolítica, etc. Algunos ejemplos de morfologías que puede tomar cuando se usan diferentes métodos de síntesis son: triangular, cable, prisma, etc. [14]. La síntesis de las NPs de cobre involucra estabilizadores como ligantes, polímeros y surfactantes para evitar aglomeración [55].

Estabilizar el cobre metálico es complicado, debido a que este es altamente inestable, tanto así que se puede oxidar bajo condiciones atmosféricas convirtiéndose en Cu_2O o CuO durante la preparación, por esa razón se protegen con agentes estabilizadores que cubren la superficie. La síntesis de las nanopartículas de cobre empleando matrices poliméricas tiene muchísimas ventajas comparadas con aquellas donde se usan otros agentes, dentro de los cuales se encuentran: mayor facilidad de procesado, más solubilidad, menor toxicidad y el control sobre el crecimiento de las nanopartículas [57].

Los productos derivados de cobre son los más empleados desde hace más de 100 años en las fórmulas de las pinturas antifouling. Su función es alejar las larvas de los elementos como los mejillones o percebes y evitar que crezcan alrededor del casco. También es un excelente antimicrobiano y evita así formaciones de limos y organismos vegetales que se puedan formar alrededor, sin embargo, para combatir estos últimos se necesitan cantidades más grandes de este biocida [40].

El efecto antimicrobial y antifouling del cobre es empleado desde etapas tempranas en la historia. Los aztecas lo utilizaban para tratar enfermedades aproximadamente en los 400 años A. C. en sus formas de óxidos y de carbonato. Los antiguos griegos fueron los primeros en descubrir la propiedad sanitizante del cobre, solían prescribir cobre para enfermedades pulmonares y purificar agua potable. Los fenicios lo utilizaban en los cascos de los barcos para inhibir la proliferación de microorganismos en los cascos de sus barcos, para evitar pérdidas de velocidad y maniobrabilidad. Se le dio aplicación durante la segunda guerra mundial previniendo disentería al agregarse piezas en botellas de agua. Los viajes para las misiones Apolo utilizaron un sistema de ionización de cobre-plata para esterilizar agua. Actualmente dentro de sus usos potenciales están las fibras impregnadas de cobre para evitar úlceras en los pies, al fabricar calcetines que pueden reducir el riesgo de infecciones (útil en el particular caso de padecimiento de diabetes) funcionando, así como antiséptico [58].

En la agricultura, la práctica de usar sulfato de cobre sobre los suelos de cultivo es una técnica que data de más de 250 años y es tan efectiva que sigue siendo útil hasta nuestros días para proteger las semillas contra hongos. Muchas algas presentan susceptibilidad alta a las sales de cobre, permitiendo a los expertos prevenir el crecimiento de algas en contenedores de aguas: estanques de crianza, lagos, ríos, piscinas, etc. El sulfato de cobre en ciertas cantidades tiende a reaccionar en soluciones acuosas para generar ácido sulfúrico el cual es corrosivo, aun así, se sigue usando por su bajo costo y facilidad de aplicación. También es usado para inhibir el deterioro por insectos en madera y tela, haciendo el material desagradable para el animal destructor. Detiene la formación de moho en techos y paredes [58].

La actividad sobre los microorganismos es función de su concentración actuando como un agente bacteriostático en concentraciones entre 25 y 150 μM o bactericida en concentraciones superiores a esta [35,59].

Las NPs de cobre han tenido usos más específicos como: Ánodo activo en celdas de combustible sólidas, potenciador de conductividad térmica en sólidos y fluidos, potenciador de actividad catalítica y selectividad en reacciones de deshidratación e hidratación, hidrogenación en síntesis [60,61].

2.13 Selenio

El selenio es uno de los elementos esenciales en la nutrición de humanos y animales asociado a la salud de la población, este se encuentra en trazas dentro del cuerpo, es precisamente esencial por su actividad anti oxidativa, protege las células del peróxido de hidrógeno, superóxidos, hidro peróxidos orgánicos,

radicales hidroxilos, en general, daño infligido por las ROS (o las especies que reaccionan tóxicamente al oxígeno), desintoxicación de metales pesados, portador de suministro de fármacos contra el cáncer, regula los sistemas inmune y reproductivo, refuerza la resistencia a ciertas bacterias y tiene gran importancia en medicina, es uno de los materiales que pueden ser clasificados como biocompatible [10]. El selenio es un material necesario para la síntesis de amino ácidos esenciales, la presencia de este en las proteínas mejora el funcionamiento de la glándula tiroides [62]. El selenio es una parte importante del ciclo catalítico de al menos 25 selenoproteínas y enzimas presentes en el cuerpo y tiene el rol de proteger las células del daño oxidativo [19].

El selenio elemental es alotrópico y existe en 3 diferentes formas, la primera es un selenio amorfo, caracterizado por tener un color rojo, la segunda es el cristal trigonal teniendo cadenas helicoidales, el cual es gris y el tercero es el cristal monocíclico. El selenio trigonal es conocido como un fotoconductor con una amplia sensibilidad espectral lo cual hace al selenio un buen material para fabricar fotoceldas y medidores de exposición para aplicación en la fotografía [15]. Una ingesta baja de selenio aumenta el riesgo de mortalidad, función inmunológica deficiente y deterioro cognitivo. El selenio puede penetrar células bacterianas, catalizar la oxidación de los tioles intracelulares y generar oxígeno en estado el singulete, que provoca la muerte de las bacterias. El efecto del selenio junto con más elementos metálicos para inhibir el crecimiento de las bacterias es algo que necesita ser más estudiado [63].

Las nanopartículas de selenio están atrayendo la atención por su excelente actividad biológica y baja toxicidad [64]. La solubilidad y movilidad de este elemento depende en gran medida de sus diferentes estados de oxidación, el selenio elemental (en estado de oxidación cero) es básicamente insoluble y menos disponible biológicamente [15,64,65,66].

La aplicación de las nanopartículas de selenio en el área de la salud se ha visto limitada debido a la pobre estabilidad que poseen y su potencial para proteger en contra estrés oxidativo inducido por alcohol no ha sido investigado según reportes [63].

Las NPs de selenio presentan un efecto inhibitorio sobre los hongos que puede ser descrito de la siguiente manera: Los iones de las NPs de selenio están cargados positivamente y se ven atraídos electrostáticamente a la pared de oligosacáridos cargada negativamente de los hongos. Entre mayor sea la cantidad de nanopartículas utilizadas, la superficie de la pared celular se dañará de una manera más grave, permitiendo su difusión a través de la célula [62].

Las aplicaciones de las NPs de selenio están limitadas por algunos hechos tales como: La mejora de las técnicas de síntesis, ya que se requiere de métodos económicos y amistosos con el medio ambiente para producirlas; debido a que se aglomeran y se transforman en su forma gris que es termodinámicamente estable

pero inerte biológicamente. Por tal razón, en la actualidad se combinan con ciertos compuestos como polisacáridos, monosacáridos, proteínas, amino ácidos, polifenoles, melatonina, extracto de plantas, ciertos microorganismos, etc., con el objetivo de mejorar la estabilidad permitiendo que las NPs se conserven tamaños más pequeños y garantizar bioactividad. Los polisacáridos son apropiados medios para sintetizar y estabilizar las NPs de selenio, esto debido a su eficiencia y su amigabilidad con el medio ambiente. Aun así, estos no generan la estabilidad que se desea para la aplicación en campos más precisos, ya que el selenio preservado en ambientes acuosos tiende a aglomerarse, aumentar de tamaño y reducir su potencial zeta, por lo que encontrar más compuestos para estabilizarlo es una necesidad [67].

Un parámetro a tener en cuenta con las NPs de selenio es la temperatura, ya que afecta el tamaño, la forma y la biodisponibilidad de estas. Las NPs de selenio expuestas a una temperatura mayor de 31 °C [15], son inestables y aumentan su tamaño, así que las aplicaciones por arriba de esta temperatura son limitadas. Presentan una aglomeración rápida, al ser aplicadas a temperaturas mayores de 55 °C cambian su tamaño y forma generalmente cristalizan en forma de agujas [68].

Existen métodos para la producción de las nanopartículas de selenio usando una variedad de diferentes precursores, agentes reductores y estabilizadores, cada variación de estos componentes influye en el tamaño de las nanopartículas resultantes [15].

Las nanopartículas de selenio antes y después de ser funcionalizadas con polímeros son eficaces contra bacterias, como la *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y en hongos como la *Candida albicans*. Guisbiers *et al.* observaron un efecto de hasta el 50% de inhibición en el número de colonias de *E. coli* y en *S. aureus* usando una solución de 50 ppm de concentración de las NPs de selenio [69]. Por otra parte, en el trabajo realizado por Luke, *et al.* se menciona una inhibición que depende de la dosis aplicada en el crecimiento de las bacterias reduciendo hasta el 50% de las colonias en 8 horas con una concentración de 1 ppm para *P. aureginosa* y de 5 ppm para *S. epidermitis*, mientras que para una reducción total del microorganismo a las 8 horas de iniciar la prueba se necesitaron con 20 ppm para *P. aureginosa* y 25 ppm para *S. epidermitis* [70].

2.14 Seleniuro de cobre

Actualmente las nanopartículas de seleniuro de cobre son de particular interés, esto se debe a que presentan propiedades útiles para el campo tecnológico, debido a sus características de semiconductor, algo presente en los seleniuros metálicos. Algunas de las aplicaciones principales que se les ha dado en los últimos

años son: filtros ópticos, células solares, fotocatalizadores y sensores de gases, entre otros.

El seleniuro de cobre es un material de interés debido a que es un semiconductor lo que lo hace de particular interés para su aplicación en celdas solares. Sin embargo, la síntesis para nanopartículas de esta naturaleza resulta compleja, debido a que la molécula presenta diferentes composiciones estequiométricas y no estereoquímicas, además de presentar diferentes clases cristalinas como la: monoclinica, cúbica, hexagonal, ortorrómbica y tetragonal. Hasta ahora no existen estudios que comprueben si esta molécula presenta propiedades antimicrobianas, por lo cual este trabajo tiene como uno de sus objetivos específicos demostrar que son útiles como agentes antimicrobianos [71,72].

2.15 Goma arábica

La goma arábica es un polisacárido complejo de naturaleza neutra o ligeramente ácida que en algunos casos presenta sales minerales de Na, K, Ca, Mg y algunos iones metálicos como lo son el Cu, Pb, Fe y Zn. Esta goma se obtiene de los troncos y ramas de árboles de la familia de las Acacias (Senegal y Seyal) que se encuentran principalmente en regiones áridas de la franja sub-sahariana y más allá de Pakistán y la India. Su aplicación data desde antes de los 5000 A. de C, siendo componente de pinturas, tintas, adhesivos, etc. En la actualidad se utiliza en nanociencia, medicina, pigmentos, y alimentos. Su composición varía dependiendo de múltiples factores difíciles de definir debido a su naturaleza de producción orgánica. La goma arábica presenta excelentes propiedades como: estabilizante, emulsificante, saborizante, espesante, además de presentar alta solubilidad en soluciones acuosas y retardar la cristalización de azúcares. Tales cualidades la convierten en un aditivo interesante para la fabricación de productos en empresas de alimentos y no alimentos.

Según se ha reportado está compuesta principalmente por galactosa, arabinosa, ramnosa, ácido glucurónico y en menor porcentaje por proteínas, nitrógeno y humedad. Su cadena principal está compuesta por unidades de enlace 1,3 β -D galactopiranosil. Las cadenas laterales están compuestas por dos o cinco unidades de enlace 1,3 β -D galactopiranosil, unidas a la cadena principal por enlaces 1,6. Ambas cadenas (principal y lateral) contienen unidades de α -L-arabinofuranosil, α -L-ramnopiranosil, β -D-glucoronopiranosil y 4-O-metil- β -D-glucoropiranosil, las últimas dos principalmente como unidades terminales. En el anexo 11.1 se muestra una posible estructura química para la goma arábica.

Su alta solubilidad en agua podría ser atribuida a los componentes de hidratos de carbono de la goma arábica y a su estructura química altamente ramificada y heterogénea. Las unidades de azúcar que contiene la goma arábica pueden generar puentes de hidrógeno con el agua debido a sus grupos hidroxilos asociados con ácidos irónicos. Además, su componente polipéptido interactúa con el agua debido a que contiene un número considerable de aminoácidos hidrofílicos.

Por otro lado, la propiedad de protección que presenta la goma arábica con compuestos orgánicos e inorgánicos en soluciones acuosas podría deberse a algún fenómeno de agregación o de coacervación, el cual depende de múltiples factores dentro de los cuales el pH del medio representa un factor bastante importante para la generación de los microencapsulados, mientras que la de estabilización se ve favorecida por las interacciones estéricas y electrostáticas y la fuerza de hidratación [73].

2.16 Métodos de síntesis de nanopartículas

Los avances en la investigación de las NPs han permitido estabilizar los parámetros estructurales y ambientales que favorecen la síntesis de estas, esto conduce a la obtención de NPs con propiedades especiales para una determinada aplicación. El control de las condiciones de reacción permite seleccionar el tipo de morfología de NPs que se obtendrá. El control de la estabilización de estas reacciones nos da control de tamaño y geometría lo que en consecuencia proporciona el control sobre las propiedades del mismo en función del tiempo [74].

Dentro de las metodologías para sintetizar nanopartículas se pueden encontrar dos clasificaciones en las que podemos englobar todas las técnicas: El método descendente y el método ascendente.

2.16.1 Método descendente

Esta metodología consiste en dividir porciones sólidas másicas en porciones más pequeñas. En este tipo de métodos se utilizan procesos mecánicos como la molienda o el desgaste e incidiendo un láser sobre la superficie del material. Son métodos que pueden ser químicos o físicos, de volatilización seguida por una condensación de los componentes en cuestión [74]. El método descendente permite múltiples resultados, es bastante versátil, complejo y no es económico, permite producir sistemas en 2D y 3D por medio de la fabricación de capa a capa. Algunos ejemplos representativos de este método son los siguientes:

2.16.1.1 Litografía holográfica

Es una polimerización generada por la absorción de fotones en una resina fotosensible que es desgastada por un láser, se extraen estructuras por disolución de la parte expuesta.

2.16.1.2 Nanolitografía óptica

Se deposita un material secundario en la superficie erosionada de un material delimitado por un patrón generado por la remoción de resistencias en ciertas zonas de ciertas resinas que reaccionan ante la luz.

2.16.1.3 Evaporación térmica

Consiste en la deposición de una capa de vapor condensado generado en una cámara de vacío que es aplicado en una lámina fría de un material que se pretende utilizar calentado hasta su evaporación. Es importante tener control sobre el proceso o este podría resultar con una morfología no deseada.

2.16.1.4 Deposito químico en fase vapor

Consiste en descomponer compuestos volátiles, en el interior de una cámara de vacío en o cerca de la superficie de un sólido para generar un material en forma de capa delgada o nanopartículas en la superficie.

2.16.1.5 Clústeres gaseosos

Consiste en usar un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos, que posteriormente serán acarreados por un gas inerte, para después ser depositados en un sustrato, bajo condiciones de alto vacío.

2.16.1.6 Implantación de iones

Se implantan iones de un material en un sólido, el material implantado podría ser de un elemento distinto al que es modificado. Se podrían generar cambios estructurales en el material implantado, está de más mencionar que esto podría tener cambios significativos en las propiedades físicas y químicas. La estructura cristalina del objetivo puede ser dañada [74].

2.16.2 Método ascendente

De las dos metodologías es el más elegido para la síntesis de las nanopartículas. El método consiste en producir nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Se refiere a construir estructuras desde sus partes más pequeñas átomo por átomo o molécula por molécula. Es un tipo de metodología que permite un control sobre las nanopartículas, con este método se puede sintetizar cierto tamaño y forma permitiendo una uniformidad lo que reduce problemas en los productos como impurezas y productos no deseados. Los métodos más usados contemplan en su mayoría procesos químicos. Los ejemplos más representativos son:

2.16.2.1 Reducción química

Consiste en disolver una sal precursora y un agente reductor en una fase continua o dispersante. El tamaño y la morfología de las nanopartículas pueden ser controlados variando la concentración de los reactivos y de la naturaleza del medio dispersante. Dentro de sus ventajas están el hecho de ser simple y reproducible, las nanopartículas presentan cierta homogeneidad, permite producir nanopartículas a gran escala y conservar una distribución de diámetro baja, se controla con relativa

facilidad, además las nanopartículas son estables por bastante tiempo y pueden prepararse nanopartículas mono y multimetálicas. En muchos casos se agregan agentes protectores a la superficie de las nanopartículas, disminuyendo su energía libre superficial y con ello su reactividad, esto ayuda a controlar su forma y la velocidad de crecimiento, limitando la agregación [51,74]. Elegir un apropiado agente reductor es un factor primordial, ya que el tamaño, la forma y la distribución de tamaño de las NPs están fuertemente influenciados por este, debido a que dependen de su naturaleza. La elección del surfactante es de igual importancia, ya que determinará la estabilidad, solubilidad, reactividad, dispersabilidad e incluso el tamaño y forma de las nanopartículas [75].

2.16.2.2 Reducción fotoquímica y radioquímica

Aquí se generan agentes reductores fuertes y altamente activos como electrones, radicales y especies excitadas. La fotoquímica está caracterizada por energías por debajo de 60 eV, mientras que la radiolisis utiliza energías de entre 103 y 104 eV. Los métodos de reducción fotoquímica y radioquímica tienen ventajas como la ausencia de agentes contaminantes generados de los reductores químicos utilizados, produciendo nanopartículas altamente puras, además permiten la producción de nanopartículas en sólido y a bajas temperaturas. Las nanopartículas se obtienen a partir de sales en agua, alcohol o disolventes orgánicos.

2.16.2.3 Irradiación con microondas

Mediante esta técnica se produce baja variación en el rango de tamaños de las nanopartículas, aunque presenta problemas de control de la morfología. Las microondas actúan como campos eléctricos de alta frecuencia, capaces de calentar cualquier material conteniendo cargas eléctricas, los disolventes polares se calientan y sus componentes moleculares se ven obligados a girar con el campo y pierden energía en colisiones. Se utiliza como alternativa para sintetizar nanopartículas debido a su rapidez, uniformidad y efectividad.

2.16.2.4 Utilización de dendrímeros

La síntesis se puede llevar a cabo usando emulsiones y dendrímeros como nano reactores que permiten la síntesis de nanopartículas de dimensiones y morfologías definidas. Esto debido a la naturaleza de los dendrímeros a poder ser modificados. Los dendrímeros son moléculas altamente ramificadas con un núcleo, unidades intermediarias repetitivas y grupos funcionales terminales [74].

2.17 Efecto de la nucleación y crecimiento

La formación de las nanopartículas en solución coloidal procede a partir de una sobresaturación homogénea en una solución seguida por la adición molecular de las partículas, esto es lo que explica el modelo de La Mer.

La energía necesaria para la nucleación solo puede sobrepasarse en soluciones sobresaturadas, donde se tienen mayores probabilidades de existencia de colisiones moleculares, suficientes para que la adición molecular sea alta. El modelo de La Mer se da en 3 etapas: Prenucleación, nucleación y crecimiento [75,76]. En la primera etapa la concentración del metal en la solución aumenta y esta llega a saturarse, en otras palabras, se llega a la solubilidad de equilibrio entre las dos fases; en la segunda etapa la concentración del metal alcanza un valor mayor sobre el valor crítico de equilibrio y empiezan a generarse núcleos y en la tercera etapa la concentración del metal desciende por debajo del nivel crítico de saturación y la nucleación se ve interrumpida, al mismo tiempo se precede a un crecimiento en las partículas hasta que la concentración del metal es igual a la del equilibrio. La nucleación y el crecimiento se encuentran en dos etapas diferentes en la síntesis de las nanopartículas de tamaños uniformes.

2.18 Mecanismos de acción antimicrobiana de los metales

Los principales procesos o funciones que son responsables del crecimiento bacteriano son: síntesis de la pared celular, función de la membrana celular, síntesis de proteínas, síntesis de ácidos nucleicos, etc. Por lo tanto, esos son puntos de interés de los cuales los agentes antimicrobianos pueden tomar parte para evitar la proliferación de microorganismos [77].

La pared celular de las bacterias se caracteriza por la presencia de una cadena principal de polisacáridos, llamada peptidoglicano, esta termina siendo una estructura de supervivencia en las bacterias. Una de las funciones principales de

los agentes antimicrobianos es la inhibición de enzimas responsables del peptidoglicano, afectando mayormente a las bacterias Gram-negativas, debido a su diferencia estructural comparada con la de la una bacteria Gram-positiva, efecto de su membrana externa [78]. La toxicidad se genera cuando la estructura que conforma los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos cambia o se daña.

El sitio inicial de ataque del cobre en el microorganismo es en la membrana plasmática [58]. En bacterias, hongos y levadura, las altas concentraciones de cobre pueden dañar la integridad de la membrana citoplasmática. En organismos más grandes, efectos similares se presentan debido a la naturaleza óxido reductiva del cobre y su capacidad de generar radicales que promueven la peroxidación de los lípidos de la membrana, esto daña funciones esenciales como el transporte de proteínas, fagocitosis, permeabilidad de iones, funciones metabólicas, etc., conduciendo a la muerte celular [77,78,79].

Existe evidencia que el ion Cu(II) tiene una afinidad por el ADN, la unión específica del cobre al ADN esta relacionada con la degradación del ácido nucleico, la cual involucra reacciones de óxido reducción generando radicales OH en estos sitios específicos, causando mucho daño a los ácidos nucleicos. La producción de especies oxigenadas reactivas, como superóxidos, peróxido de hidrógeno y ácido hipocloroso, así como unión la de antibióticos, que han mostrado actividad antibacteriana efectiva con la transición de iones metálicos a especies oxigenadas reactivas [58,80,81].

A diferencia de las bacterias, el mecanismo en el que los iones de cobre afectan a las algas y los hongos no está bien estudiado, se sugiere que los iones forman uniones electrostáticas con las paredes celulares de los microorganismos, estresándolos y distorsionando las paredes celulares incrementando la permeabilidad, una vez a dentro de la célula del alga, el cobre podría atacar los grupos azufrados en los aminoácidos presentes utilizados para la fotosíntesis, bloqueándola generando muerte celular [58,79].

2.19 Mecanismos de defensa de los microorganismos

Los mecanismos incluyen, pero no se limitan a: Exclusión por barrera permeable, secuestro intra y extra celular por medio de envolturas celulares, bombas de evacuación de membrana de transporte activo, desintoxicación enzimática y reducción en la sensibilidad de los objetivos celulares a iones metálicos. Algunos de los materiales tóxicos también son nutrientes, para la bacteria deben de estar en niveles estables en donde el microorganismo puede cumplir sus funciones motoras básicas. En el caso de los metales que no tienen función biológica, los

microorganismos pueden resistir la presencia de los iones metálicos tóxicos [58,82,83,84,85].

3. JUSTIFICACIÓN.

El desarrollo e investigación de recubrimientos marinos nanoestructurados antifouling base agua y de bajo impacto ambiental, representa una sólida solución en contra de la bioincrustación generada por los microorganismos presentes en el agua de mar. Su aplicación permitirá la reducción de costos de mantenimiento de las superficies expuestas a estos ambientes marinos, convirtiéndose en un método preventivo bastante efectivo, el cual tendrá repercusiones en los sectores que involucran actividades del mar tales como: acuicultura, transporte, energías marinas (turbinas), etc.

