

Técnicas de modificación de superficies mediante nanotecnología sobre materiales poliméricos, metálicos, madera, textiles y cerámicos - NANOSURF

Paquete de trabajo 3 – CARACTERIZACIÓN DE RECUBRIMIENTOS. CONVERGENCIAS.

ENTREGABLE 8: CARACTERIZACIÓN DE TRATAMIENTOS SUPERFICIALES. CONVERGENCIAS.

Programa:	PROGRAMA DE PROYECTOS DE I+D EN COLABORACIÓN
Expediente:	IMDECA/2016/56
Fecha:	Diciembre 2016
Ejecutado por:	AIMPLAS/AIDIMME/ITC/AITEX

1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE PRINCIPIOS ACTIVOS.

MICROCÁPSULAS DE SALVIA

En la figura 1 se muestra una micrografía obtenida de las microcápsulas de salvia utilizadas.

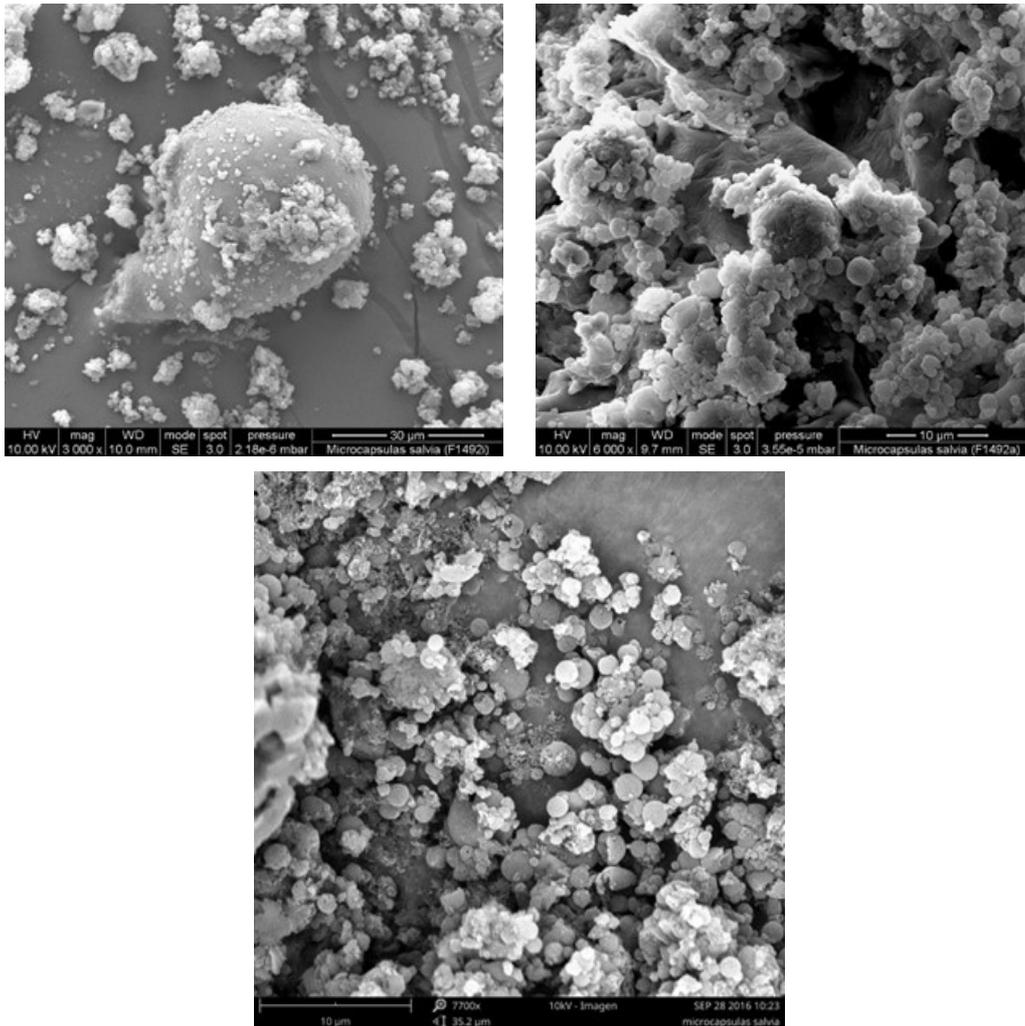


Figura 1. Micrografías de las microcápsulas de salvia