Debido a que el biofouling es un problema que afecta la industria marina, así como a la flora y fauna marina; actualmente, una gran cantidad de recubrimientos antifouling comerciales son fabricados con porcentajes en peso altos (35 hasta el 65%) de aditivos tal como el CuO micrométrico, el cual es un material tóxico que debe ser remplazado por versiones más amigables con el medio ambiente o materiales con un efecto antimicrobial similar. Una estrategia alterna es la incorporación de cobre metálico (Cu^0) en este tipo de recubrimientos, ya que es un material que no tiene restricciones ambientales y de ser empleado en cantidades menores al CuO podría resolver el problema de biofouling marino sin dañar el medio ambiente. No obstante, para poder usarse en bajas concentraciones es necesario combinarlo con otro elemento antimicrobial de baja toxicidad, para lo que se propone el uso del selenio (Se) como segundo elemento, este elemento presenta propiedades antimicrobianas menores pero similares al cobre en su forma nanométrica. En la propuesta de este proyecto de investigación se plantea primeramente la síntesis de una mezcla de nanopartículas de Cu/Se empleando métodos de síntesis que no utilicen disolventes orgánicos que dañen el medio ambiente, por medio de una novedosa ruta de síntesis.

Algunos beneficios que se lograrían al obtener estos tipos de recubrimientos son: Ahorro de combustible en buques con superficies limpias, reducción en la formación de corrosión, tiempo de mantenimiento prolongado y tiempo de vida media más largo de todos los materiales que estén en contacto con agua del océano, así como la protección de la flora y fauna marinas. Desde un punto de vista académico y tecnológico, se considera que la propuesta contempla principios fundamentales para un ciclo de vida favorable, desde la síntesis de las nanopartículas hasta el uso final del recubrimiento.

4. HIPÓTESIS.

Las nanopartículas de Cu y de Se han demostrado contar con buenas propiedades antimicrobianas, se espera que nanopartículas de CuSe recubiertas superficialmente con goma arábica (GA), presenten un efecto antimicrobiano similar al que poseen dichos elementos por separado. Además, se espera que al mezclar nanopartículas de CuSe-GA con una resina acrílica, las propiedades antimicrobianas se conserven, permitiendo fabricar recubrimientos con estas características y que permitan una liberación controlada.

5. OBJETIVO GENERAL.

Sintetizar y caracterizar un nuevo tipo de recubrimientos antimicrobiano de bajo impacto ambiental, compuesto de nanopartículas metálicas de cobre (Cu) y nanopartículas de selenio (Se). Estudiar su actividad antimicrobiana frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y el hongo *Candida Albicans*.

5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estudiar la síntesis de nanopartículas de CuSe funcionalizadas *in situ*, con tamaños menores de 100 nm, empleando agua como disolvente, goma arábica como ligante estabilizador e hidrazina como agente reductor.
- b) Caracterizar la resina comercial RHOPLEX AC-261 por las técnicas de FTIR y RMN ¹H.
- c) Estudiar la estructura y morfología de las nanopartículas de CuSe.
- d) Caracterizar la actividad antimicrobiana (AA) y el comportamiento térmico (TGA y DSC) de las NPs CuSe.
- e) Estudiar el efecto antimicrobiano de la formulación de los recubrimientos de acrilato con cinco diferentes porcentajes en peso (0.5%, 1%, 1.5%, 2% y 3%) de NPs de Cu/Se.
- f) Caracterizar la morfología de las NPs de CuSe en solución (microscopía electrónica de transmisión) y la morfología de las NPs en los recubrimientos antimicrobianos con NPs de CuSe, depositados sobre sustratos de acero inoxidable AISI 304 (microscopía electrónica de barrido).
- g) Estudiar la liberación de iones y actividad antimicrobiana de los recubrimientos con NPs de CuSe, depositados sobre sustratos de acero inoxidable AISI 304.

6. CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA.

Las investigaciones sobre la fabricación de recubrimientos antifouling han sido ampliamente reportadas, sin embargo, los estudios con nanopartículas de Se o combinadas con otros elementos son escasos y es en este punto donde se concentra mayormente la contribución científica de este trabajo, sintetizar soluciones coloidales de nanopartículas de selenio es complicado, debido a que presentan múltiples estructuras cristalinas y tienden a la aglomeración. Además de que el selenio presenta una tendencia de transformación de fase a temperaturas relativamente bajas (entre 30 y 130 °C), cambiando su forma y tamaño, algunos estudios demuestran que la síntesis en presencia de ligantes orgánicos disminuye esta tendencia. En la presente propuesta, se considera que estudiar la incorporación de cobre/selenio en recubrimientos antifouling, puede ser muy interesante debido a que el selenio presenta toxicidad baja y alta biodisponibilidad. Además, la síntesis de nanopartículas se pretende realizar en presencia de ligantes orgánicos amigables con el medio ambiente como la goma arábiga, para evitar la transformación de fase del selenio y la aglomeración de ambas NPs, así como favorecer su dispersión en resinas acrílicas base agua.

En resumen, se considera que la resina acrílica base agua, formulada con nanopartículas metálicas de baja toxicidad de Cu/Se y funcionalizadas con goma arábiga, conducirá a la creación de nuevos recubrimientos poliméricos antifouling con altas propiedades antimicrobianas de bajo impacto ambiental, La aplicación en sustratos de acero inoxidable puede impulsar diferentes áreas en el sector marítimo, por ejemplo en la protección de dispositivos para el aprovechamiento de energías oceánicas, que es una área en auge y de desarrollo prioritario a nivel mundial.

7. METODOLOGÍA

7.1 Reactivos

Para la síntesis de nanopartículas de cobre/selenio y la preparación de los sustratos para analizar su efecto antimicrobiano se emplearon:

- 1) Como precursor para las nanopartículas de selenio, se usó ácido selenoso de la compañía Sigma-Aldrich, de fórmula H_2SeO_3 .
- 2) Como precursor de nanopartículas de cobre se utilizó sulfato de cobre pentahidratado de fórmula química $CuSO_4 \cdot 5H_2O$.
- 3) Como agente ligante se utilizó goma arábica de la compañía Jamek.
- 4) Como agente reductor se usó hidracina de grado reactivo al 50-60%, de la marca Sigma-Aldrich y de fórmula N_2H_4 .
- 5) El medio de reacción fue empleando agua destilada.
- 6) Para el recubrimiento antimicrobiano se utilizó una pintura acrílica de la marca KEM TRADE, modelo RHOPLEX AC-261, lote A051KAO017.

Las especificaciones de la resina acrílica se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Tabla de las principales propiedades de la resina RHOPLEX AC-261 de la marca KEM TRADE

Propiedad	Valor promedio
Densidad (g/mL)	1.06
% en peso de sólidos	50
pH	9.5
Viscosidad (cps)	< 300
Temperatura mínima de formación de película (°C)	16
Estabilización	Aniónica
Apariencia	Blanca lechosa (Emulsión)
Precauciones de almacenaje	Proteger de congelamiento

7.2 Síntesis de nanopartículas de CuSe

7.2.1 Reducción química húmeda

La síntesis de las nanopartículas de CuSe se realizó por el método de reducción química húmeda, mediante el empleo de dos precursores (H_2SeO_3 y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), agente estabilizante (Goma arábica), agente reductor (hidracina) y un medio de reacción inocuo con el medio ambiente que les permitiera estar suspendidas (Agua).

Para la síntesis se tomaron las siguientes consideraciones:

1. Usar una relación de 2 mg de goma arábica por mL de solución con el objetivo de estabilizar y evitar la oxidación de las nanopartículas de CuSe.
2. Las cantidades de los reactivos en la reacción fueron seleccionadas para obtener al final una relación molar de 1:1 (Cu:Se) de NPs.

En un reactor de vidrio de dos litros se agregaron 1.25 L de agua destilada, 3 g de goma arábica y se mezcló mecánicamente a 200 rpm por 15 minutos hasta que la goma se disolvió totalmente. A la mezcla se le agregaron 5.2 g de H_2SeO_3 y se aumentó la velocidad de agitación a 330 rpm para obtener una mejor homogenización. La reacción se dejó agitando por aproximadamente 50 minutos a temperatura ambiente para asegurar la disolución.

Después de cumplir el tiempo, una solución de 250 mL de agua con 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se agregó al reactor de reacción, la mezcla de reacción se torna azul con la adición de la sal y finalmente presentó turbidez. Después de adicionar la solución de cobre, se cerró el reactor y se realizaron tres ciclos de vacío-argón para generar una atmósfera inerte y evitar la oxidación de las nanopartículas. Posteriormente, se aumentó la velocidad del agitador a 400 rpm y se agregaron 9 mL de hidrazina gota a gota. La mezcla de reacción cambia de color azul claro a café oscuro con tonos naranjas en los bordes de la superficie. La solución permaneció en agitación por más de 60 minutos para asegurarse de una conversión completa, tornándose la solución final en color negro. La separación de las nanopartículas del medio coloidal se realizó a una hora, dos días y 10 días después del término de la reacción. Se observó que la mezcla de reacción adquirió un color verde pálido a medida que se incrementó el tiempo de separación de las NPs.

7.3 Separación de las nanopartículas del medio coloidal

Para la recuperación de las nanopartículas se utilizó la técnica de centrifugación y se realizó un lavado a las NPs para remover las impurezas. El proceso se describe de la siguiente manera:

La separación y purificación de las muestras se realizó después de una hora, dos días y diez días de haber terminado la reacción, el objetivo fue analizar muestras con diferente tiempo de almacenamiento en la solución acuosa de la reacción. Después de este tiempo, se tomaron muestras de 60 mL del reactor de vidrio y fueron colocadas en viales de 80 mL de polipropileno (PP) de la marca Beckman Coulter. Las muestras se introdujeron en el equipo de centrifugación de la marca Thermo scientific modelo Sorvall st16R, las condiciones de operación fueron: Temperatura de proceso de 0 °C y velocidad de giro 8500 rpm. Después del centrifugado se obtuvo un precipitado en el fondo del tubo, separado de una solución acuosa transparente, se decantó la solución acuosa y se dejó el sólido negro que contenía las NPs CuSe. A continuación, se realizó un lavado del sólido con etanol, nuevamente se centrifugó a las mismas condiciones, finalmente se separó el etanol de los tubos de PP que contienen las NPs se secaron en una estufa de vacío a 60 °C durante 1 hora.

Las partículas resultantes fueron retiradas de las paredes del tubo de PP y molidas para ser posteriormente pesadas y almacenadas. Este proceso se repitió varias veces hasta lograr obtener cantidades de NPs suficientes para realizar el estudio de la aplicación propuesta.

7.4 Preparación de los sustratos de acero inoxidable

Para la preparación por deposición de los recubrimientos nanoestructurados se utilizaron 3 tamaños diferentes de sustratos de acero inoxidable AISI 304 (50x50x1mm, 25x25x1mm y 10x10x1mm). Estos sustratos se trataron primeramente con la finalidad de eliminar óxidos, deformaciones y defectos mediante devastado superficial siguiendo la norma ASTM-G5. Primeramente, se emplearon papeles abrasivos de los siguientes tamaños de grano: 280, 400, 600, 800 y 1000. Se utilizaron de mayor tamaño de grano a menor, asegurando un acabado espejo, necesario para la correcta adhesión de los recubrimientos nanoestructurados, se devastaron ambas caras y las esquinas de los sustratos. El proceso se llevó a cabo en húmedo, utilizando agua desionizada para lograr el acabado, una vez conseguido el acabado espejo las muestras se lavaron con agua desionizada y se colocaron en una solución de NaOH al 10% por 7 minutos, para retirar grasas y contaminantes que se encontraban en su superficie que podrían de alguna forma evitar que la resina del recubrimiento se adhiriera correctamente. Se lavaron primeramente con abundante agua desionizada y finalmente con etanol, y posteriormente se dejaron secar al aire. Los sustratos tratados se usaron en menos de 24 horas después de ser secados, con la finalidad de evitar la formación de óxidos.

7.5 Formulación del recubrimiento

Para este paso se utilizaron las NPs en polvo que fueron separadas por medio de centrifugación una hora después del término de la síntesis. Se realizaron los cálculos para obtener recubrimientos con 3%, 2%, 1.5%, 1% y 0.5% en peso de NPs, considerando como máximo 20% de agua en volumen en la formulación, con el objetivo de evitar la separación de fases y conservar la estabilidad de las NPs dentro de la resina acrílica.

Se planeó la preparación de las formulaciones en dos pasos: El primero consistió en suspender las nanopartículas en agua, debido a la naturaleza de las nanopartículas este paso requirió del uso de un equipo de ultrasonido, las condiciones fueron establecidas a 70 kHz por un tiempo de 15 minutos, la solución se dejó enfriar por unos minutos monitoreando la dispersión de las nanopartículas en el medio. El segundo paso consistió en agregar la solución a temperatura ambiente a la resina para formar el recubrimiento nanoestructurado, este requirió de mezclarlo en un reactor de marca Parr modelo 4842 a 400 rpm durante 10 minutos para asegurar un mezclado correcto.

7.6 Aplicación de los recubrimientos nanoestructurados

La aplicación de los recubrimientos nanoestructurados sobre los sustratos de acero inoxidable se realizó por medio de una técnica de arrastre usando una varilla gruesa y de espesor móvil para distribuir la resina de una manera uniforme. Se utilizó una base de acero inoxidable para mantener fijo el sustrato y se aplicó cierta cantidad del recubrimiento nanoestructurado en la superficie (1-2 mL), inmediatamente, se arrastró la varilla verticalmente sobre el sustrato asegurando una distribución uniforme del recubrimiento, en la Figura 4 se ilustra el equipo empleado.

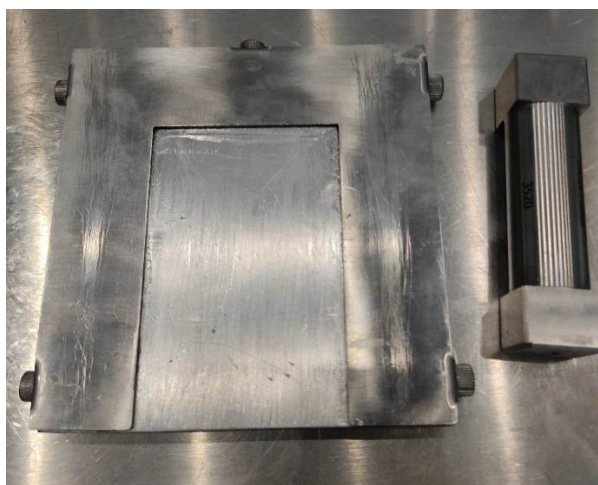


Figura 4: Equipo de arrastre con varilla de espesor modificable.

Los recubrimientos se secaron entre 15-30 minutos a temperatura ambiente para evitar la formación de burbujas al momento de realizar el curado térmico. El tratamiento térmico se realizó en una estufa convencional, primeramente, se sometieron a 80 °C por 2 horas, posteriormente a 120 °C y 140 °C por 15 y 10 minutos respectivamente.

7.7 Preparación de muestras para pruebas antimicrobianas

Para las pruebas antimicrobianas se prepararon sustratos de acero inoxidable de 25x25x1mm bajo las mismas condiciones que fueron expresadas en el apartado 7.5. Se prepararon por triplicado 5 tipos de muestras con concentraciones de NPs CuSe (0.5%, 1%, 1.5%, 2% y 3% peso) y un blanco que fue la resina acrílica comercial. Los sustratos recubiertos se curaron térmicamente de la misma manera que se describe en el apartado 6.7.

7.8 Preparación de muestras para prueba de liberación de iones

Para la liberación de iones, los sustratos se prepararon de manera similar a los descritos anteriormente, se prepararon 5 sustratos recubiertos, con una formulación que contiene 2% en peso de NPs CuSe. Cada sustrato fue colocado en un frasco con 20 mL de agua destilada y fueron sellados. Se les asignó una cantidad de tiempo de exposición determinado para cada muestra de 5, 10, 20, 40 y 80 días. En la Tabla 3 se ilustran la serie de muestras analizadas.

Tabla 3: Formulación de los recubrimientos aplicados en los sustratos metálicos para pruebas de liberación de iones

Muestra	Concentración (% peso)	Tiempo de exposición
1	2%	5 días
2	2%	10 días
3	2%	20 días
4	2%	40 días
5	2%	80 días

8. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

8.1 Espectroscopia ultravioleta-Visible (UV-Vis)

El análisis de absorbancia de las nanopartículas se llevó a cabo en un espectrofotómetro de la marca THERMO SCIENTIFIC de modelo GENESYS 10S UV-Vis. El intervalo de medición fue programado cada 1 nm y rango de prueba de longitud de onda de 200 a 800 nm. La prueba se utilizó para confirmar la presencia del Cu⁰ y Se⁰ y para identificar óxidos de cobre. Para el análisis se tomó una alícuota de la solución resultante de la reacción de síntesis de NPs (sin separar las nanopartículas), después de 1 h de terminar la síntesis.

8.2 Difracción de rayos X

Las nanopartículas de CuSe fueron analizadas por difracción de rayos X (DRX) en polvo. Las muestras analizadas fueron las separadas del medio de reacción después de una hora, dos días y diez días. La finalidad de este estudio fue identificar las NPs CuSe y conocer la posible oxidación de las NPs Cu después de permanecer en solución acuosa en condiciones ambientales. El análisis de rayos X se llevó a cabo en un difractómetro eco D8 Advanced de la marca Bruker. El equipo utilizó una radiación de CuK α ($\lambda=0.154$ nm) de 25 mA y 35 kV. La técnica de DRX también se utilizó para determinar el tamaño de cristal promedio.

8.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

Para esta caracterización se utilizaron las NPs obtenidas después de 2 y 10 días a partir del término de la reacción. El análisis se realizó en un equipo TGA 5500 Discovery series de la marca TA Instruments. La prueba se corrió en una atmósfera inerte de nitrógeno desde 25 °C hasta los 600 °C, empleando una rampa de calentamiento de 10 °C/min. Después de alcanzar los 600 °C se utilizó una atmósfera de oxígeno para lograr una completa descomposición de la goma arábiga y del selenio. Esta técnica se realizó para determinar la descomposición térmica del recubrimiento de las NPs, contenido de volátiles y residuos inorgánicos.

8.4 Espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR)

Se llevó a cabo en un espectrómetro Magna Nicolet 550 de la marca GMI. El espectro de las nanopartículas se obtuvo preparando la muestra en una pastilla de KBr. El objetivo de la técnica de caracterización fue identificar la presencia de grupos funcionales en la goma arábica y su interacción con las NPs de CuSe. Esta técnica también se aplicó a la resina comercial.

La resina comercial fue previamente separada por centrifugación a 30 °C y 8500 rpm por 2 horas. Después el material resultante se disolvió y se preparó en una celda de KBr para introducirlo en el equipo.

8.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Para este análisis se utilizó una muestra de sustrato de acero inoxidable con medidas de 1mmx1mm, recubierta con una formulación que contiene resina acrílica comercial y 3% en peso de las NPs de CuSe. La muestra se recubrió con oro y paladio antes de su análisis. La técnica fue realizada en un microscopio electrónico de barrido modelo JSM-7001F de la marca Jeol operado a 8kV.

8.6 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

Para la técnica TEM se utilizó un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución de la marca FEI Titan modelo 80-300 kV operando a 300 kV. El objetivo de este estudio fue observar el tamaño y distribución de las NPs de cobre y selenio, así como su morfología.

Para los análisis de esta técnica se prepararon 3 muestras, etiquetadas como L1, L2 y L3.

La muestra L1 se obtuvo de la solución de NPs de CuSe/GA después de 1 día de terminar la síntesis. Una muestra líquida se dispersó en metanol para favorecer la precipitación de las partículas, el sólido obtenido se dispersó en agua destilada inmediatamente, empleando un equipo de ultrasonido a 750W, operado durante 10 minutos a 35kHz y 60% de potencia del equipo. Los sólidos obtenidos no fueron secados con calentamiento para evitar cambios en la morfología y tamaño de partícula promedio. Una vez dispersas las partículas, unas gotas de la solución se depositaron en una rejilla de níquel y la rejilla se dejó secar a temperatura de 10-25 °C para su análisis por TEM.

La muestra L10 se obtuvo después de 10 días de haber realizado la síntesis, las NPs de CuSe permanecieron suspendidas en solución acuosa y la temperatura del lugar donde se almacenaron osciló de 10-22 °C. Para preparar la muestra las nanopartículas se separaron por centrifugación, después de secar la muestra a 60 °C y dispersarla mediante ultrasonido a las mismas condiciones de operación señaladas anteriormente, se depositó parte de la solución en una rejilla de níquel para su análisis por TEM.

8.7 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H).

Para realizar esta caracterización, una muestra de resina fue separada por centrifugar a una temperatura de 30 °C y 8500 rpm por 2 horas, posteriormente los sólidos se secaron a temperatura de 60°C en una estufa de vacío. Para el espectro de protón la muestra se disolvió en CDCl₃. La técnica se realizó en un equipo de resonancia magnética nuclear modelo Ascend 400 de la marca Bruker.

8.8 Pruebas antimicrobianas

Para las pruebas antimicrobianas se utilizaron colonias de: *Staphylococcus aureus* (bacteria Gram positiva), *Escherichia coli* (bacteria Gram negativa) y *Cándida albicans* (hongo). Las suspensiones de microorganismos fueron preparadas con un 0.5 (unidades adimensionales) según el estándar de McFarland [86].

En la preparación de los agares, se utilizó un agar nutritivo de la marca BD Bioxon. El medio de cultivo deshidratado se preparó de acuerdo a las indicaciones del producto. Posteriormente, el medio de cultivo se esterilizó en un autoclave a una temperatura de 121 °C y 15 psi de presión durante 15 min.

Para el análisis del efecto antimicrobiano de las nanopartículas de cobre-selenio en solución acuosa, se realizó el método de Kirby Bauer de halo de inhibición, en el cual, una vez esterilizado el medio de cultivo se vertió sobre las cajas de Petri. Después de su gelificación, los medios de cultivo o agares en las cajas Petri se inocularon usando el método de estriado (movimientos en zigzag) con un hisopo estéril, cubriendo toda la superficie. Se inocularon 6 agares para cada tipo de microorganismo (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*), obteniendo un total de 18 agares inoculados. Se tomó un agar inoculado de cada tipo de microorganismo como control. Posteriormente, todos los agares dentro de sus cajas Petri, con excepción de los controles, fueron perforados con 4 pozos de 6 mm de diámetro, en los que se depositaron 20 µL de solución acuosa

con nanopartículas a diferentes concentraciones (0%, 1%, 2%, 3%, 4% y 8% en peso) en cada pozo, es decir; un agar tendrá cuatro pozos, los cuales se incubarán con la misma bacteria y cada pozo tendrá 20µL de solución acuosa a una sola concentración. Las cajas se etiquetaron y se llevaron a incubar.

Para verificar el efecto antimicrobiano de las NPs de CuSe en la formulación (embebidas en el recubrimiento), se realizó una prueba en la que se observó el crecimiento de los microorganismos en contacto con los recubrimientos nanoestructurados que fue nombrada como “Método 1 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados”. Para este análisis, solamente se utilizaron: *Escherichia coli* y *Cándida albicans*. Una vez que el medio de cultivo se retiró del autoclave se aplicó directamente sobre los sustratos nanoestructurados de diferente concentración (0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2% y 3% en peso) obteniendo un total de 12 muestras, dos para cada concentración, posteriormente, en la superficie del agar de cada una de las muestras se le realizó una perforación en el centro y se le depositaron 10 µL de *Escherichia coli* para las primeras 6 y 10 µL de *Cándida albicans* para las últimas 6. Estos sustratos se llevaron a incubar por 24 h.

Para poder confirmar dichos resultados se realizó una modificación del método 1 combinado con el método Kirby-Bauer al que se le llamo “Método 2 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados”. La modificación consistió en retirar los recubrimientos nanoestructurados de los sustratos de acero inoxidable (obteniendo una película delgada) y poniéndolos en contacto con el medio de cultivo inoculado con *Escherichia coli* y *Cándida albicans*, los agares se prepararon y se inocularon de la misma forma que en el método de Kirby-Bauer, después se colocó la película delgada sobre el agar inoculado, las concentraciones se manejaron como el segundo caso, obteniendo un total de 12 muestras y se llevaron a incubar por 24 h.

Para estas técnicas se utilizaron los polvos de las NPs de CuSe separados a los 10 días de terminar la síntesis.

8.9 Potencial Z

En esta sección se evaluó la estabilidad de formulaciones que contienen resina acrílica base agua y una solución acuosa de NPs de CuSe (obtenida de la síntesis). Para comprobar la estabilidad de las soluciones se prepararon seis muestras diferentes. Estas muestras se describen a continuación.

Para las primeras tres formulaciones, la solución acuosa de NPs se tomó directamente del reactor después de una hora de terminar la reacción. Las relaciones de v/v se fijaron en 6:1, 3:1 y 1:1, nombradas como 1, 2 y 3, respectivamente. Las muestras 1, 2 y 3 se describen en la Tabla 4.

Tabla 4: Formulaciones con NPs separadas después de una hora después del término de la síntesis.

MUESTRA	RELACIÓN (RESINA/NPS)	V/V	TIEMPO EN EL REACTOR (H)
1	6:1		1
2	3:1		1
3	1:1		1

Para las muestras 4 y 5, la solución acuosa de NPs se tomó directamente del reactor después de 10 días de terminar la reacción. Las relaciones v/v se fijaron en 1:1 y 7:3. Las muestras 4 y 5 se describen en la Tabla 5.

Tabla 5: Formulaciones con NPs separadas después de 10 horas del término de la síntesis.

MUESTRA	RELACIÓN (RESINA/NPS)	V/V	TIEMPO EN EL REACTOR (H)
4	1:1		10
5	7:3		10

La muestra 4 se preparó mezclando resina con agua a una relación de volumen de 1:1 y se utilizó para observar la estabilidad del sistema sin nanopartículas, esta muestra fue etiquetada 1:1.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección del presente trabajo de investigación se presentarán y discutirán los resultados obtenidos en la síntesis y caracterización de NPs CuSe, recubrimientos con NPs CuSe y estudios de actividad antimicrobiana de NPs CuSe y los recubrimientos con NPs. Para complementar el trabajo, primeramente, se presentan los resultados de la caracterización de la resina acrílica comercial RHOPLEX AC-261.

9.1 Caracterización de la resina acrílica

La resina acrílica comercial RHOPLEX AC-261, fue caracterizada mediante FTIR y RMN ^1H con la finalidad de obtener información sobre la estructura del polímero poliacrilato empleado en la formulación. La ficha técnica de la resina RHOPLEX AC-261 describe que es un material en emulsión compuesto de acrilatos y tiene un contenido de sólidos de 50%. Previamente la resina fue separada de la emulsión y secada para realizar los análisis correspondientes.

9.1.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

En la Figura 5 se muestra el espectro FTIR de la resina comercial AC-261 RHOPLEX. En el espectro se presentan dos bandas localizadas en 2958 cm^{-1} y 2882 cm^{-1} , las cuales pueden atribuirse a la vibración de estiramiento del enlace C-H de los grupos CH_2 y CH_3 , mientras que la banda localizada en 1448 cm^{-1} se puede atribuir a la vibración de flexión de los mismos grupos. La banda de absorción localizada en 1730 cm^{-1} pertenece a los estiramientos del grupo C=O, característicos de los acrilatos. La señal localizada en 1152 cm^{-1} se puede atribuir a los estiramientos y vibraciones del grupo O- CH_3 presentes en el polimetilmetacrilato. De acuerdo con la literatura, la banda localizada en 961 cm^{-1} se puede atribuir a la oscilación del grupo -COO en el polibutil acrilato o PBA [87,88,89]. La banda en 3446 cm^{-1} sugiere la presencia de grupos hidroxilo (OH-), debido a la presencia de residuos de alcohol o humedad en la muestra [90,91].

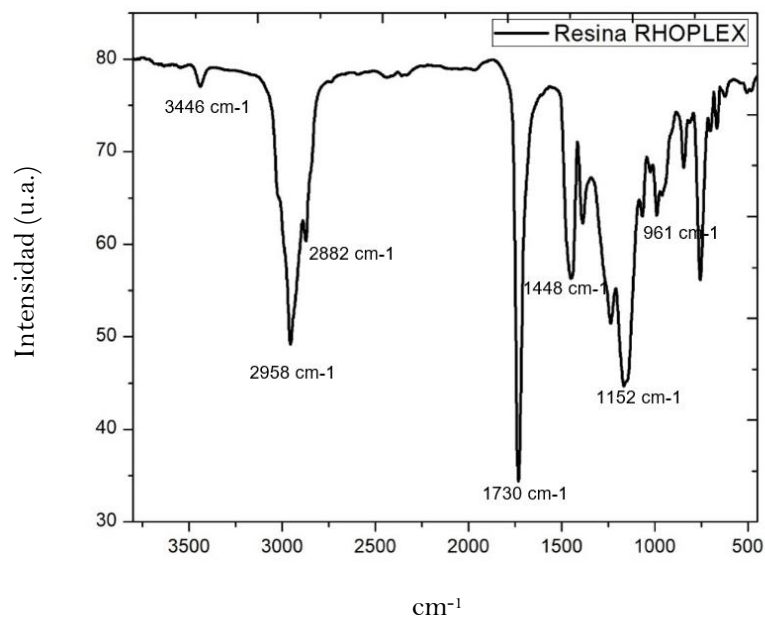


Figura 5: Espectro FTIR de la resina comercial RHOPLEX AC-261.

9.1.2 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H).

La resina RHOPLEX AC-261 también fue caracterizada por RMN ^1H , el espectro se ilustra en la Figura 6. La muestra para esta técnica se preparó de manera similar a la utilizada en la técnica de FTIR, solo que esta se disolvió en CDCl_3 . Las señales localizadas a campo bajo son típicas de protones unidos a átomos de oxígeno, su desplazamiento químico en 4.1 y 3.6 ppm y los datos reportados en la literatura sugieren que las señales pertenecen a grupos O-CH_2 y OCH_3 , respectivamente [86,87]. El grupo O-CH_2 pertenece al segmento del PBA y fue etiquetado como H-1, mientras que el grupo OCH_3 pertenece al segmento del PMMA etiquetado como H-2. De acuerdo a diversos autores la multiplicidad esta señal etiquetada como H-2 depende de relación de alimentación de los monómeros, el tiempo de reacción, el porcentaje de conversión y la configuración estereoquímica del copolímero. En la Figura 6 se ilustra la estructura química del copolímero PMMA-PBA. La señal ancha de tres picos localizada entre 0.8 y 1.2 ppm es típica de grupos metilo unidos a una cadena alifática del segmento PBA y del grupo metilo $\alpha\text{-CH}_3$ unido a la cadena principal del PMMA estos protones fueron etiquetados como H-5 y H-4 (ver Figura 6). Sin embargo, esta señal también puede ser atribuida a la estereoregularidad del PMMA. Según la literatura las señales en 1.19, 1.00 y 0.83 ppm se asignan al PMMA isotáctico, heterotáctico y sindiotáctico respectivamente [92,93]. Otra señal que apoya la presencia de PBA es la localizada en 1.57 ppm y corresponde al grupo CH de la cadena principal H-3. Las señales correspondientes al grupo CH_2 de la cadena principal de ambos polímeros se reporta entre 1.5 y 2.1

ppm, mientras que los protones de los grupos β -CH₂ y γ -CH₂ se localizan entre 1.2-1.8 ppm. Desafortunadamente, no existe una buena definición de las señales de los grupos CH₂ y no es posible hacer la asignación completa, a pesar de ello los desplazamientos químicos de las otras señales y la evidencia obtenida por FTIR puede confirmar la presencia del copolímero PMMA-PBA [88,94,95,96]. La relación de los grupos funcionales MMA y BA se pudo determinar midiendo la intensidad de las señales de los protones H-1 y H-2 del espectro y utilizando la siguiente ecuación [97].

$$Fm = \frac{2A_1}{2A_1 + 3A_2}$$

Donde A₁ y A₂ corresponden a las intensidades de las señales de resonancia de protón del O-CH₃ del MMA y del O-CH₂ del BA, respectivamente. Los porcentajes obtenidos fueron de 58.51% PMMA y 41.49% PBA.

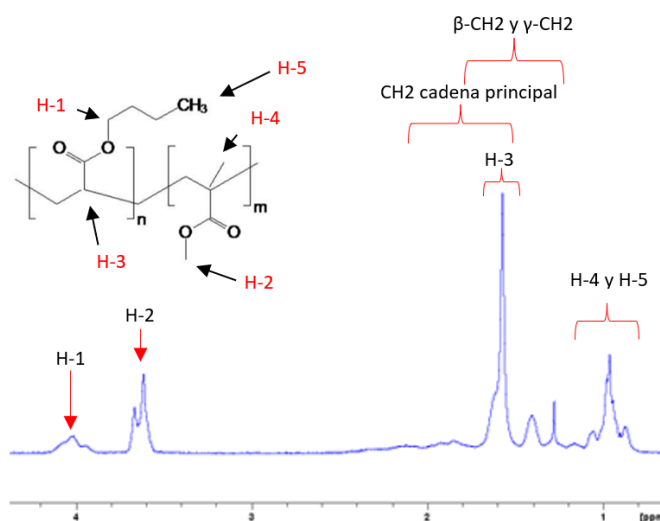


Figura 6: Espectro RMN ¹H de la resina RHOPLEX AC-261 y estructura propuesta para el compuesto analizado referencia [98].

9.2 Caracterización de las nanopartículas

9.2.1 UV-Absorbancia

Se realizó el análisis de espectroscopia de absorción de UV-Vis de las nanopartículas de CuSe. En la Figura 7 se presenta el espectro de absorción de UV-Vis de estas nanopartículas. Para la caracterización, se utilizó una alícuota de la solución acuosa de NPs de CuSe/GA después de 1 h de terminada la reacción.

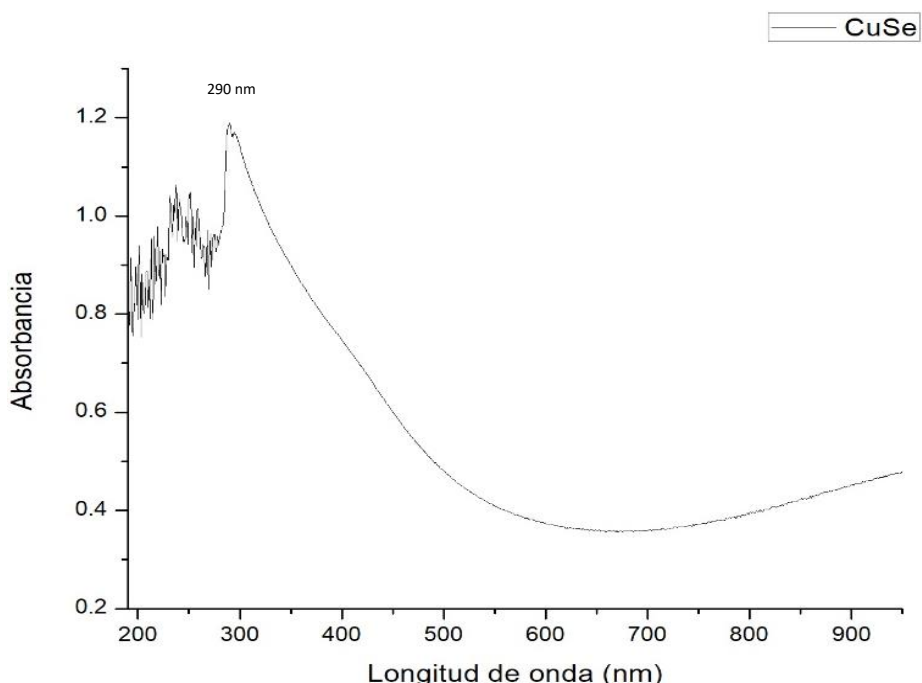


Figura 7: Espectro UV-Vis de las nanopartículas CuSe-GA suspendidas en agua.

El espectro de la Figura 7, presenta un plasmón superficial en los 290 nm. Este valor es muy similar al encontrado en la literatura para las NPs Se [99,100,101]. Por otra parte, el Cu_2O se puede encontrar entre 200 y 300 nm [28,48,97,102,103,104,105]. La banda en 290 nm puede ser atribuida a compuestos del tipo CuSe, dependiendo de la composición estos compuestos reportan bandas entre 220 nm y 550 nm. El análisis de UV-Vis descartar la existencia de los compuestos NPs Se y Cu_2O [98,106,107,108].

9.2.2 Difracción de rayos X

En la Figura 8 se presenta el difractograma de la muestra M1, el cual muestra cuatro señales principales. Los valores de 2θ de 27.68° y 46.12° podrían ser indexadas a los planos (111) y (220), correspondientes a la estructura cristalina cúbica del $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$, de acuerdo con la ficha PDF#88-2046. Por otro lado, los valores de 2θ de 44.12° y 52.13° podrían ser indexados a los planos (220) y (311), correspondientes a la estructura cristalina cúbica del Cu_2Se , según la ficha PDF#88-2044. Los resultados evidencian la presencia de ambas fases, este comportamiento ha sido previamente observado en otros estudios con NPs de CuSe y ha sido atribuido a múltiples factores como la temperatura de exposición y las condiciones de reacción [109,110,111,112,113,114].

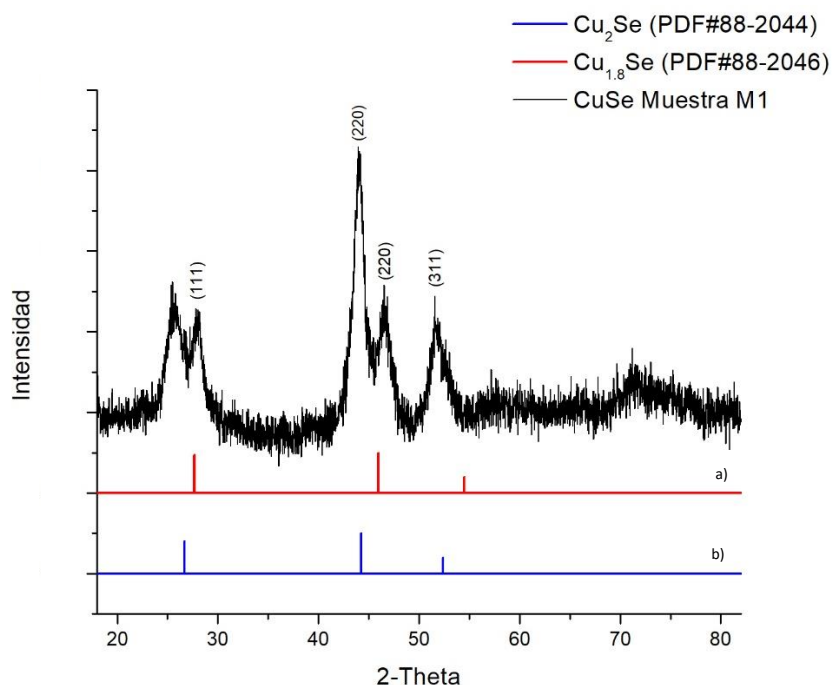


Figura 8: Difractograma de rayos X de las nanopartículas de CuSe de la muestra M1, a) Patrón del estándar del $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ cúbico (PDF#88-2046) y b) Patrón del estándar del Cu_2Se cúbico (PDF#88-2044)

En la Figura 9 se muestra el patrón de difracción de la muestra M2. En el difractograma se observan 5 reflexiones principales en los valores 2θ : 27.63° , 45.99° , 54.6° , 67.17° y 74.12° . Las reflexiones de la muestra M2 podrían ser indexadas a los planos (111), (220), (311), (400) y (331) de la estructura cristalina cúbica $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ de acuerdo con la ficha cristalográfica PDF#88-2046, respectivamente. Considerando que la muestra M2 fue obtenida dos días después del término de la síntesis, la desaparición de las señales del Cu_2Se en fase cúbica podría estar atribuida a una transición de la estructura cristalina del Cu_2Se al $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ debido al tiempo de suspensión de las nanopartículas en el reactor [106,115].

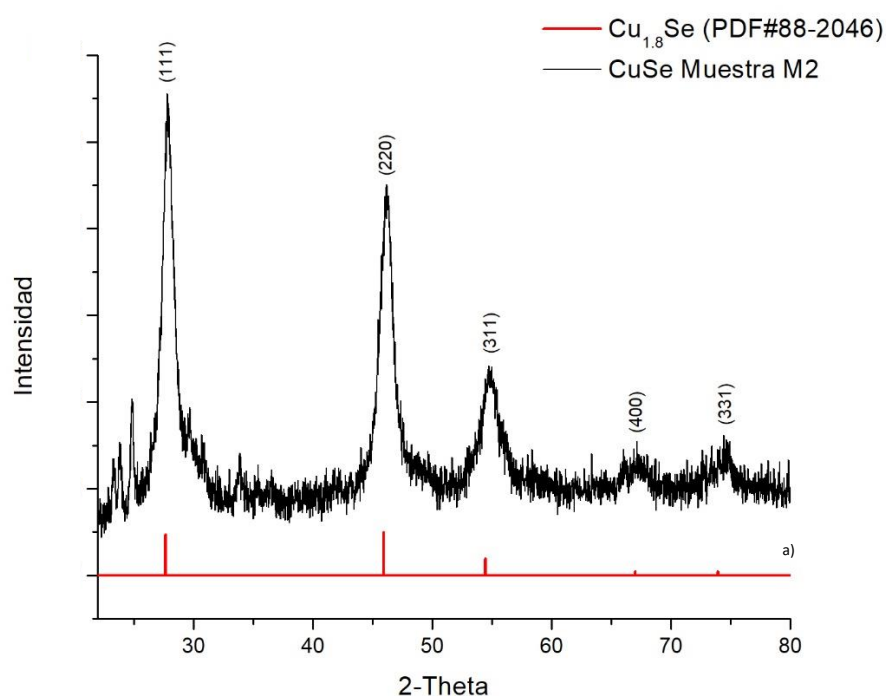


Figura 9: Difractograma de rayos X de las nanopartículas de CuSe de la muestra M2, a) Patrón del estándar de $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ cúbico (PDF#88-2046).

En la Figura 10 se presenta el difractograma de la muestra M3. En esta muestra se observan 5 reflexiones, en los ángulos 27.79° , 45.96° , 54.67° y 67.1° y 74.15° . Las reflexiones de la muestra M3 podrían ser indexadas a los planos (111), (220), (311), (400) y (331) de la estructura cristalina cúbica $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ de acuerdo con la ficha cristalográfica PDF#88-2046, respectivamente. No se observan cambios significativos entre las muestras M2 y M3, lo que indica que las NPs de CuSe en este sistema no cambian de fase después de los 2 días y hasta 10 días de almacenamiento [113].

Por otro lado, las muestras M2 y M3 no presentan señales de óxidos de cobre a pesar de permanecer en solución acuosa por más de dos días. Este comportamiento se atribuyó debido a que la goma arábica actúa como un agente protector de la superficie de algunas NPs [110,111].

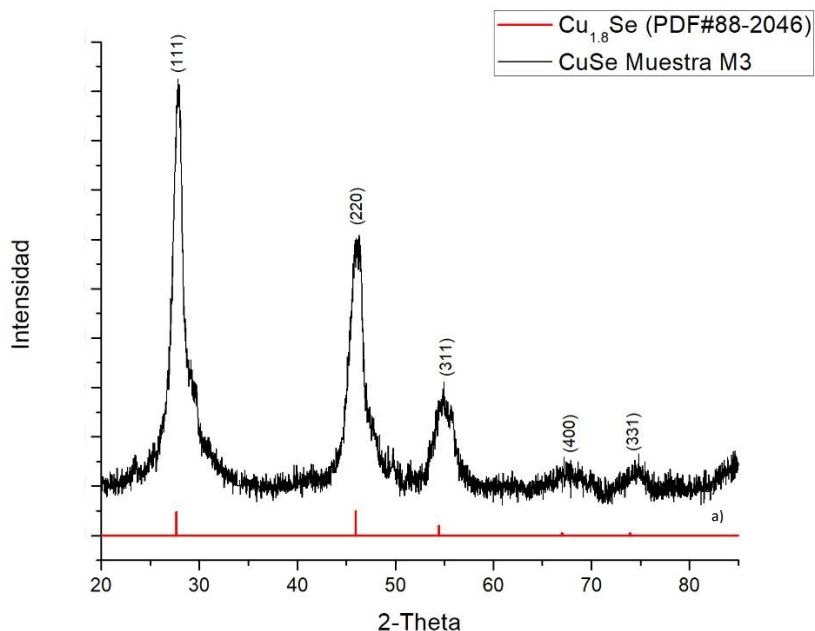


Figura 10: Difractograma de rayos X de las nanopartículas de CuSe de la muestra M3, a) Patrón del estándar de $\text{Cu}_{1.8}\text{Se}$ cúbico (PDF#88-2046).

La obtención de compuestos del tipo $(\text{Cu}_{2-x}\text{Se})$ es posible con el método de síntesis estudiado. Una posible reacción se ilustra en la ecuación 1.



Otra reacción que se presenta es la reacción de desproporción que se ilustra en la ecuación 2. La siguiente reacción indica que es posible el cambio de fase después de finalizar la síntesis de las nanopartículas.



El tamaño promedio del cristal fue calculado para las tres señales más intensas del difractograma de la muestra M3 mediante la utilización de la ecuación de Scherrer [43].

$$D_{xrd} = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}$$

Donde D_{xrd} es el tamaño promedio del cristal (nm), λ es la longitud de onda de la radiación (de cobre con un valor de 1.54056 Å), K es la constante de Scherrer con un valor de 0.89, θ es el ángulo de difracción o de Bragg y β es el ensanchamiento del pico de difracción en radianes, este se determinó por la medición del ancho a media altura FWHM, del máximo de reflexión principal del plano para cada fase. El tamaño promedio de cristal obtenido para esta muestra fue de 5.5 nm.

9.2.3 Espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier

Las nanopartículas de cobre y selenio (NPs CuSe) sintetizadas mediante reducción química y goma arábica (GA) fueron caracterizadas por FTIR, sus espectros se ilustran en la Figura 11. La muestra fue tomada de los polvos de NPs CuSe/GA separados a los 10 días después de terminar la síntesis.

En el espectro de la goma arábica se localizan señales características entre 1073.7 y 1420.2 cm^{-1} que se asignan al estiramiento del enlace C-O y a la flexión del grupo -OH del grupo carboxilo (COOH). La banda en 1609.6 y 1637 cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo COO^- y al estiramiento del enlace C=O, respectivamente. La señal en 2931.4 cm^{-1} se atribuye a la vibración del enlace C-H (grupos alifáticos). La banda de absorción que se muestra en 2360 cm^{-1} se debe usualmente a las vibraciones del CO_2 . La banda de absorción localizada en 3417.1 cm^{-1} indica la presencia de un estiramiento de enlace tipo O-H. La goma arábica está compuesta de glicoproteínas de alto peso molecular y polisacáridos de peso molecular bajo por lo cual sus señales se reportan en múltiples artículos [116,117].

Las señales de la goma arábica (1420, 1609 y 3417.1 cm^{-1}) atribuidas a la flexión del OH del grupo COOH y al estiramiento del grupo COO^- se redujeron significativamente. la señal del grupo COO^- se desplazó de 1609 a 1618 cm^{-1} . Algo similar ocurrió en la banda de 3417.1 cm^{-1} atribuida al estiramiento del grupo OH, la cual se presenta como un aplanamiento de la zona. Esto proporciona detalles de la interacción de los grupos hidroxilo de la goma arábica en la superficie de las

nanopartículas de cobre y selenio, unión que podría estar evitando el movimiento de estos grupos [116,117,118]. Por otra parte, la presencia de la banda en 607 cm^{-1} , es atribuida a la vibración de flexión del CuSe. La propiedad de resistencia a la oxidación, que presentaron las nanopartículas de cobre, puede ser asociada a la protección que brinda la GA, que al recubrir la superficie del cobre se evita la entrada de oxígeno y humedad [119].

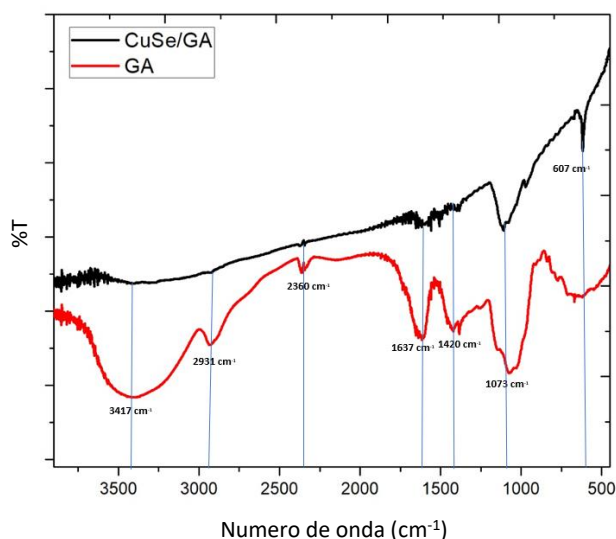


Figura 11: Comparación de los espectros FTIR de la GA y NPs recubiertas de GA

9.2.4 Análisis termogravimétrico

En las Figuras 12 y 13 se presentan las curvas termogravimétricas (TG) y DTG (primera derivada de la curva TG) de la goma arábica y de las nanopartículas de CuSe recubiertas con goma arábica. La muestra CuSe/GA caracterizada con esta técnica fue obtenida de los polvos separados por centrifugación a los 10 días del término de la síntesis.

En la Figura 12 se observa una pérdida de masa inicial de 9.63 % en peso, atribuida a la evaporación de agua presente en la superficie de la muestra [120,121]. Resultados similares fueron reportados por Zohuriaan et. al. [122] y Jamaludin et. al. [123]. También, se observa una segunda y tercera pérdida de masa del 58.21 % y 28.61 % en peso, respectivamente. Estas pérdidas podrían estar asociadas con la desnaturalización de los polisacáridos de la goma, debido a la descomposición de los grupos carboxilatos y los ácidos carboxílicos, así como a la descomposición de las cadenas de hidrocarburos [117]. Por último, el porcentaje residual después

de los 650°C es de 3.55%. Este valor residual es similar al de estudios realizados por Aamir et. al. [124] y Farooq et. al. [125] que presentan comparaciones térmicas entre diferentes estructuras de la goma arábica y obtienen un resultado de 4% de residuos para GA no modificada.

De la curva DTG (Figura 12) se obtuvieron las temperaturas máximas de degradación (T_{max}) de la goma arábica. La primera temperatura máxima ubicada en 38 °C corresponde a parte de la remoción de volátiles presente en la GA [126]. La segunda y tercera señal fueron a 307 y 600°C corresponden a la descomposición de la GA, como se ha reportado en la literatura [117]. Las temperaturas máximas de degradación en 307 y 600 °C están atribuidos a la generación de CO₂ proveniente de los grupos carboxílicos y una señal exotérmica angosta se puede atribuir a la generación de CO, H₂O y CH₄, debida a la descomposición, deshidratación o despolimerización a alta temperatura del polisacárido [16].

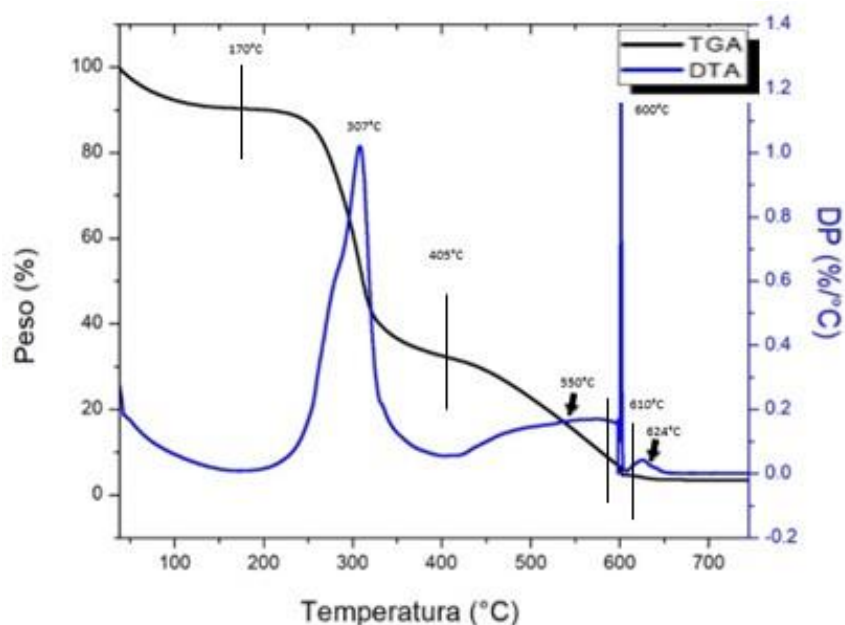


Figura 12: Termograma de TGA de la GA.

En la Figura 13 se presentan las curvas TG y DTG de las nanopartículas de CuSe recubiertas con GA. El termograma de TGA muestra una descomposición por etapas el cual fue muy diferente al presentado por la GA (Figura 12). En la Figura 13 se observan seis pérdidas de peso, las cuales están atribuidas a la pérdida de agua en el sistema, a la descomposición del compuesto (CuSe/GA), a la volatilización del selenio y a las transformaciones de fase de las múltiples estructuras cristalinas del CuSe [126]. J Liew et. al. reportó que la mayor pérdida

por descomposición de Se por volatilización se encuentra en el rango de temperaturas de 270°C a 380°C, mientras que las transformaciones de fase se pueden encontrar desde 34 °C a 450°C, debido a su estabilidad térmica. Estudios realizados por S. Stolen et. al. muestran como estructuras hexagonales son estables por debajo de los 34°C, mientras que por arriba de esa temperatura se empiezan a presentar estructuras ortorrómbicas, posteriormente, después de los 117°C se vuelve a obtener estructuras hexagonales. De acuerdo con la literatura, para compuestos CuSe sin recubrimiento, la temperatura final de descomposición del CuSe se reporta hasta 447.08 °C [127]. Sin embargo, la aplicación de diferentes ligantes en la superficie de las partículas puede cambiar la temperatura de descomposición.

Después de 600°C el análisis termogravimétrico se realizó en atmósfera de oxígeno. Los compuestos del tipo CuSe se oxidan fácilmente en estas condiciones y debido a la sublimación del SeO₂, es altamente probable que no exista selenio en el residuo final [109,128].

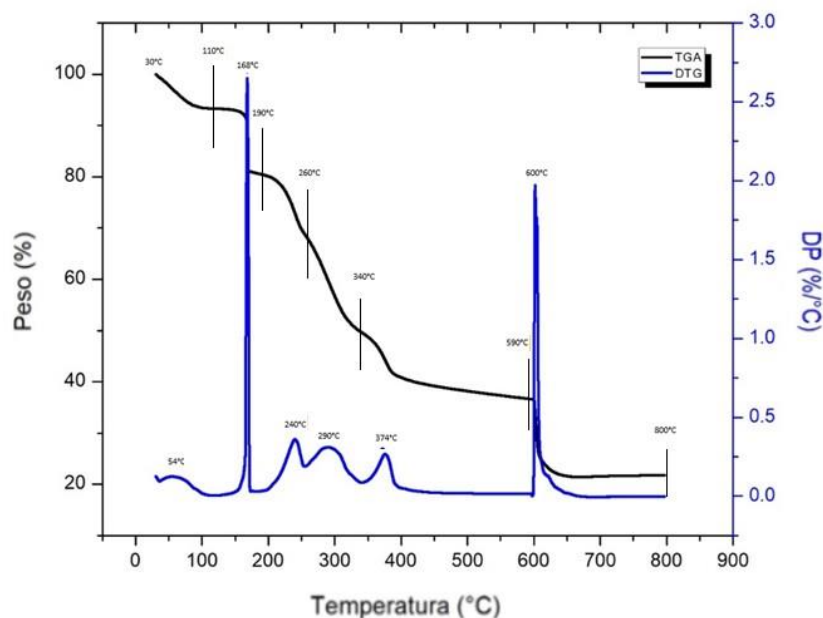


Figura 13: Termograma TGA de NPs de CuSe con GA.

9.2.5 Análisis de composición por microscopía electrónica de barrido

La superficie de sustratos de acero inoxidable, tratados con recubrimientos nanoestructurado que contienen 3% en peso de NPs CuSe, fueron analizados por SEM. En la Figura 14a se presentan las zonas de la micrografía de SEM donde se realizó el análisis elemental. En esta Figura, las zonas 1, 2 y 3 fueron las que presentaron una mayor cantidad de partículas en comparación con las zonas 4 y 5.

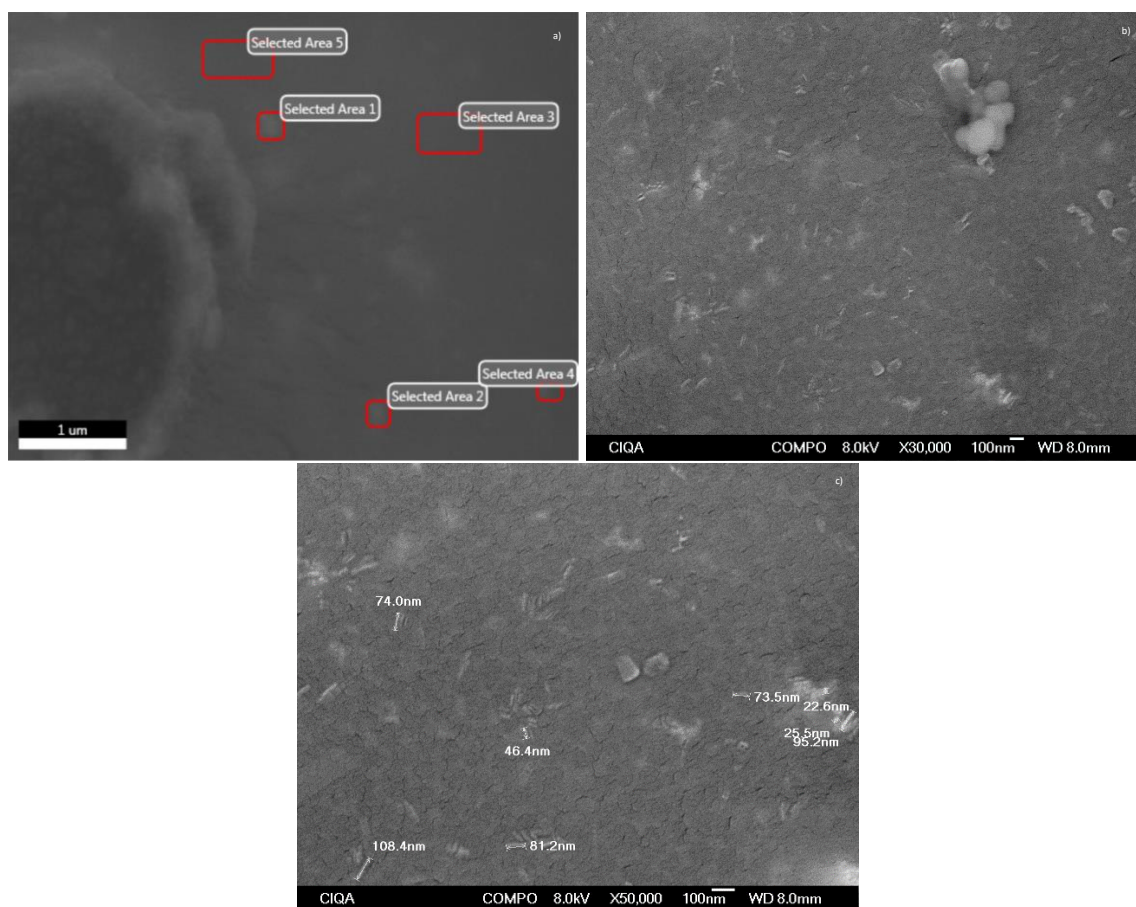


Figura 14: Micrografías SEM-EDX del sustrato recubierto con solución antimicrobiana a) Zonas analizadas, b) Micrografía a 30000 aumentos y c) Micrografía a 50000 aumentos.

De acuerdo con el análisis, en todas las zonas se observó la presencia de cobre y selenio. En las figuras 14b y 14c se observaron NPs con dos tipos de morfologías: cuerdas y esferas. Las NPs con morfologías de esfera tienen un diámetro promedio en el rango de 32.1 nm y 49.8 nm. Mientras que las NPs con morfologías de cuerda presentan longitudes de alrededor de 101.6 nm. Estas

imágenes demuestran que las NPs de CuSe se encuentran bien dispersas en la resina. En la Figura 15 se presenta el espectro obtenido del análisis elemental, donde las señales que no se encuentran etiquetadas corresponden a los elementos oro y paladio usados en la preparación de la muestra. En la Tabla 6 se presenta la concentración en porcentaje en peso de los elementos carbono, oxígeno, selenio y cobre. La concentración promedio de las cinco zonas demostró que la cantidad de selenio en el recubrimiento fue mayor con respecto a la cantidad de cobre. Los elementos carbono y oxígeno provienen de la estructura química y grupos funcionales de la resina y de la GA.

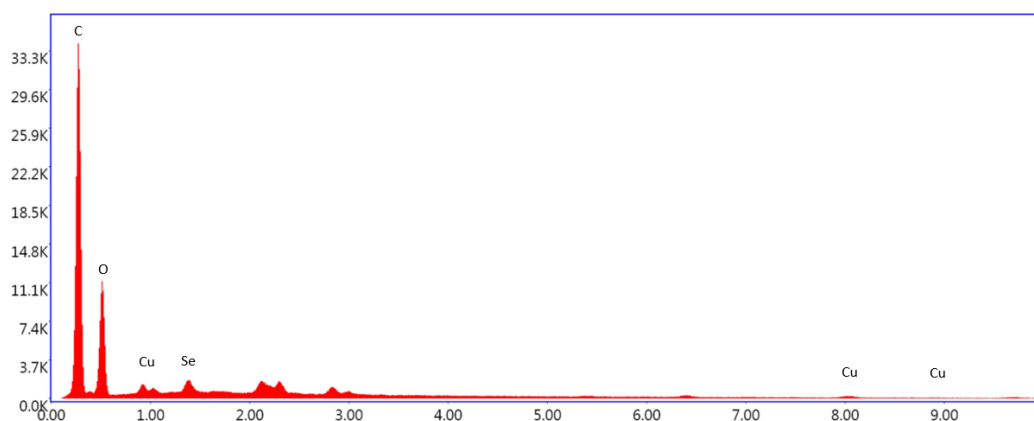


Figura 15: Análisis SEM-EDX del recubrimiento nanoestructurado CuSe

Por otro lado, se realizó un mapeo elemental para observar la presencia de nanopartículas de cobre y selenio en el recubrimiento. En la Figura 16a, se observan puntos de color amarillo, los cuales representan a las partículas de selenio, mientras que los puntos azules corresponden al cobre (Figura 16b).

Tabla 6: Composición elemental de recubrimientos nanoestructurados CuSe.

Elemento	Peso %
Carbono	77.4
Oxígeno	20.62
Selenio	1.14
Cobre	0.84

En la zona derecha de las imágenes (marcada en color azul), no se observó la presencia de estos puntos debido a que el sustrato presenta un orificio en esta zona. Ambos análisis fueron realizados en la misma zona del sustrato, los resultados presentados concuerdan con los datos de la Tabla 6, donde se observa que el porcentaje de cobre presente en el sustrato es menor al porcentaje de selenio.

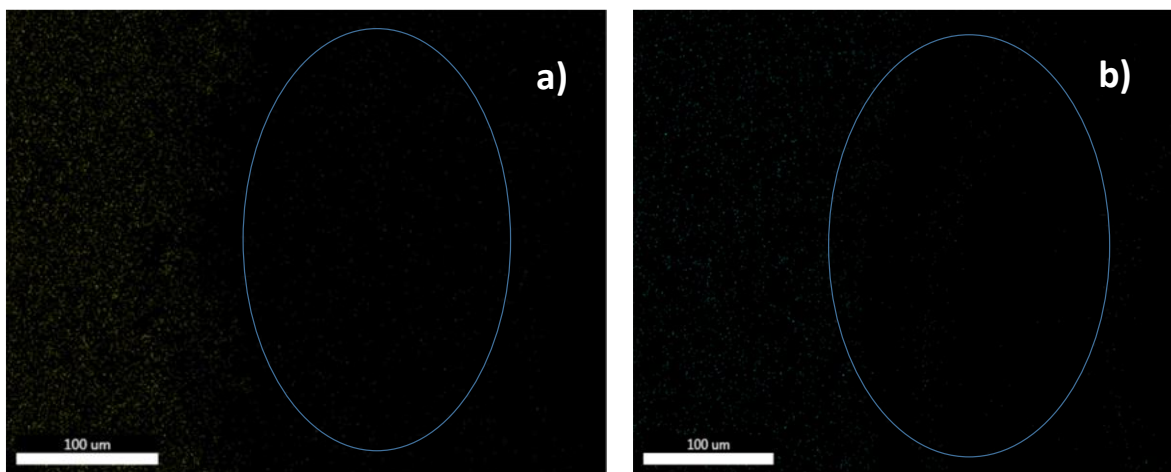


Figura 16: Mapeo elemental de selenio (a) y cobre (b)

9.2.6 Análisis morfológico por microscopía electrónica de transmisión

La finalidad de este análisis fue obtener información del efecto de la temperatura y tiempo de envejecimiento en la morfología y tamaño de las nanopartículas. El cambio de morfología de esférico a agujas es un comportamiento previamente observado en nanopartículas de selenio recubiertas con surfactantes no iónicos [129].

En la Figura 17 se pueden observar las micrografías de la muestra L1. En estas micrografías se puede encontrar la coexistencia de dos morfologías, principalmente se pueden observar partículas esféricas de tamaño promedio de 7 nm y en menor cantidad se encuentran partículas alargadas cuya longitud promedio va de 8 a 50 nm. En la Figura 17b se puede observar la presencia de partículas alargadas con un largo de 50 nm y un ancho de 5 nm. La formación de las partículas

alargadas podría estar atribuido a la aglomeración de NPs semiesféricas. De acuerdo con la literatura, el cambio en la morfología de esfera a cuerdas es un comportamiento previamente observado en nanopartículas de selenio recubiertas con surfactantes no iónicos [129]. Tanto en la Figura 17a como en la Figura 17b se observan NPs con tamaños de 6 a 13 nm.

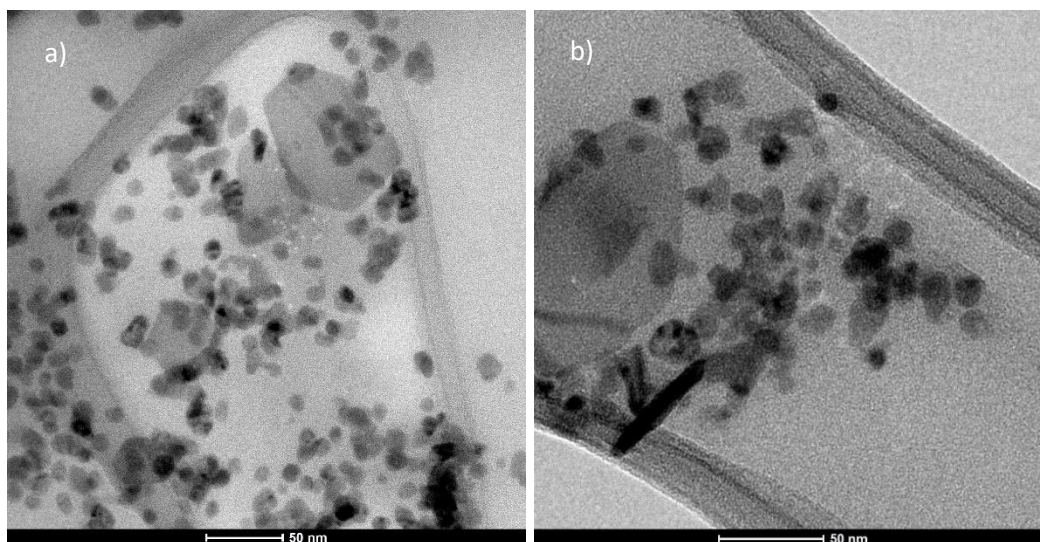


Figura 17: Micrografías TEM de las NPs de Cu y Se muestra L1.

En la Figura 18 se muestran las imágenes de TEM de los aglomerados observados en la muestra L10. Esta muestra cuenta con ambas morfologías, ya observadas en las muestras L1 y L2. Las partículas semiesféricas presentan un tamaño similar a las muestras anteriores. El tamaño de las partículas alargadas es de hasta un 20% mayor en comparación a la muestra L1. Los aglomerados encontrados en esta muestra cuentan con morfologías irregulares y alargadas. Las irregulares cuentan con tamaños promedio de aproximadamente 800 nm. En el caso de las partículas alargadas, su tamaño se encuentra en el rango de los 500 nm y las 2.5 micras.

Los aglomerados de la Figura 18 (a y b) se deben a que las nanopartículas de CuSe permanecieron en el reactor una mayor cantidad de tiempo lo que favoreció el crecimiento y cambio de fase del compuesto, así mismo, las estructuras alargadas presentaron un aumento de tamaño, por lo que se recomienda que las nanopartículas de CuSe se separen y usen inmediatamente después de la reacción.

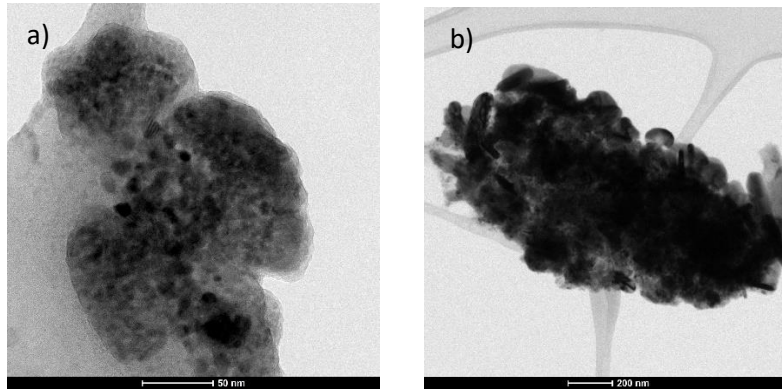


Figura 18: Micrografías TEM de las NPs de Cu y Se muestra L10.

En la Figura 19 se presenta el análisis de energía dispersiva (EDS), realizado mediante TEM. En la imagen se puede observar la presencia de los elementos C, O, Cu y Se, como en el caso del análisis EDX del SEM. La señal en 7.5 keV corresponde al níquel, material en las rejillas que soportan las muestras. Las demás señales que no están etiquetadas como las señales en 2.25 y en 3.75 KeV corresponden a los elementos azufre y calcio respectivamente, probablemente corresponden a impurezas atrapadas durante la preparación o manejo de las muestras. Para conocer el porcentaje de peso de selenio y cobre se realizaron 5 mediciones en diferentes zonas de la rejilla. El promedio de esas mediciones fue de 4.1% para el cobre y 5.34% para el selenio. La relación Se/Cu obtenida por este método fue de 1.24, resultado similar al obtenido por la técnica de SEM 1.35 y también concuerda con los resultados obtenidos en TGA.

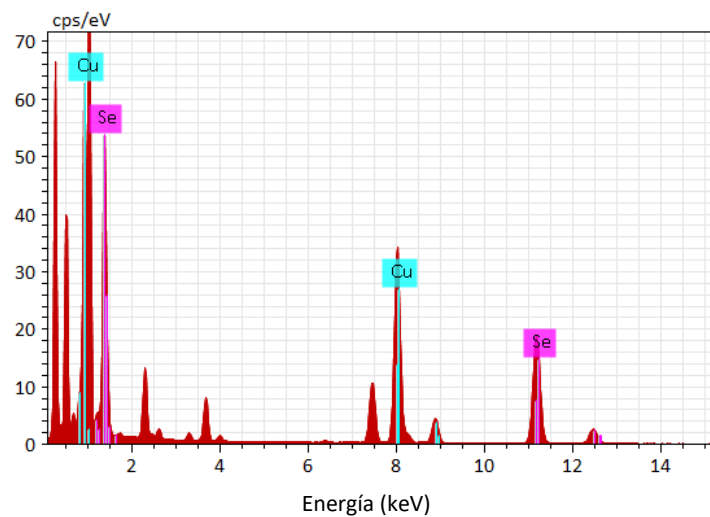


Figura 19: Análisis EDS-TEM de las nanopartículas de CuSe.

En la Figura 20 se pueden encontrar los histogramas de la distribución de tamaño las nanopartículas de las muestras L1 (Figura 20a) y L10 (Figura 20b). Se puede observar que en la muestra L1 el 88% de la distribución del tamaño de sus nanopartículas se encuentra entre los 6 y los 13 nm, mientras que, para la muestra L10 el 95% de las analizadas se encuentra entre los 6 y los 11 nm. Cabe destacar que el análisis de distribución solo fue aplicado a las nanopartículas con morfologías esféricas, ya que, las más alargadas presentes en ambas muestras y las aglomeradas en la muestra L10 se presentaban en menor cantidad y no representaban el total de la población presente en las muestras. El tamaño de partícula promedio observado en las muestras del análisis de microscopía electrónica de transmisión presentan similitud a lo obtenido con el modelo de la ecuación de Scherrer, sus diferencias podrían deberse al alcance de cada uno de los experimentos.

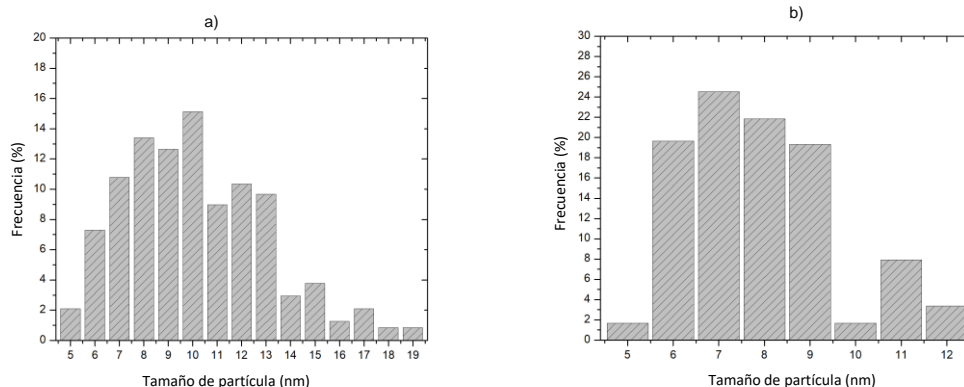


Figura 20: Histogramas de tamaños de las NPs de CuSe. a) L1 y b) L10

9.2.7 Espectrometría de emisión por plasma de acoplamiento inductivo

Para la cuantificación de la liberación de iones de Cu y Se en los sustratos recubiertos que contienen 2.0% de CuSe, se utilizaron 5 muestras preparadas bajo la misma metodología (descrita en el apartado 7.5). Las muestras permanecieron en agua destilada durante diferentes tiempos. Las soluciones obtenidas fueron analizadas por espectrometría de emisión por plasma de acoplamiento inductivo en un equipo modelo ICP Espectrofotómetro 7000 Series ICAP7400 Duo de la marca THERMO SCIENTIFIC. Los elementos fueron identificados por la longitud de onda que reflejan. Para el cobre el valor es de 324.7 nm, mientras que para el selenio es de 204 nm. Los resultados se encuentran en la Tabla 7.

Tabla 7: Resultados de liberación de cobre y selenio obtenidos en determinado tiempo de exposición.

Muestra	Tiempo de exposición (Días)	Cobre (ppm)	Selenio (ppm)
H ₂ O	0	0	0
1	5	0.088	0.009
2	10	0.125	0.014
3	20	0.414	0.034
4	40	0.737	0.047
5	80	0.519	0.132

Los resultados muestran la cantidad de iones de los elementos que pudieron difundirse a través de la matriz polimérica hasta el agua a durante los 80 días de exposición. Se observa un aumento de la concentración de ambos elementos al incrementar el tiempo de exposición al agua. Sin embargo, los iones de cobre terminan liberándose en mayor cantidad en todos los casos con respecto al selenio, esto es una tendencia en todo el tiempo del experimento.

El fenómeno de liberación de iones de las nanopartículas embebidas en una matriz polimérica se consigue en varias etapas, pero principalmente intervienen 3 en las matrices solubles, las cuales son:

- 1.- La liberación por “burst”: esta se produce cuando se liberan los iones que están más próximos a la superficie, esto se podría deber a una liberación por hinchamiento del material [130], a la mala interacción entre la matriz y el principio activo o por la porosidad de la matriz cuando entra en contacto con un medio ambiente que la disuelve [131].
- 2.- La liberación difusional: es la etapa donde los iones se comienzan a difundir a través de la matriz del poliacrilato [130,132].
- 3.- La liberación erosional: esta ocurre cuando el material se degrada por causas del medio ambiente lo que libera los iones [130,132].

Para los sistemas con nanopartículas distribuidas homogéneamente en el medio solo se consideran las dos últimas etapas, mientras que, para las que se distribuyen heterogéneamente ocurren las tres. Para este caso, se considera que las nanopartículas están distribuidas homogéneamente y también presentes en su superficie. Esto es evidenciado en los resultados de la Tabla 7, que muestran que en los primeros 5 días de exposición se presenta una liberación mayor que de 5 a 10 días de exposición, pero menor a lo presentado de los 10 a los 20 y de 20 a 40 días de exposición. Se observó un comportamiento heterogéneo en el trabajo

realizado por Daissy Paredes y colaboradores [133], en el cual, analizaron liberación de nanopartículas de plata embebidas en PLGA, PLA y quitosano en bolsas de diálisis, los cuales presentaron las tres etapas, especialmente en el quitosano se ve un efecto de liberación mayor en los primeros días de exposición. Hay varias razones por las que de 40 a 80 días de exposición se presenta una disminución, una de ellas es que el sustrato podría estar presentando limitaciones en la segunda y tercera etapa de liberación para la 5ta muestra, en donde se podría tener una erosión o una difusión por la membrana más tortuosa que en las otras muestras, a pesar de presentar las mismas condiciones. Otra explicación podría ser que en un punto temporal entre los 20 y los 80 días de exposición se presente un impedimento en la liberación de iones del cobre debido a que están unidos como compuesto con el selenio, además que, como se ha reportado previamente el uso de biopolímeros como estabilizantes en las nanopartículas podría ralentizar la liberación de estas. La GA tiene la capacidad de interactuar con la superficie de las NPs limitando la difusión de las mismas en la matriz polimérica, esta podría ser la causa de la lenta velocidad de liberación encontrada en todo el experimento, en ausencia de dicho recubrimiento deberíamos presenciar una liberación brusca en las primeras etapas del experimento, observada en diversas investigaciones [131,134,135]. Cabe mencionar que estos resultados de liberación de iones son en condiciones de laboratorio y se espera que los resultados sean diferentes en condiciones medio ambientales.

9.2.8 Potencial Z

Los resultados obtenidos por esta técnica de caracterización se encuentran plasmados en la Tabla 8. La muestra 1:1 corresponde al blanco, el cual está compuesto de 50% v/v de resina y de agua desionizada. Las muestras 1, 2 y 3 se prepararon variando las relaciones volumen de una mezcla de solución acuosa de NPs de CuSe/GA a una hora de terminada la síntesis combinada con la resina comercial, las relaciones se fijaron en 6:1, 3:1 y 1:1, respectivamente, siendo el primer número el de la resina comercial y el segundo de la solución con NPs. Las muestras 30/70 y 50/50 corresponden a mezclas de la resina comercial con la solución acuosa de NPs de CuSe/GA diez días después de terminar la síntesis, el primer número indica el porcentaje en volumen de la de solución acuosa de NPs de CuSe/GA y el segundo el porcentaje de volumen de la resina comercial.

Para las 5 soluciones se obtienen valores bajos, cercanos al 0 y todos negativos. Para poderle atribuir la propiedad de estabilidad a la solución, esta debería presentar un valor mayor a 30 mV [136,137], entre más se acerque a 0 el valor, las cargas de las partículas se desestabilizarán y la posibilidad de agregación de las partículas suspendidas aumenta [138]. Se puede observar una tendencia clara en las muestras 1, 2 y 3, lo cual aporta indicios de la interacción del agua en la formulación. En este caso se obtuvo que, al aumentar el porcentaje de la solución de las nanopartículas presente en la formulación, el coloide va perdiendo estabilidad, lo cual indica que se presentaran aglomerados con mayor facilidad. Esto se puede deber a que al aumentar la cantidad de nanopartículas en la formulación estas tendrán la posibilidad de interactuar una con la otra debido a fuerzas de atracción y al agregar agua se reducirá la viscosidad, reduciendo en consecuencia las fuerzas de repulsión. Para los valores de las muestras 30/70 y 50/50 no se presenta un cambio significativo entre un valor y el otro, y solo se observa una pequeña tendencia parecida a las 3 muestras anteriores. En sí el valor obtenido en el blanco es un valor bajo por lo que se puede establecer que el agua no es el mejor medio para dispersar ni las nanopartículas ni para mezclarlo con la resina acrílica, sin embargo, se necesitan más estudios para poder hacer esta afirmación ya que el potencial Z es dependiente de la viscosidad, diámetro de partícula, tiempo de almacenamiento, temperatura, pH y la velocidad de desplazamiento electroforético de las partículas, entre otros [136,137]. Aunque la muestra tenga tendencia a aglomerarse (lo cual fue observado al preparar las soluciones mayores de 1.0% peso de nanopartículas) la goma arábiga le aporta estabilidad a las nanopartículas cuando se encuentran en solución acuosa.

Tabla 8: Resultados de potencial Z de las formulaciones de resina y solución con NPs de cobre y selenio.

Muestra	Potencial Z (mV)
1:1	-6.1
1	-9.9
2	-5.7
3	-3.7
4	-5.2
5	-2.6

9.3 Pruebas antimicrobianas

9.3.1 Método de Kirby-Bauer

Las Figuras 21, 22 y 23 presentan los resultados de la actividad antimicrobiana de las NPs de CuSe, realizada por el método de Kirby-Bauer para difusión de disco, contra las colonias de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*. En todas las Figuras se pueden observar aumentos en el tamaño del halo de inhibición con el incremento de la concentración de la solución de nanopartículas aplicada, desde el índice “a” (control) hasta el índice “f” (concentración más alta). En la Tabla 9 se plasmaron los resultados de la medición del diámetro en mm del halo de inhibición según el método de Kirby-Bauer con su respectiva desviación. Se estudiaron cinco soluciones a diferente concentración de NPs de CuSe (0, 1, 2, 3, 4 y 8% en peso). Los experimentos fueron nombrados con las iniciales de la bacteria utilizada S.A para *Staphylococcus aureus*, E.C. para *Escherichia coli* y C para *Cándida Albicans* y con la concentración de nanopartículas utilizadas en la prueba, CL se utilizó para nombrar al control de la muestra.

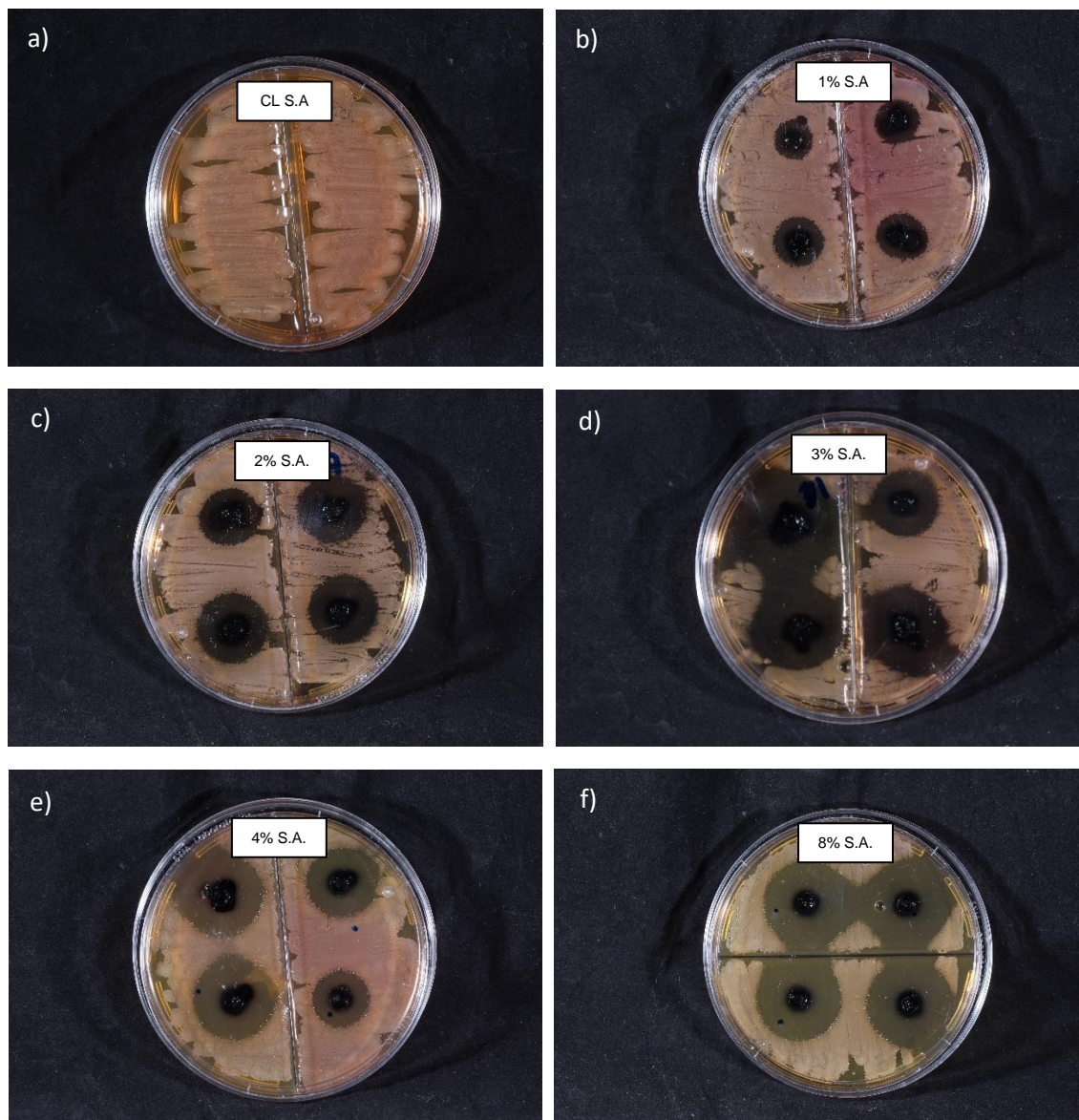


Figura 21: Pruebas de halo de inhibición de NPs de CuSe en presencia de *Staphylococcus Aureus*: a) Prueba control, b) 1.0% de NPs CuSe, c) 2.0% de NPs CuSe, d) 3.0% de NPs CuSe, e) 4.0% de NPs CuSe y f) 8% de NPs CuSe en peso.

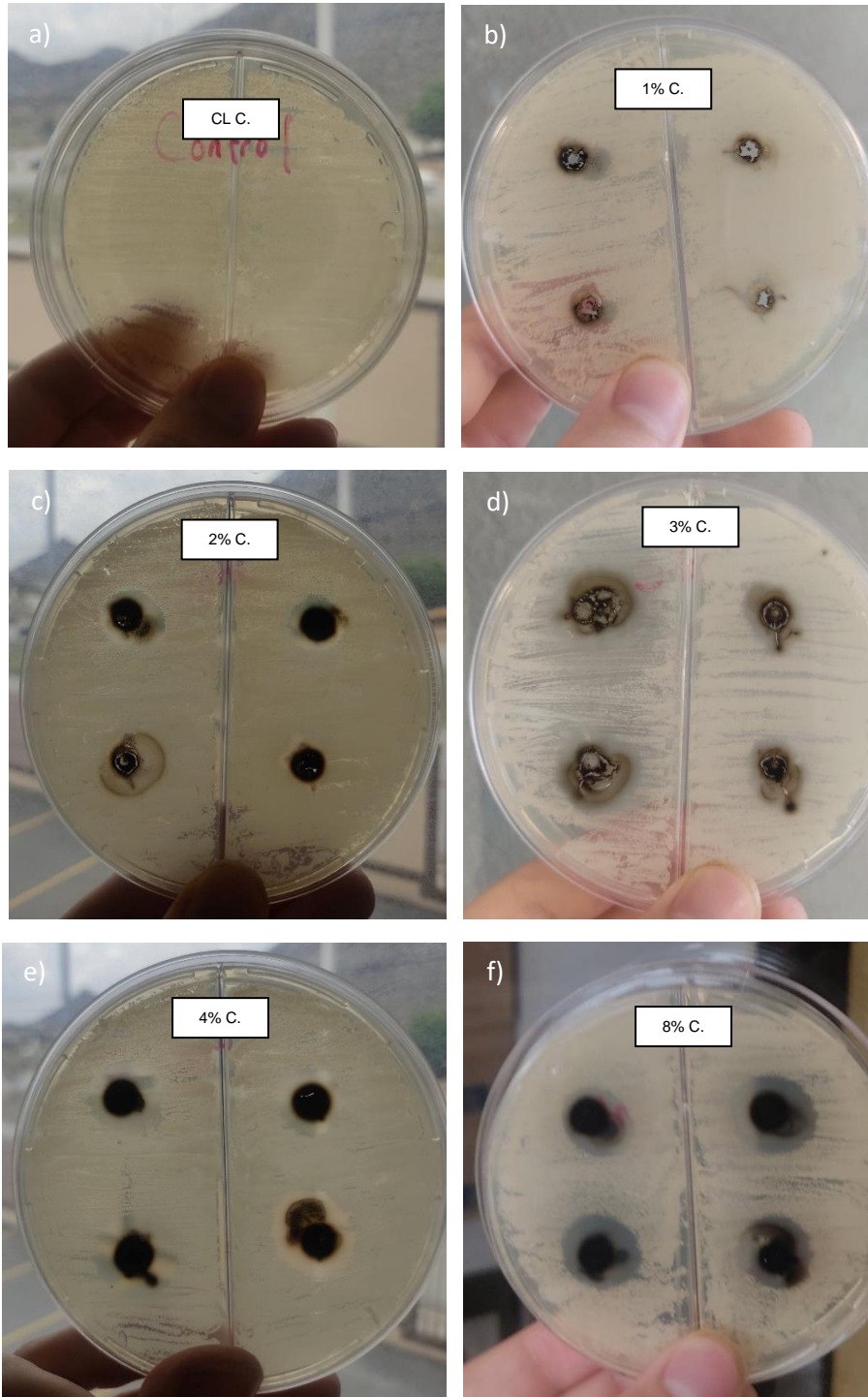


Figura 22: Pruebas de halo de inhibición de NPs de CuSe en presencia de *Cándida Albicans*: a) Prueba control, b) 1.0% en de NPs CuSe, c) 2.0% de NPs CuSe, d) 3.0% de NPs CuSe, e) 4.0% de NPs CuSe y f) 8.0% de NPs CuSe en peso.

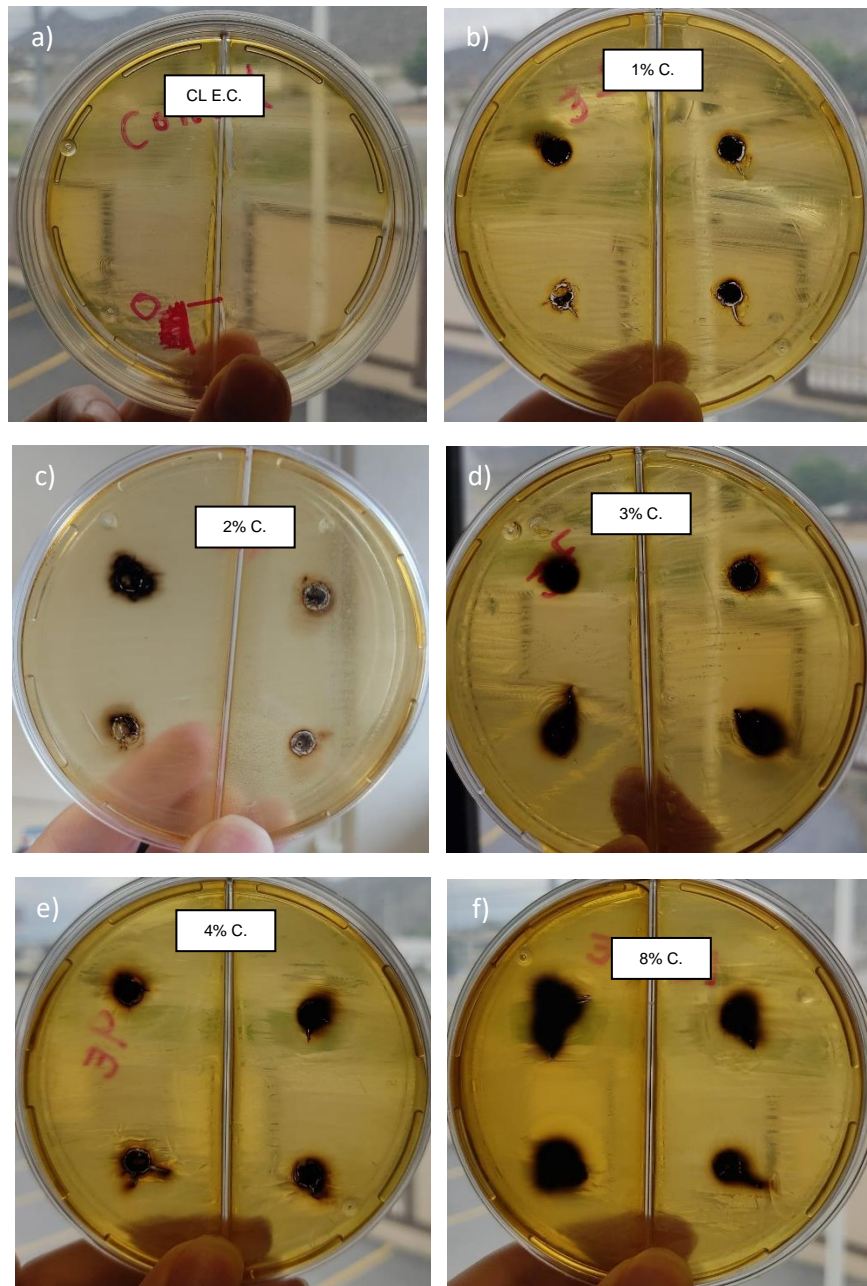


Figura 23: Pruebas de halo de inhibición de NPs de CuSe en presencia de *Escherichia Coli*: a) Prueba control, b) 1.0% de NPs CuSe, c) 2.0% de NPs CuSe, d) 3.0% de NPs CuSe, e) 4.0% de NPs CuSe y f) 8.0% de NPs CuSe en peso.

Tabla. 9 diámetros de inhibición y sus desviaciones estándar de las muestras expuestas a las NPs de CuSe.

Muestra	Concentración (%P)	Microorganismo	Diámetro de inhibición promedio y D.S. (mm)
CL S.A.	0	<i>Staphylococcus aureus</i>	0
1% S.A.	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	15.1 ± 1.1
2% S.A.	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	21.0 ± 2.8
3% S.A.	3	<i>Staphylococcus aureus</i>	23.8 ± 3.2
4% S.A.	4	<i>Staphylococcus aureus</i>	24.0 ± 2.1
8% S.A.	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	29.2 ± 1.7
CL C.	0	<i>Cándida albicans</i>	0
1% C.	1	<i>Cándida albicans</i>	8.1 ± 1.7
2% C.	2	<i>Cándida albicans</i>	15.1 ± 1.0
3% C.	3	<i>Cándida albicans</i>	17.2 ± 1.0
4% C.	4	<i>Cándida albicans</i>	18.3 ± 2.1
8% C.	8	<i>Cándida albicans</i>	21.2 ± 1.1
CL E.C.	0	<i>Escherichia coli</i>	0
1% E.C.	1	<i>Escherichia coli</i>	8.1 ± 0.7
2% E.C.	2	<i>Escherichia coli</i>	11.9 ± 2.2
3% E.C.	3	<i>Escherichia coli</i>	13.7 ± 2.0
4% E.C.	4	<i>Escherichia coli</i>	15.5 ± 1.2
8% E.C.	8	<i>Escherichia coli</i>	17.1 ± 0.3

Como se ilustra en las Figuras 21, 22 y 23, se observa la presencia de un halo de inhibición para todas las concentraciones de las soluciones con nanopartículas de CuSe. La inhibición presente en el medio se atribuye a la liberación de los iones de cobre y selenio en el medio. En todos los experimentos se puede observar un incremento del diámetro del halo al aumentar la concentración de la solución de nanopartículas. Adicionalmente a esto, se puede observar un amarillamiento rodeando la zona del pozo y que va aumentando de tamaño de igual manera que se incrementa la concentración de NPs. Aunque hay evidencia, en la literatura, de un efecto sinérgico al combinar dos o más tipos diferentes de nanopartículas, en este caso, la mezcla de nanopartículas de CuSe no presenta un mejor resultado en comparación con las NPs de cobre, esto podría ser causado por dos motivos: la GA que recubre las nanopartículas podría estar mitigando el efecto antibacteriano, evitando la liberación de iones y la molécula de CuSe podría no tener suficiente efecto antibacterial, algo de lo que no hay evidencia en la literatura.

9.3.2 Método 1 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados

En el análisis antimicrobiano de los recubrimientos aplicados en los sustratos se planteó un método que expusiera a los recubrimientos directamente a las colonias de los microorganismos por 24 horas y así poder documentar su efecto. También se planteó una modificación del mismo método para poder observar de mejor manera el efecto por microscopía óptica.

El método consistió en aplicar agar nutritivo sobre los sustratos nanoestructurados con 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0% de peso de NPs de CuSe, perforar el agar en el centro y aplicar una solución acuosa con los microorganismos de interés. Como se explicó en el apartado 8.8. Para el experimento se utilizaron: *Escherichia coli* y *Cándida albicans*. Las Figuras 25 y 26 presentan el crecimiento de las colonias de los microorganismos en contacto con el recubrimiento a diferentes concentraciones, mientras que, la Figura 24 muestra los blancos de los recubrimientos (sin inoculación), para poder realizar una comparación de textura y color y observar el crecimiento de las colonias.

En la Figura 24 se observa la textura del agar sobre la superficie del sustrato, en este caso no se inocularon, por lo cual después de las horas de incubación no presentaron algún tipo de crecimiento bacteriano, se puede notar traslucidez con un tono azul grisáceo del recubrimiento gelatinoso, se aprecia el tono oscuro de la pintura en los sustratos donde se utilizaron nanopartículas. La imagen “a” representa el sustrato con una concentración de 0% en peso, mientras que, las imágenes “b”, “c”, “d”, “e” y “f” a las concentraciones 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% y 3.0% en peso respectivamente.

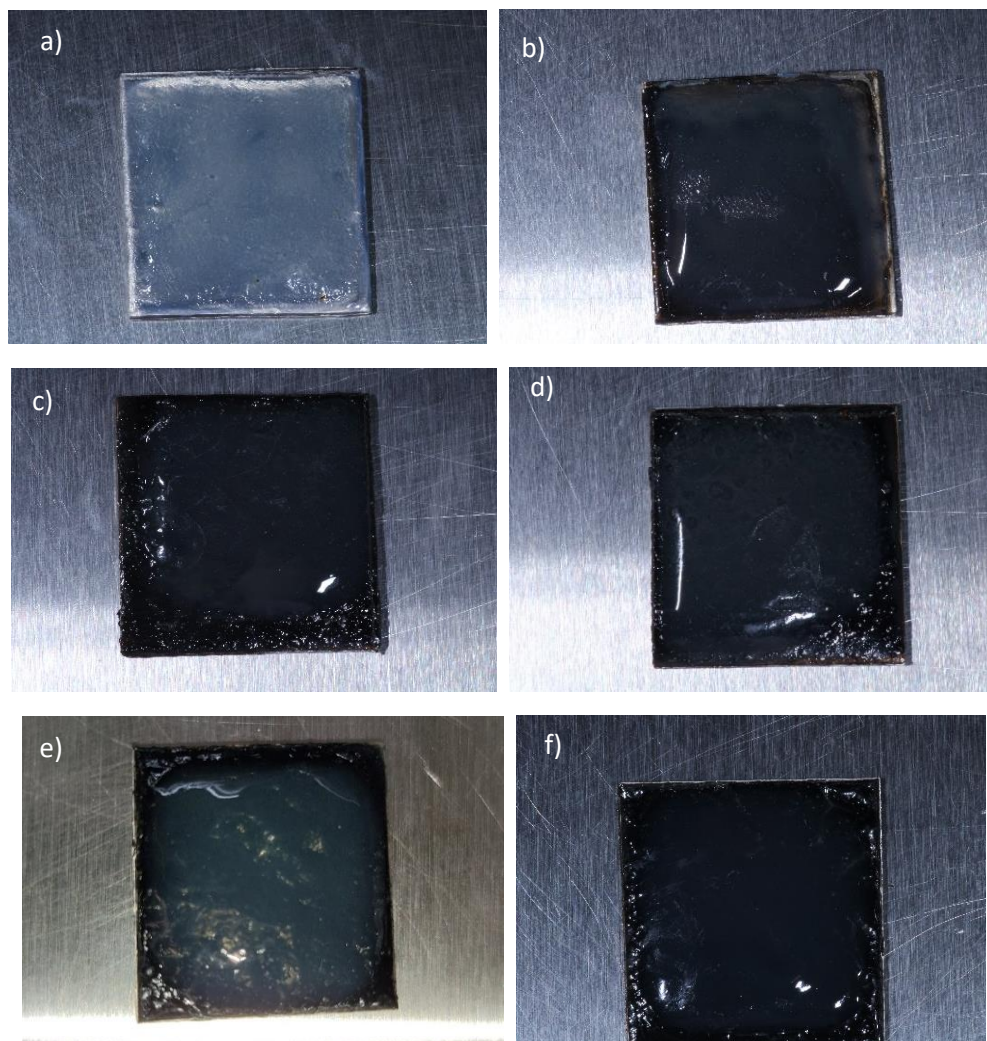


Figura 24: Sustratos de acero inoxidable con recubrimientos de NPs de CuSe a) 0% de NPs CuSe, b) 0.5% de NPs CuSe, c) 1.0% de NPs CuSe, d) 1.5% de NPs CuSe, e) 2.0% de NPs CuSe y f) 3.0% de CuSe en peso.

En las Figuras 25 y 26 podemos observar la perforación intermedia en los sustratos utilizada para la inoculación de los agares, método descrito en el apartado 8.8. Al igual que en el paquete de imágenes anterior los sustratos están acomodados de menor a mayor concentración, siendo la imagen “a” la concentración 0% en peso de nanopartículas de cobre y selenio.

En la Figura 25 se muestra el experimento realizado para *Escherichia Coli*, en el inciso “a” se puede encontrar una zona blanquizca cubriendo las paredes del pozo en el sustrato. Esta aureola cuenta con una consistencia lechosa presente en múltiples experimentos que involucran crecimiento de bacterias y también se puede notar un amarillamiento que cubre toda la superficie del sustrato, tono no presente

en la Figura 24a. Por lo cual, se puede atribuir esa tonalidad al crecimiento de las colonias de bacterias. Se puede apreciar como esta tonalidad disminuye desde la Figura 25a hasta la 25e. En la Figura 25f, la concentración de nanopartículas comienza a ser suficiente como para inhibir casi en su totalidad el crecimiento de las colonias en la superficie. Esto se puede corroborar observando la Figura 24f, donde prácticamente no se encuentran diferencia de color en la superficie del agar.

En la Figura 26 tenemos el experimento realizado para *Cándida Albicans*. En esta figurase observa que se conserva un comportamiento similar al de la figura 25, en donde se presentó una disminución de esa tonalidad desde la Figura 26a hasta la 26e dependiente de la concentración. En la Figura 26f no se observa esta tonalidad, lo cual indica una inhibición total del hongo. También se puede encontrar crecimiento del hongo en el pozo del centro del sustrato, que disminuye con el aumento de la concentración de nanopartículas. El resultado de la Figura 26f se podría deber a un error en la preparación de la muestra. Se especula que al momento de prepararla se favoreció el crecimiento del microorganismo en la zona del agar más retirada del sustrato, lo que evito la inhibición.

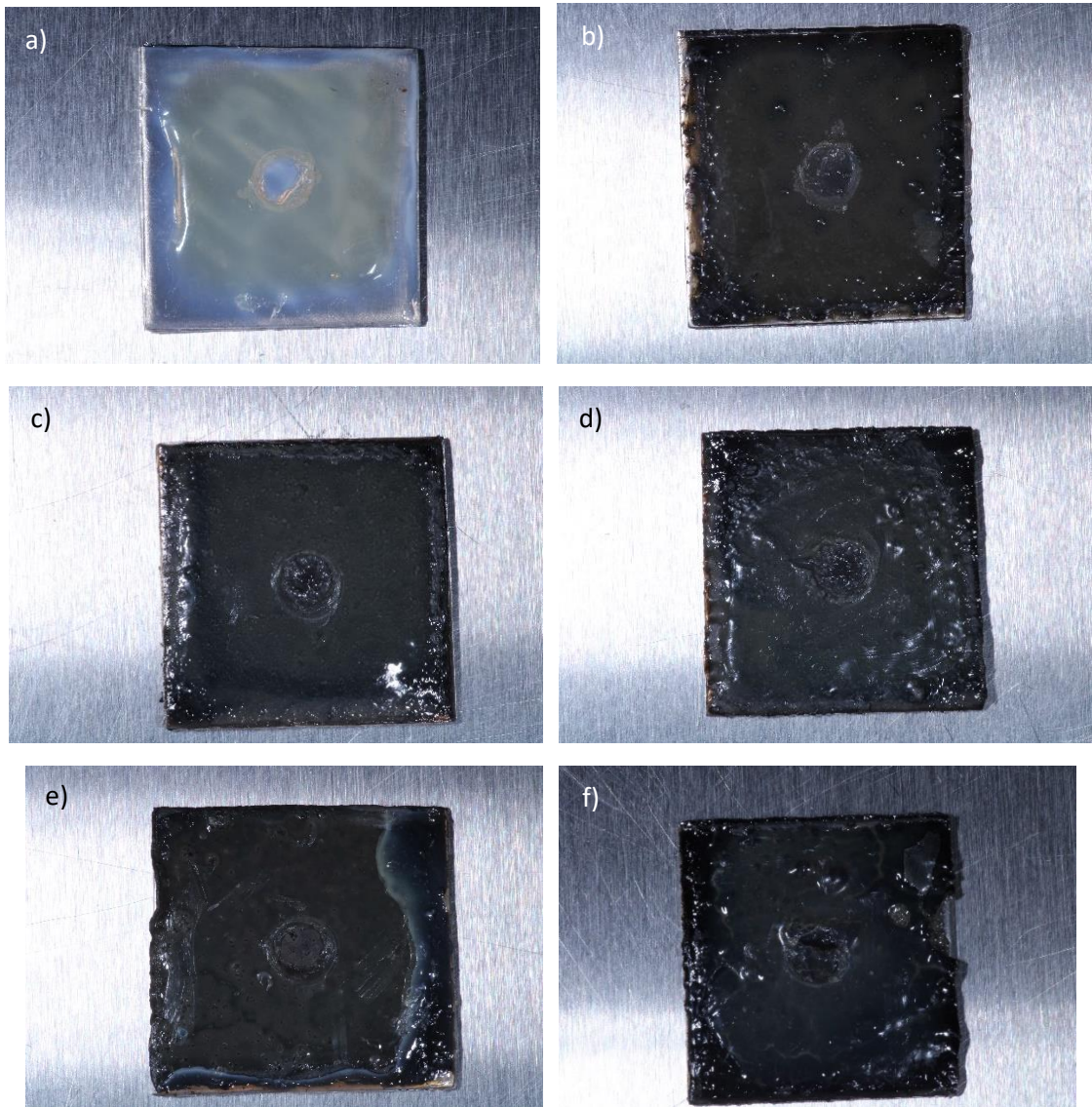


Figura 25: Sustratos de acero inoxidable con recubrimientos de NPs de CuSe en contacto con Escherichia Coli a) 0% de NPs CuSe, b) 0.5% de NPs CuSe, c) 1.0% de NPs CuSe, d) 1.5% de NPs CuSe, e) 2.0% de NPs CuSe y f) 3.0% de CuSe en peso.

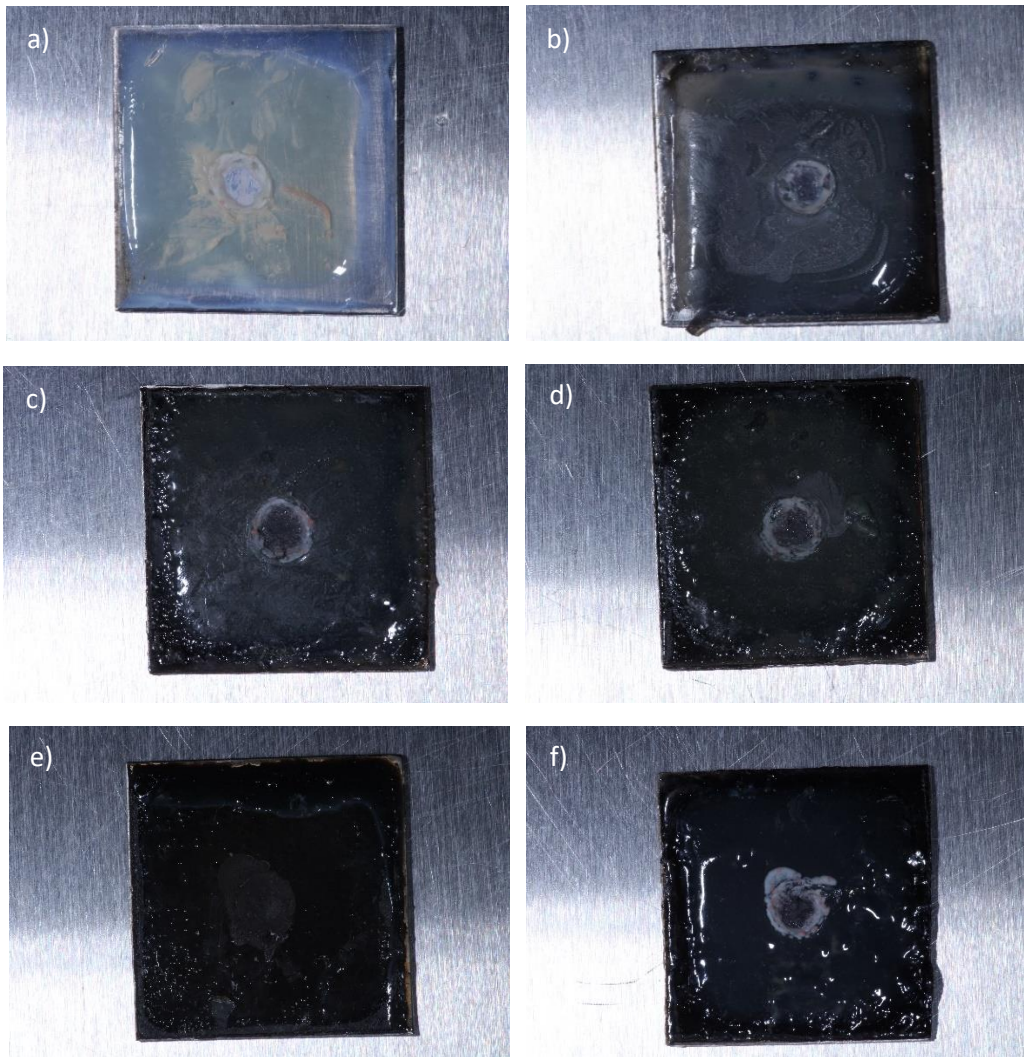


Figura 26: Sustratos de acero inoxidable con recubrimientos de NPs de CuSe en contacto con *Cándida Albicans* a) 0% de NPs CuSe, b) 0.5% de NPs CuSe, c) 1.0% de NPs CuSe, d) 1.5% de NPs CuSe, e) 2.0% de NPs CuSe y f) 3.0% de CuSe en peso.

9.3.3 Método 2 para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados

El objetivo de este método fue observar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos cuando están en contacto directo con los microorganismos. Para este experimento, los recubrimientos fueron retirados de los sustratos metálicos y se colocaron en cajas Petri con agar nutritivo, previamente inoculados. Después de 24 horas, los recubrimientos fueron retirados del agar para su posterior análisis. La Figura 27a ejemplifica la forma en que fueron colocados los recubrimientos, mientras que en la Figura 27b se observa la marca generada por el recubrimiento. Las concentraciones de NPs utilizadas y los microorganismos estudiados fueron los mismos que los presentados en el “método para caracterizar el efecto antimicrobiano de los recubrimientos nanoestructurados”.

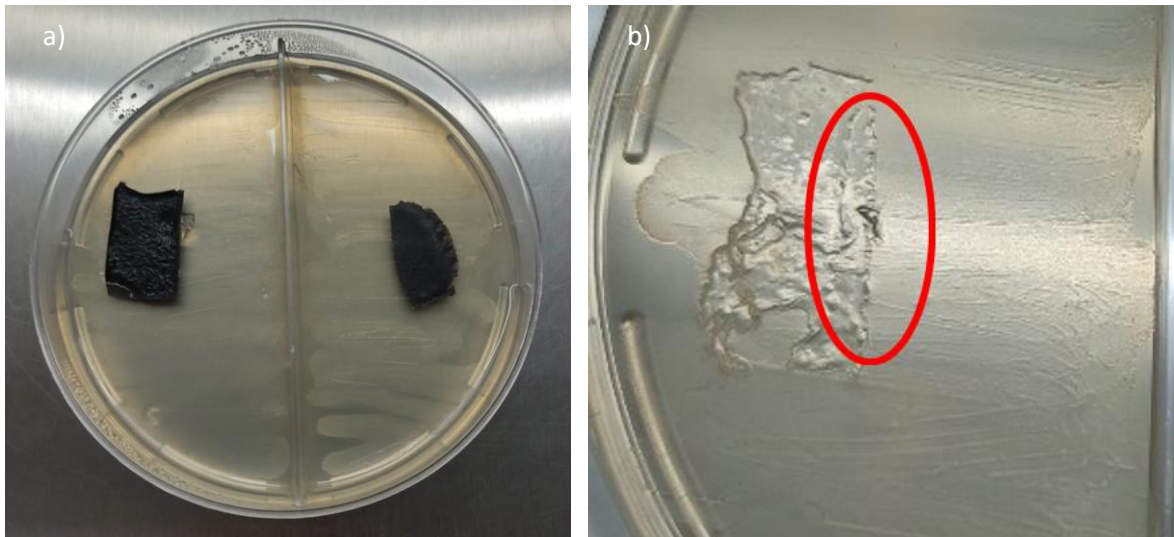


Figura 27: Representación de la aplicación de los recubrimientos de forma de película.

En las Figuras 28 y 29 se aprecian dos regiones. La región de la izquierda corresponde al área que no estuvo en contacto con el recubrimiento y la región de la derecha corresponde al área generada por el recubrimiento. En las Figuras 28 y 29 se observa el comportamiento de los microorganismos *Escherichia Coli* y *Cándida albicans*, respectivamente, en presencia de los recubrimientos con NPs de CuSe. Las Figuras 28a y 29a presentan las muestras control. En la Figura 28, se observa claramente que hay una reducción en el diámetro de las colonias que están en la zona de la derecha, comparándolas con sus respectivas zonas izquierdas. También, se observa la disminución del número de colonias al aumentar la concentración de NPs de CuSe. Esto se puede atribuir al efecto antimicrobial de las NPs. En la Figura 29, se observa una reducción en el diámetro de las colonias de *Escherichia Coli* que están en la zona de la derecha. Esta reducción es menor que en observada para el caso de *Cándida Albicans*. Sin embargo, en este caso se presenta una reducción en el número de colonias desde la concentración más baja de NPs. Además, se observa una disminución del número de colonias al aumentar la concentración de NPs de CuSe. También se puede atribuir al efecto antimicrobial de las NPs.

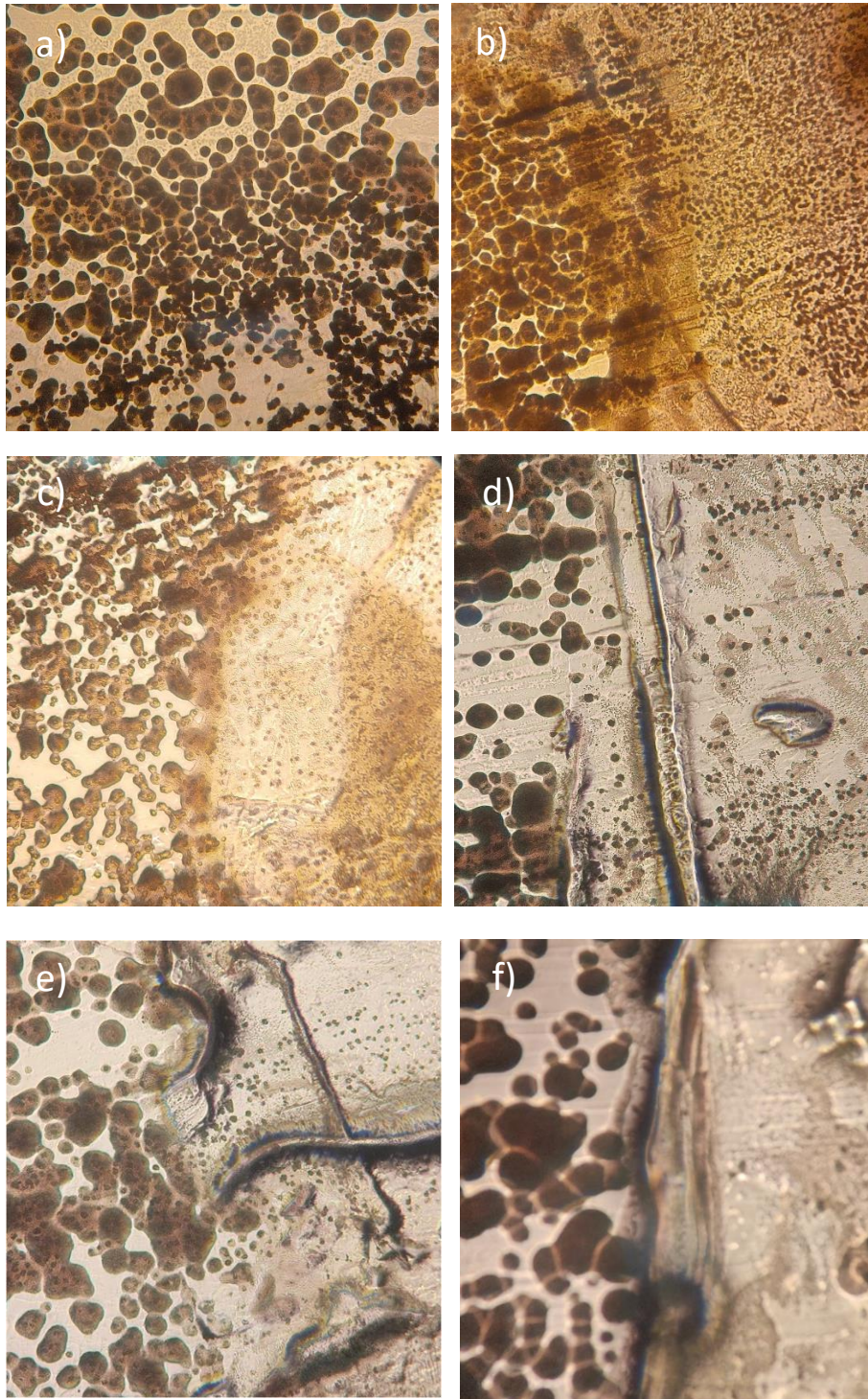


Figura 28: Crecimiento de las colonias de *Cándida albicans* después de la exposición a los recubrimientos formulados con NPs de CuSe a diferentes concentraciones: a) 0% de NPs CuSe, b) 0.5% de NPs CuSe, c) 1.0% de NPs CuSe, d) 1.5% de NPs CuSe, e) 2.0% de NPs CuSe y f) 3.0% de NPs CuSe.

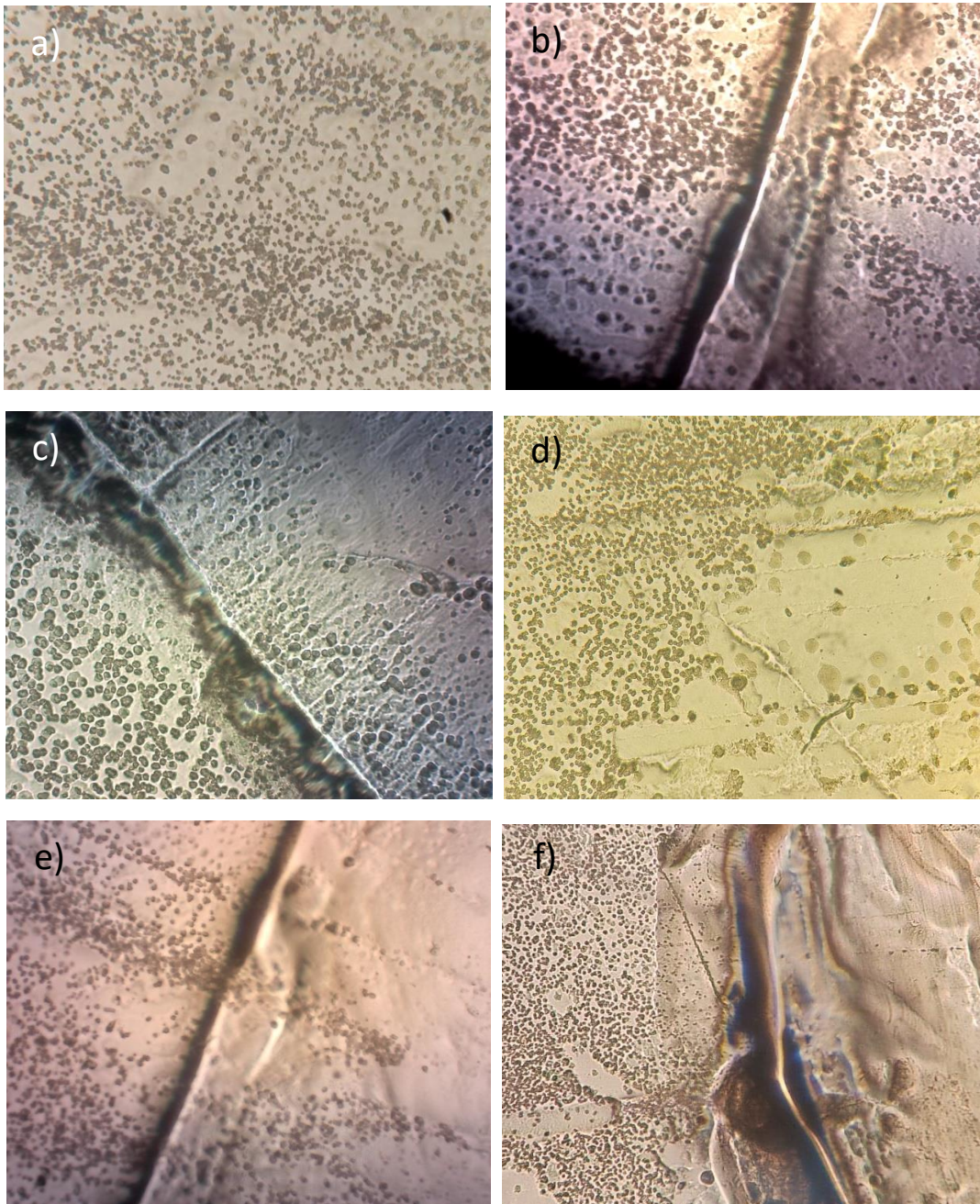


Figura 29: Crecimiento de las colonias de *Escherichia Coli* después de la exposición a los recubrimientos formulados con NPs de CuSe a diferentes concentraciones: a) 0% de NPs CuSe, b) 0.5% de NPs CuSe, c) 1.0% de NPs CuSe, d) 1.5% de NPs CuSe, e) 2.0% de NPs CuSe y f) 3.0% de NPs CuSe.

La bacteria *Escherichia coli* presentó más resistencia en comparación al hongo *Cándida albicans*, esto es debido a la complejidad de la estructura de la bacteria, donde su membrana plasmática le ofrece una protección adicional a la que

no puede acceder el hongo, este resultado se confirma en el estudio de halo de inhibición donde se puede notar como el diámetro de inhibición disminuyo para el caso de la bacteria Gram negativa [139].

10. CONCLUSIONES

En este trabajo, se obtuvieron NPs de CuSe recubiertas por goma arábica para aplicaciones de recubrimientos antimicrobianos y se concluye lo siguiente:

- La síntesis de NPs en presencia de goma arábica puede generar una mezcla de diferentes estructuras cristalinas CuSe.
- La relación de concentración cobre/selenio, la temperatura y el proceso de separación son factores que afectan la morfología, la estructura cristalina y la estabilidad térmica del sistema CuSe.
- La goma arábica tiende a recubrir las nanopartículas de CuSe, esto se demuestra con la interacción los grupos -OH entre la goma y las nanopartículas.
- La presencia de goma arábica en la superficie de las NPs CuSe evita su aglomeración y favorece la dispersión en la resina acrílica.
- La liberación de iones (cobre y selenio) fue lenta y controlada, Lo cual es indicativo de un material de larga duración. Esto podría aportar valor a la aplicación para las que se tienen planeadas las nanopartículas.

Por último, el análisis antimicrobial realizado por el método de Kirby Bauer demostró la capacidad de las nanopartículas de CuSe de inhibir el crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*. Con el análisis de los métodos aplicados a los recubrimientos nanoestructurados se encontró que desde concentraciones por arriba del 1.5% en peso se presenta una inhibición significativa de los microorganismos *Escherichia coli* y *Cándida albicans*, ya sea para la técnica sobre el sustrato (Metodo 1), como para el de la película nanoestructurada (método 2). Todas estas pruebas demostraron que las nanopartículas cuentan con actividad antimicrobiana, pero se requieren más estudios para confirmar que son eficaces en el medio marino.

11. REFERENCIAS

- [1] L Jiménez. 2009. Caracterización biológica del biofouling marino mediante métodos moleculares. aislamiento y determinación de actividad quorum sensing de las especies implicadas en el proceso. Tesis doctoral. Cádiz, España.
- [2] D Meseguer, S Kiil, K Johansen. 2004. Antifouling technology – past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Prog Org Coat.* 50(2): 75–104.
- [3] F Jaramillo, J Castaño, F Echeverria. 2011. Field study of experimental antifouling paint formulations. *Dyna*, 78(170): 135-143.
- [4] R Sánchez, F Weikert. 2020. Logística Internacional Postpandemia: Análisis de la Industria Aérea y la de Transporte Marítimo de Contenedores. *Boletín Marítimo Logístico*. CEPAL, Naciones Unidas.
- [5] T Nguyen, F Roddick, L Fan. 2012. Biofouling of Water Treatment Membranes: A Review of the Underlying Causes, Monitoring Techniques and Control Measures. *Membranes*. 2(4): 804-840.
- [6] E Almeida, T Diamantino, O de Sousa., 2007. Marine paints: The particular case of antifouling paints. *Progress in Organic Coatings*. 59(1): 2-20.
- [7] E Arias, S Feliú, M Guillén. 1970. Algunas Consideraciones y Resultados de la Aplicación de Compuestos Órgano-Metálicos de Plomo en las Formulaciones de Pinturas “Antifouling”. *Investigación Pesquera*. 34(2): 319-354.
- [8] A Katranitsas, J Catharios, G Persoone. 2003. The effects of a copper-based antifouling paint on mortality and enzymatic activity of a non-target marine organism. *Marine Pollution Bulletin*. 46(11): 1491–1494.
- [9] R Jain, N Jordan, D Schild, E Hullebusch, S Weiss, C Franzen, F Farges, R Hübner, P Lens. 2015. Adsorption of zinc by Biogenic Elemental Selenium Nanoparticles. *Journal Chemical Engineering*. 260: 855-863.
- [10]. M Arshad, M Meenhaz, A Ahmed, P Tripathi, S Ashraf, A Naqvi, A Azam. 2015. Band Gap Engineering and Enhanced Photoluminescence of Mg Doped ZnO Nanoparticles Synthesized by wet chemical route. *Journal of luminescence*. 161: 275-280.
- [11] B Jahdaly, N Al-Radadi, G Eldin, A Almahri, M Ahmed, K Shoueir, I Janowska. 2021. Selenium Nanoparticles Synthesized Using an Ecofriendly Method: Dye Decolorization from Aqueous Solutions, Cell Viability, Antioxidant, and Antibacterial Effectiveness. *Journal of Materials Research and Technology*. 11: 85-97

- [12] A Adeleye, E Oranu, M Tao, A Keller. 2016. Release and detection of nanosized copper from commercial antifouling paint. *Water Research*. 102(21): 374-382.
- [13] M Meenhaz, M Shahid, A Ansari. 2018. Synthesis and Characterization of Cu Nanoparticles by Chemical Reduction Method. AIP Conference Proceedings. 1953, 030006.
- [14] V Anad, Harshavardhan, V Srivastava. 2015. Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles by Electrochemical Method: Effect of PH. *Journal of Nano Research*. 31: 81-92.
- [15] T Sakr, K Korany, K Katti. 2018. Selenium Nanomaterials in Biomedicine-An Overview of New Opportunities in Nanomedicine of Selenium. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 46: 223-233.
- [16] R Nair, B Bindhu, L Reena. 2020. A Polymer Blend from Gum Arabic and Sodium Alginate – Preparation and Characterization. *Journal of Polymer Research*. 27: 154.
- [17] A Hassani, M Mahdi, S Azarian, W Ibrahim, A Siti, S Hussain. 2020. Preparation, Characterization and Therapeutic Properties of Gum Arabic-Stabilized Gallic Acid Nanoparticles. *Scientific Reports*. 10: 17808.
- [18] I Mates, I Antoniac, L Vasile, S Vicas, M Brocks. F Luminita, C Milea. A Mohan, S Cavalu. 2019. Selenium nanoparticles: Production, characterization and possible applications in biomedicine and food science. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 81(1): 205-216.
- [19] K Bai, B Hong, W Huang, J He. 2020. Selenium-Nanoparticles-Loaded Chitosan/Chitooligosaccharide Microparticles and Their Antioxidant Potential: A Chemical and in Vivo Investigation. *Pharmaceutics*. 12(1): 43.
- [20] J Guajardo. 2013. Síntesis de nanopartículas de cobre mediante novedosa ruta química. Tesis doctoral. San Luis Potosí, México.
- [21] A Guzman, L Verde, O León. 2014. Síntesis y Caracterización de Nanocompuestos Tipo Matriz de Policloruro de Vinilo Aditivado con Nanopartículas de Cobre (PVC/NPsCu). *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*. 17(1): 09-14.
- [22] C Rosales. 2008. Efecto de la dispersión de nanopartículas de plata en una matriz polimérica sobre sus características fisicomecánicas y antimicrobianas. Tesis de especialidad. Coahuila, México
- [23] M García, M Pérez, M Stupak, G Blustein. 2015. Hacia una Reducción del Contenido de Cobre en Pinturas Antiincrustantes. *Materia (Rio J.)*. 20(3): 697-698.

- [24] R Dastjerdi, M Montazer. 2010. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 79(1): 5-18.
- [25] J Alonso. 2011. Evaluación de efectos de biocidas contenidos en recubrimientos “antifouling” (AF coatings) en ecosistemas marinos. Tesis de maestría. Madrid, España.
- [26] M Pérez, E Stupak. 1996. Revisión Sobre los Aspectos Biológicos del “fouling”. *Anales CIDEPINT*. 10: 95-154.
- [27] OEPM. 2007. Pinturas y Recubrimientos Antifouling. *INOVAMAR. Boletín de inteligencia tecnológica*. España.
- [28] Rajgovind, G Sharma, D Gupta, N Jasuja, S Joshi. 2015. *Pterocarpus marsupium* Derived Phyro-Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles and their Antimicrobial Activities. *Journal of Microbial Biochemical Technology*. 7(3): 140-144.
- [29] R Vajtai. 2013. Springer Handbook of Nanomaterials. Springer Heidelberg.
- [30] M Balik. 2017. Heat Exchangers – Basics Design Applications. Scitus Academics.
- [31] J Lainé, C Campos, I Baudin, M Janex. 2003. Understanding Membrane Fouling: A Review of Over a Decade of Research. *Water Science & Technology: Water Supply*. 3(5-6): 155-164.
- [32] K Bell, A Mueller. 2001. Wolverine Heat Transfer Data book II. Wolverine Tube, Inc.
- [33] T Bott, L Melo. 1997. Fouling of Heat Exchangers. *Experimental Thermal and Fluid Science*. 14(4): 315.
- [34] H Steinhagen. 1993. Fouling: The Ultimate Challenge for Heat Exchanger Design. *The sixth International Symposium on Transport Phenomena in Thermal Engineering*. Seoul, Korea.
- [35] L Tejada. 2012. Actividad Biocida de Vidrios Sococalcicos que Contienen Nanopartículas de Plata o Cobre. Tesis doctoral. Madrid, España.
- [36] K Delgado. 2013. Estudio de la Obtención de Compositos con Propiedades Antimicrobiales y *Antifouling* Formados por una Matriz Polimérica y Nanopartículas a Base de Cobre. Tesis doctoral. Santiago de Chile, Chile.
- [37] R Singh, D Paul, R Jain. 2006. Biofilms: Implications in Bioremediation. *Trends Microbiology*. 14(9): 389-397.
- [38] H Flemming. 1995. Sorption Sites in Biofilms. *Water Science and Technology*. 32(8): 27-33.

- [39] E Cremonini, E Zonaro, M Donini, S Lampis, M Boaretti, S Dusi, P Melotti, M Lleo, G Vallini. 2016. Biogenic Selenium Nanoparticles: Characterization, Antimicrobial Activity and Effects on Human Dendric Cells and Firoblasts. *Microbial Biotechnology*. 9(6): 758-771.
- [40] G Candelas. 2018. Estudio y realización de base de datos de pinturas *antifouling* para embarcaciones de recreo. Tesis de obtención de grado. Barcelona, España.
- [41] S Dürr, J Thomanson. 2009. Biofouling. Blackwell Publishing Ltd.
- [42] K Marshall, W Characklis. 1990. Biofilms. Wiley-Interscience.
- [43] M Aguilar. 2019. Síntesis Verde de Nanopartículas de Ag, Au, Cu₂O y Preparación Convencional de Nanoestructuras de Cu, Cu₂O y CuO en Diferentes Morfologías Para la Evaluación de sus Propiedades Catalíticas y Ópticas. Tesis doctoral. Michoacán, México.
- [44] S Chaudhary, A Umar, S Mehta. 2016. Selenium Nanomaterials: An Overview of Recent Developments in Synthesis, Properties and Potential Applications. *Progress in Material Science*. 83: 270-329.
- [45] N Jardón, G Cadenas, C Ávila, V Comparán, L Lugo, M Pérez, S Tavizón, G Sosa. 2021. Antimicrobial Property of Polypropylene Composites and Functionalized Copper Nanoparticles. *Polymers*. 13(11): 1694.
- [46] Y López, D Gutierrez, J García. 2018. Synthesis of Nanoparticles and Their Application in Animal Nutrition. *Agroproductividad*. 11(6): 85-90.
- [47] M Pérez, G Cadenas, O Pérez, V Comparán, C Cabello, E Saucedo. 2021. Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using Cotton. *Polymers*. 13(12): 1906.
- [48] C Dong, H Cai, X Zhang, C Cao. 2013. Synthesis and characterization of monodisperse copper nanoparticles using gum acacia. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*. 57: 12-20.
- [49] D Medellín, D Navarro, S Fernández, C Ávila, G Cadenas, V Comparan. 2019. Enhancement of the Thermal Conductivity of Polypropylene with Low Loadings of CuAg Alloy Nanoparticles and Graphene Nanoplatelets. *Materials Today Communications*. 21(9): 100695.
- [50] E Roduner. 2006. Size Matters: Why Nanomaterials are Different. *Chemical Society Reviews*. 35: 583-592.
- [51] M Friederici. 2013. Nanopartículas de Au y Pd: Síntesis Funcionalización y Aplicaciones Catalíticas. Tesis doctoral. Barcelona, España.

- [52] M Salazar, D Martínez. 2017. Síntesis y Funcionalización de Nanomagnetita y su Efecto en la Cinética de Polimerización de Estireno. Tesis de maestría. Nuevo León, México.
- [53] S Chhabria, K Desai. 2016. Selenium Nanoparticles and Their Applications. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*.
- [54] W Jiang, H Mashayekhi, B Xing. 2009. Bacterial toxicity comparison between nano and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*. 157(5): 1619- 1625.
- [55] A Scott, K Vadalasetty, A Chwalibog, E Sawosz. 2017. Copper Nanoparticles as an Alternative Feed Additive in Poultry Diet: A Review. *Nanotechnology Reviews*. 7(1): 69-93.
- [56] J Ramyadevi, K Jeyasubramanian, A Marikani, G Rajakumar, A Rahuman. 2012. Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanoparticles. *Material Letters*, 71: 114-116.
- [57] A Mamun, Y Kusumoto, M Muruganandham. 2009. Simple new synthesis of copper nanoparticles in water/acetonitrile mixed solvent and their characterization. *Materials Letters*. 63(23): 2007-2009.
- [58] G Borkow, J Gabbay. 2005. Copper as a Biocidal Tool. *Current Medicinal Chemistry*. 12(18): 2163-2175.
- [59] N Febré, V Silva, A Báez, H Palza, K Delgado, I Aburto, V Silva. 2016. Antibacterial activity of copper salts against microorganisms isolated from chronic infected wounds. *Rev Med Chile*. 144(2): 1523-1530.
- [60] A Ponce, K Klabunde. 2005. Chemical and Catalytic Activity of Copper Nanoparticles Prepared Via Metal Vapor Synthesis. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 225(1): 1-6.
- [61] Z Huang, F Cui, H Kang, J Chen, X Zhang, C Xia. 2008. Highly Dispersed Silica-Supported Copper Nanoparticles Prepared by Precipitation-Gel Method: A Simple but Efficient and Stable Catalyst for Glycerol Hydrogenolysis. *Chemistry of Materials*. 20(15): 5090-5099.
- [62] M Kazemi, A Akbari, H Zarrinfar, S Soleimanpour, Z Sabouri, M Khatami, M Darroudi. 2020. Evaluation of Antifungal and Photocatalytic Activities of Gelatin-Stabilized Selenium Oxide Nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 30(38): 3036-3044.
- [63] L Nie, M Hou, T Wang, M Sun, R Hou. 2020. Nanostructured Selenium-Doped Biphasic Calcium Phosphate with in Situ Incorporation of Silver for Antibacterial Applications. *Scientific Reports*. 10(1): 1-14.
- [64] M Ruiz, A Eswayah, M Romero, P Gardiner, P Solari, M Merroun. 2020. Chemical and Structural Characterization of Se(IV) Biotransformations by

Stenotrophomonas benronirica Into Se(0) Nanostructures and Volatiles Se Species. *Environmental. Sci.: Nano.* 7: 2140-2155.

[65] S Dwivedi, A AlKhedhairy, M Ahamed, J Musarrat. 2013. Biomimetic Synthesis of Selenium Nanospheres by Bacterial Strain JS-11 and Its Role as a Biosensor for Nanotoxicity Assessment: A Novel Se-Bioassay. *PLOS ONE.* 8(3): e57404.

[66] K Badgar, J Prokisch. 2021. Preparation of Red and Grey Elemental Selenium for Food Fortification. *Acta Alimentaria.* 50(2): 289-298.

[67] K Bai, B Hong, Z Hong, J Sun, C Wang. 2017. Selenium Nanoparticles-Loaded Chitosan/Citrate Complex and Its Protection Against Oxidative Stress in D-Galactose-Induced Aging Mice. *Journal of Nanobiotechnology.* 15(1): 92.

[68] H Dong, A Quintilla, M Cemernjak, R Popescu, D Gerthsen, E Ahlswede, C Feldmann. 2013. Colloidally Stable Selenium@Copper Selenide Core@Shell Nanoparticles as Selenium Source for Manufacturing of Copper-Indium-Selenide Solar Cells. *Journal of Colloid and Interface Science.* 415: 103-110.

[69] G Guisbiers, Q Wang, E Khachatryan, L Mimun, R Mendoza, P Larese, T Webster, K Nash. 2016. Inhibition of *E. coli* and *S. aureus* with selenium nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in deionized water. *International Journal of Nanomedicine.* 11: 3731– 3736.

[70] L Geoffrion, T Hesabizadeh, D Medina, M Kusper, P Taylor, A Vernet, J Chen, A Ajo, T Webster, G Guisbiers. 2020. Naked Selenium Nanoparticles for Antibacterial Treatments. *ACS Omega.* 5(6): 2660-2669.

[71] A Guzmán, E Jiménez. 2020. Síntesis y Caracterización de Nanoestructuras Tipo Cobre-Selenio Obtenidas Mediante las Técnicas de Microondas y Mecano síntesis. *Revista de la sociedad química del Perú.* 86(4), 386-411.

[72] B Barman, K Handique, Y Nanung, P Kalita. 2020. Synthesis and Characterization of Chemically Synthesized CuSe Nanoparticles for Photovoltaic Application. *Materials today: Proceedings.* 46(14), 6213-6217.

[73] C Sanchez, M Nigen, V Mejia, T Doco, P Williams, C Amine, D Renard. 2018. Acacia Gum: History of the Future. *Food Hydrocolloids.* 78, 140-160.

[74] Y López, D Gutiérrez, J García. 2018. Synthesis of Nanoparticles and Their Application in Animal Nutrition. *Agroproductividad.* 11(6): 85-90.

[75] M Aguilar. 2019. Síntesis Verde de Nanopartículas de Ag, Au, Cu₂O y Preparación Convencional de Nanoestructuras de Cu, Cu₂O y CuO en Diferentes Morfologías Para la Evaluación de sus Propiedades Catalíticas y Ópticas. Tesis doctoral. Michoacan, Mexico.

- [76] S Mozaffari, W Li, C Thomson, S Ivanov, S Seifert, B Lee, L Kovarik, A Karim. 2018. Ligand-Mediated Nucleation and Growth of Palladium Metal Nanoparticles. *Journal of Visualized Experiments*. 136: 1-11.
- [77] H Ullah, S Ali. 2017. Classification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions 1 ed. Antibacterial Agents. IntechOpen.
- [78] B Newton. 1965. Mechanisms of Antibiotic Action. *Annual Review of Microbiology*. 19(1): 209-240.
- [79] D Nies. 2003. Efflux-Mediated Heavy Metal Resistance in Prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*. 27(2-3): 313-339.
- [80] D Rouch, T Lee, P Morby. 1995. Understanding Cellular Responses to Toxic Agents: A Model for Mechanism-Choice in Bacterial Metal Resistance. *J. Ind. Microbiol.* 14(2): 132-141.
- [81] K Kitamoto, K Yoshizawa, Y Ohsumi, Y Anraku. 1988. Dynamic Aspects of Vacuolar and Cytosolic Amino Acid Pools of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*. 170(6): 2683-2686.
- [82] M Mergeay. 1991. Towards an Understanding of the Genetics of Bacterial Metal Resistance. *Trends Biotechnology*. 9(1): 17-24.
- [83] J Hudzicki. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. 15, 55-63.
- [84] C Cervantes, F Gutierrez. 1994. Copper Resistance Mechanisms in Bacteria and Fungi. *FEMS Microbiology Reviews*. 14(2): 121-138.
- [85] M Bruins, S Kapil, F Oehme. 2000. Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 45(3): 198-207.
- [86] P Chumsamrong, J Mondobyai. 2007. Preparation, Adhesive Performance and Stability of Natural Rubber Latex Grafted with N-Butylacrylate (BA) and Methyl Methacrylate (MMA). *Advanced Materials Research*. 47-50: 1149-1152.
- [87] I Hasanzadeh, M Barikani, A Mahdavian. 2016. Ultrasound-Assisted Emulsion Polymerization of Poly(methyl methacrylate-co-butyl acrylate): Effect of Initiator Content and Temperature. *Polymer Engineering & Science*. 56(2): 214-221.
- [88] X Luo, Y Liao, H Xie, Q Huang, W Li. 2016. Polyethylene-supported poly(methyl methacrylate-co-butyl acrylate)-based novel gel polymer electrolyte for lithium ion battery. *Ionics*. 22(7): 1035-1042.
- [89] M Avci, A Sarac. 2013. Transparent poly(methyl methacrylate-co-butyl acrylate) nanofibers. *Applied Polymer Science*. 130(6): 4264-4272.

- [90] B Zhong, D Chen, Z Zhou. 1998. Curing Behavior of Self-Crosslinkable Polyacrylate Coating: TBA and *In Situ* FTIR Studies. *Journal of Applied Polymer Science*. 69(8), 1599-1606.
- [91] L Shtykova, D Ostrovskii, P Handa, K Holmberg, M Nydén. 2004. NMR Diffusometry and FTIR in the Study of the Interaction Between Antifouling Agent and Binder in Marine Paints. *Progress in Organic Coatings*. 51(2), 125-133.
- [92] S Knjazhanski, L Elizalde, G Cadenas, B Bulychev. 1998. Polymerization of methyl methacrylate with alane complexes of bivalent lanthanidocenes. *Journal of Organometallic Chemistry*. 568 (1998): 33-40.
- [93] S Knjazhanski, L Elizalde, G Cadenas, B Bulychev. 1998. Unbridged bivalent lanthanidocenes for isotactic and stereomultiblock polymerization of methyl methacrylate. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry*. 36 (10): 1599-1606.
- [94] X Sheng, D Xie, W Yang, X Zhang, L Zhong. 2016. High Solid Content Poly(Butyl Acrylate)/Poly(Methyl Methacrylate) Core/Shell Nanosized Spheres Synthesized by Microemulsion polymerization. *Micro & Nano Letters*. 11(3), 164-168.
- [95] L de la fuente, M Fernandez, M Garcia, E Lopez. 2001. Sequence Distribution and Stereoregularity of Methyl Methacrylate and Butyl Acrylate Statistical Copolymers Synthesized by Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules*. 34(17), 5833-5837.
- [96] R Cuervo, M Fernandez, M Garcia, E Madruga. 2000. Determination of the Sequence Distribution and Stereoregularity of Ethyl α -Benzoyloxymethylacrylate-Methyl Methacrylate Copolymers by Means of Proton and Carbon-13 NMR. *Polymer Chemistry*. 35(16), 3483-3493.
- [97] A Aerdt, A German. 1994. Determination of the Reactivity Ratios, Sequence Distribution and Stereoregularity of Butyl Acrylate-Methyl Methacrylate Copolymers by Means of Proton and Carbon-13 NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 32: 80-88.
- [98] G Caroling, E Vinodhini, A Ranjitham, P Shanti. 2015. Biosynthesis of Copper Nanoparticles Using Aqueous Phyllanthus Embilica (Gooseberry) Extract-Characterization and Study of Antimicrobial Effects. *International Journal of Nanomaterials and Chemistry*. 1(2): 53-63.
- [99] D Nguyen, P Dang, Q Le, L Kim, H Nguyen, N Tran, H Bao, T Dinh, H Mahn. 2021. Preparation and Effect of Selenium Nanoparticles/Oligochitosan on the White Blood Cell Recovery of Mice Exposed to Gamma-Ray Radiation. *Journal of Chemistry*. 2021: 1-9.
- [100] Z Haris, A Khan. 2017. Selenium Nanoparticle Enhanced Photodynamic Therapy against Biofilm forming *Streptococcus mutants*. *The International Journal of Life-Sciences Scientific Research*. 3(5): 1287-1294.

- [101] C Mellinas, A Jiménez, M Garrigós. 2019. Microwave-Assisted Green Synthesis and Antioxidant Activity of Selenium Nanoparticles Using Theobroma Cacao L. Bean Shell Extract. *Molecules*. 24(22): 4048.
- [102] V Singh, A Pandey, Preeti, J Singh, T Malviya. 2016. Gum acacia-CuNP-silica hybrid: an effective stable and recyclable catalyst for reduction of nitroarenes. *RSC Advances*. 6: 31074-31082.
- [103] A Tugarova, P Mamchenkova, Y Diatlova, A Kamnev. 2017. FTIR and Raman spectroscopic studies of selenium nanoparticles synthesised by the bacterium *Azospirillum thiophilum*. *Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 192: 458–463.
- [104] A. Muñoz. 2014. Síntesis, caracterización y evaluación de la actividad microbiana de nanomateriales de cobre. Tesis de maestría. Aguascalientes, México.
- [105] F Bezza, S Tichapondwa, E Chirwa. 2020. Fabrication of monodispersed copper oxide nanoparticles with potential application as antimicrobial agents. *Scientific Reports*. 10(1): 16680.
- [106] G Xiao, J Ning, Z Liu, Y Sui, Y Wang, Q Dong, B Liu, B Zou, W Tian, G Zou. 2012. Solution synthesis of copper selenide nanocrystals and their electrical transport properties. *CrystEngComm*, 14(6): 2139-2144.
- [107] H Hu, X Ge, C Deng, M Sun, H Xuan, K Zhang. 2013. Copper Selenide (CuSe and Cu₂Se) Nanocrystals: Controllable Synthesis Through a Facile Ultrasonic Chemical Route. *Asian Journal of Chemistry*. 25(10): 5516-5518.
- [108] S Sonia, P Suresh, D Mangalaraj, N Ponpandian, C Viswanathan. 2013. Influence of Growth and Photocatalytic Properties of Copper Selenide (CuSe) Nanoparticles Using Reflux Condensation Method. *Applied Surface Science*. 283, 802-807.
- [109] J Xiao, H Liu, J Huang, Y Lu, L Zhang. 2020. Decahedron Cu_{1.8}Se/C Nano-Composites Derived from Metal -Organic Framework Cu-BTC as Anode Materials for High Performance Lithium-Ion Batteries. *Applied Surface Science*. 526(1).
- [110] X Chen, Z Li, J Yang, Q Sun, S Dou. 2015. Aqueous preparation of surfactant-free copper selenide nanowires. *Journal of Colloid and Interface Science*. 442: 140-146
- [111] R Sierra, M Pérez, G Cadenas, V Comparán, C Ávila, O Pérez, E Jiménez, E Hernández, R Jiménez. 2015. Synthesis of Copper Nanoparticles Using Mixture of Allylamine and Polyallylamine. *Journal of Nanomaterials*. 2015(5): 1-9.
- [112] P Kumar, K Singh, O Srivastava. 2010. Template free-solvothermally synthesized copper selenide (CuSe, Cu_{2-x}Se, β-Cu₂Se and Cu₂Se) hexagonal

nanoplates from different precursors at low temperature. *Journal of Crystal Growth*. 312(19): 2804-2813.

[113] M Achimovičová, M Baláz, V Girman, J Kurimsky, J Briančin, E Dutková, K Gáborova. 2020. Comparative Study of Nanostructured CuSe Semiconductor Synthesized in a Planetary and Vibratory Mill. *Nanomaterials*. 10(10): 2038.

[114] R Lord, J Fanghanel, C Holder, I Dabo, R Schaak. 2020. Colloidal Nanoparticles of a Metastable Copper Selenide Phase with Near-Infrared Plasmon Resonance. *Chemistry of Materials*. 32: 10227-10234.

[115] D Thuy, L Nguyen. 2011. Synthesis, Structural and Photocatalytic Characteristics of Nano-Cu_{2-x}Se. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 2 (2011): 045003.

[116] V Maragoni, D Ayodhya, A Madhusudhan, G Veerabhadram. 2012. Synthesis of Stable Silver Nanoparticles Using Gum Acacia as Reducing and Stabilizing Agent and Study of Its Microbial Properties: A Novel Green Approach. *International Journal of Green Nanotechnology*. 4(3): 199-206.

[117] W Chen, Y Li, S Yang, L Yue, Q Jiang, W Xia. 2015. Synthesis and Antioxidant Properties of Chitosan and Carboxymethyl Chitosan-Stabilized Selenium Nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*. 132: 574-581.

[118] M Velayati, H Hassani, Z Sabouri, A Mostafapour, M Darroudi. 2021. Biosynthesis of Se-Nanorods using Gum Arabic (GA) and Investigation of Their Photocatalytic and Cytotoxicity Effects. *Inorganic Chemistry Communications*. 128: 108589.

[119] M Mazhar, S Bakhtawar, A Rana, M Usmani, N Akhtar, W Abbas, K Khan, J Ahmad. 2019. Insight into the Structural Characterization of Pure and Zr-Doped Hydrothermally Synthesized Cerium Oxide Nanoparticles. *Materials Research Express*. 6(10).

[120] M Zohuriaan, F Shokrolahi. 2004. Thermal Studies on Natural and Modified Gums. *Polymer Testing*. 23(5): 575-579.

[121] A Jadhav, P Khanna. 2015. Impact of Microwave Irradiation on Cyclo-Octeno-1,2,3-Selenadiazole: Formation of Selenium Nanoparticles and Their Polymorphs. *RSC Advances*. 5: 44756-44763.

[122] R Daoub, A Elmubarak, M Misran, E Hassan, M Osman. 2018. Characterization and Functional Properties of Some Natural Acacia Gums. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 17: 241-249.

[123] J Jamaludin, F Adam, A Rasid, Z Hassan. 2017. Thermal Studies on Arabic Gum – Carrageenan Polysaccharides Film. *Chemical Engineering Research Bulletin*. 19: 80-89.

- [124] M Farooq, S Sagbas, M Yildiz, K Meral, M Siddiq, N Aktas, N Sahiner. 2017. Gum Arabic Microgels as Template for *In Situ* Metal-Sulfide Based Quantum Dots Preparation and Their Thermal, Spectroscopic, Optical, and Magnetic Characterization. *The Minerals, Metals & Materials Society*. 46(7): 4373-4383.
- [125] I Garba, Z Abidin, J Chi, M Mustapha, H Baqiah. 2020. Influence of Tartaric Acid Concentration on Structural and Optical Properties of CuSe Nanoparticles Synthesized Via Microwave Assisted Method. *Results in Physics*. 17: 1-12.
- [126] J Liew, Z Abidin, Z Zainal, M Ahmad, N Osman, H Lee. 2019. Structural and Transport Mechanism Studies of Copper Selenide Nanoparticles. *Semiconductor Science and Technology*. 34(12): 125017.
- [127] M Farooq, S Sagbas, M Yildiz, K Meral, M Siddiq, N Aktas, N Sahiner. 2017. Gum Arabic Microgels as Template for *In Situ* Metal-Sulfide Based Quantum Dots Preparation and Their Thermal, Spectroscopic, Optical, and Magnetic Characterization. *The Minerals, Metals & Materials Society*. 46(7): 4373-4383.
- [128] X Chen, Z Li, S Xue. 2015. Ambient Facile Synthesis of Gram-Scale Copper Selenide Nanostructures from Commercial Copper and Selenium Powder. *Applied Materials & Interfaces*. 7(24): 13295-13302.
- [129] S Chaudhary, P Chauhan, R Kumar, K Bhasin. 2018. Toxicological Responses of Surfactant Functionalized Selenium Nanoparticles: A Quantitative Multi-Assay Approach. *Science of the Total Environment*. 643: 1265-1277.
- [130] P Sandoval, Y Baena, M Aragón, J Rosas, L Ponce. Overall Mechanisms that Rule the Active Pharmaceutical Ingredient's Delivery Process from Hydrophilic Matrices Elaborated with Ether Cellulose. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*. 37(2): 105-121.
- [131] F Caro, L López, J Mendoza, W Monal, F Goycoolea, E Carvajal, Y López. 2019. Métodos de Preparación de Nanopartículas de Quitosano: Una Revisión. *Biotecnía*. 11(3): 13-25.
- [132] A Kumari, S Kumar, S Yadav. 2009. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 75(1): 1-18.
- [133] D Paredes. 2015. Síntesis de Nanopartículas Metálicas Nano encapsuladas con Actividad Antimicrobiana y Liberación controlada Frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Bucaramanga, Colombia.
- [134] J Aragón, R González, G Fuentes. 2009. Cinética de Liberación de Cefalexiana desde un Biomaterial Compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO₃. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 75(3): 345-363.

- [135] L Calderón, E Lecumberri, R Harris, M López, N Acosta, A Heras. 2011. Chemical Properties of Chitosan as a Marine Cosmeceutical. *Marine Cosmeceuticals Trends and Prospects*. 39-51.
- [136] J Mayoral, A Cuadros, E Martínez. 2014. Potencial Zeta en la Determinación de Carga Superficial de Liposomas. *Latin-American Journal of Physics Education*. 8(4): 4319-1-4319-6.
- [137] M Suárez, C Brito. 2019. Encapsulation Efficiency and Load Capacity of Anthocyanins of *Vaccinium floribundum* Kunt in Zein Nanoparticle. *infoANALÍTICA*. 8(1): 83-97.
- [138] L Sandoval, L Montellano, M Piña, L Sánchez, Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. 2000. Potencial Zeta como una Herramienta para Determinar la Aglomeración de las Partículas en la Reducción del Volumen del Lodo a Disponer. Instituto Mexicano de Tecnología el agua.
- [139] A Satyvaldiev, Z Zhasnakunov, E Omurzak, T Doolotkeldieva, S Bobusheva, G Orozmatova, Z Kelgenbaeva. 2018. Copper Nanoparticles: Synthesis and Biological Activity. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 302: 012075.
- [140] F Sznajder. 2021. Polisacaridos de la goma brea. Caracterización estructural, reológica y modificaciones químicas. Tesis doctoral. Buenos Aires, Argentina.
- [141] S Nie, C Wang, S Cui, Q Wang, M Xie, G Phillips. 2013. A Further Amendment to the Classical Core Structure of Gum Arabic (Acacia Senegal). *Food Hydrocolloids*. 31 (2013): 42-48.

12. ANEXOS

12.1 Estructura química de la goma arábica

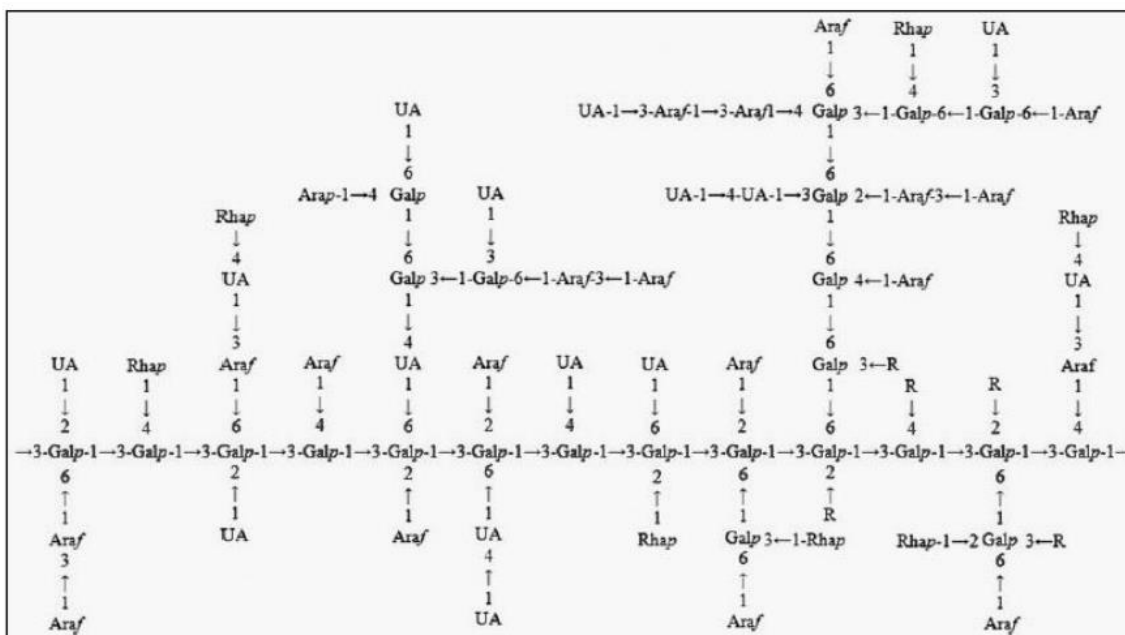


Figura 30: Estructura química de la goma arábica propuesta por Frank Sznajder [140] basada en los trabajos de Nie et. al. [141]. Los fragmentos de Galp, Araf y Rhap de la estructura corresponden con β -D-galactopiranososa, L-arabinofuranosa y α -L-rhamnopyranosa respectivamente. Mientras que UA corresponde a un ácido urónico.