En las micrografías obtenidas se puede observar que la muestra presenta aglomerados hasta de 50 µm de diámetro. Dichos aglomerados están formados por partículas nanométricas.

NANOFIBRAS

La caracterización morfológica por SEM muestra las siguientes imágenes:

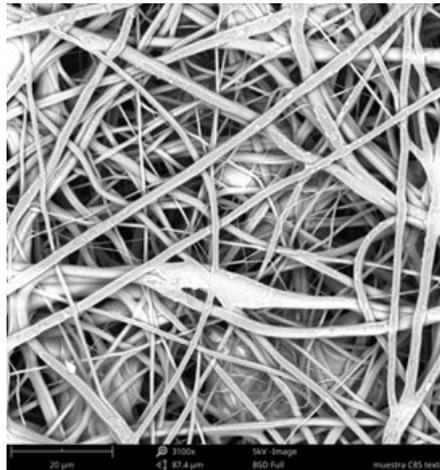
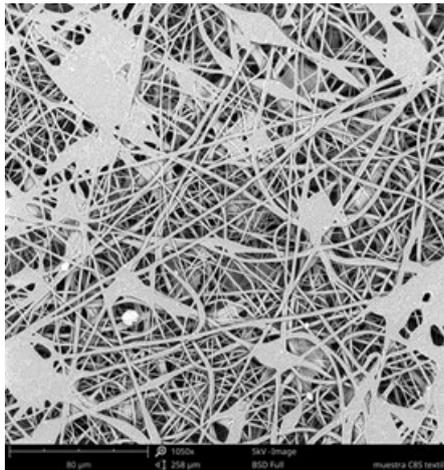
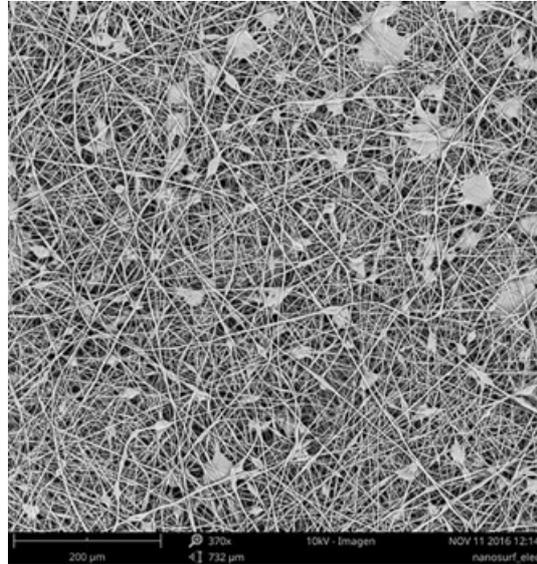


Figura 2. Muestra C– 8S. Visión SEM a x1000 y x3000.

La determinación de los tamaños de las nanofibras fue el siguiente:



Figura 3. Histogramas de frecuencia muestra con adición de salvia (Muestra C-8S1 (90% Microfibra + 10 % Poliuretano))

ZEOLITAS

La caracterización morfológica por SEM muestra las siguientes imágenes:

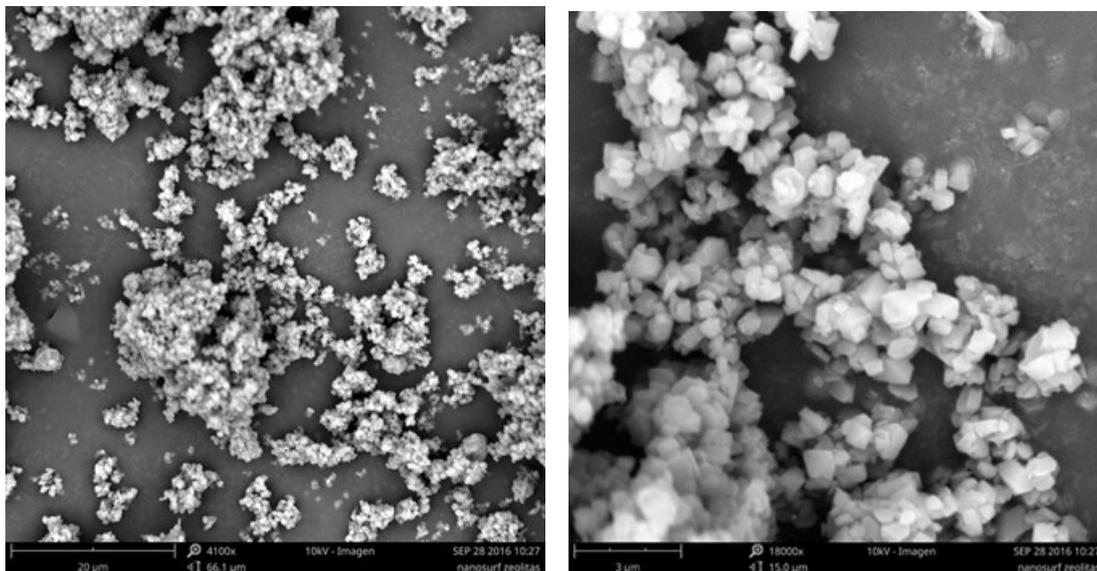


Figura 4. Micrografías de las zeolitas.

Se llevó a cabo la caracterización composicional de las zeolitas, para lo cual se determinó la humedad de cada una de ellas y la concentración de Ag y de Cu mediante WD-FRX.

Determinación del contenido de Ag y de Cu en las muestras de zeolita y nanozeolita

La determinación de Ag y Cu en las muestras de zeolita se llevó a cabo mediante espectrometría de fluorescencia de rayos X por dispersión de longitudes de onda (WD-FRX), utilizando

materiales de referencia que garantizan la trazabilidad de las medias. El equipo utilizado fue un espectrómetro modelo AXIOS de la firma PANalytical con tubo de Rh y 4 kW de potencia.

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de Ag en las zeolitas, y en la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de Ag y Cu en las nanozeolitas.

Tabla 1. Resultados de la determinación de Ag en las zeolitas

Muestra	Humedad (%) (110°C, 24 h)	Concentración de Ag (%)
A1	40,0	1,1
A2	23,5	1,2
B1	6,3	1,5
B2	49,1	1,9

Tabla 2. Resultados de la determinación de Ag y Cu en las nanozeolitas

Zeolita	Humedad (%)	Concentración de Cu (sobre muestra seca) (%)	Concentración de Ag (sobre muestra seca) (%)
C1: CBV 10-A ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1$)	33,4	0,8	-
C2: CBV 10-A ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	20,5	1,1	-
D1: CBV 100 ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	32,1	1,3	-
E1: FAUX ($\text{AgNO}_3 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	44,2	-	1,9
E2: FAUX ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	50,9	1,3	-
F1: LTL ($\text{AgNO}_3 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	41,7	-	1,7
F2: LTL ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	36,7	1,1	-
G1: LTA ($\text{AgNO}_3 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	34,7	-	1,7
G2: LTA ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 / \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1 / 1.5$)	47,6	1,2	-

ÓXIDO DE GRAFENO (GO)

La caracterización morfológica por SEM del óxido de grafeno muestra las siguientes imágenes:

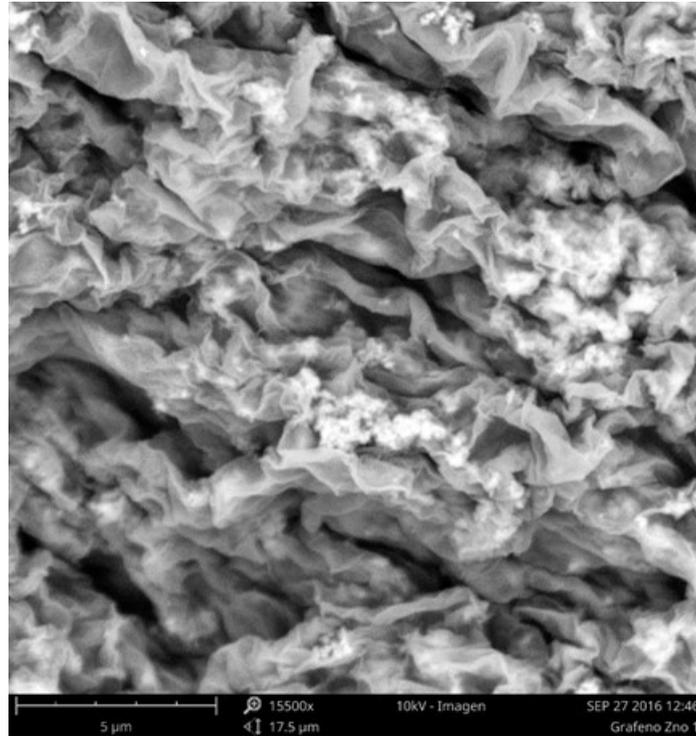


Figura 5. Microfotografías de óxido de grafeno.

El ZnO adsorbido en la superficie del grafeno muestra la siguiente morfología:

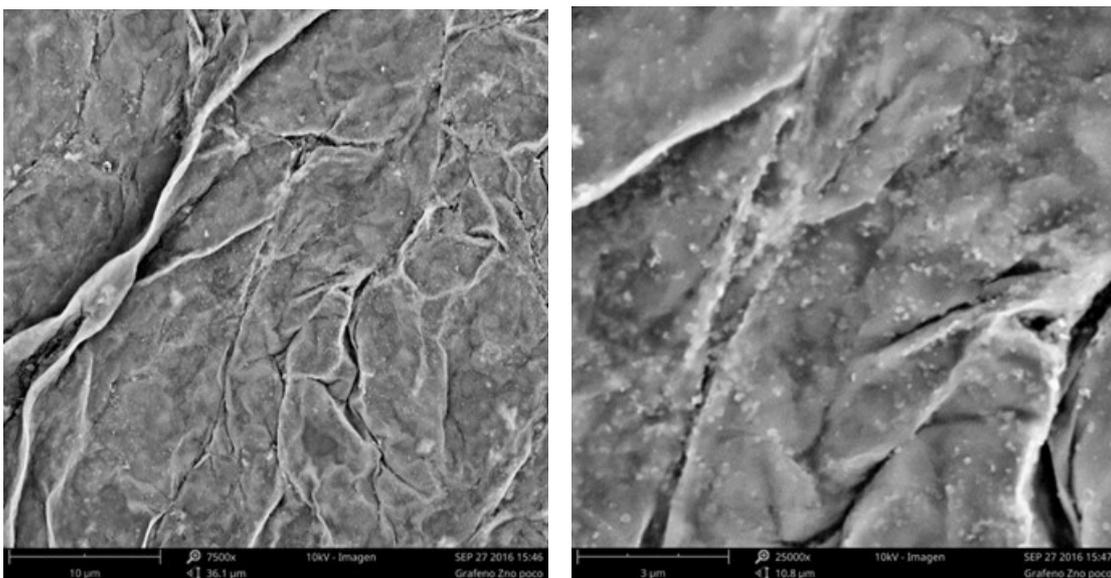


Figura 6. Microfotografías de óxido de grafeno con ZnO.

SÍLICA FLUORADA

La caracterización morfológica por SEM de las sílicas fluoradas muestra las siguientes imágenes:

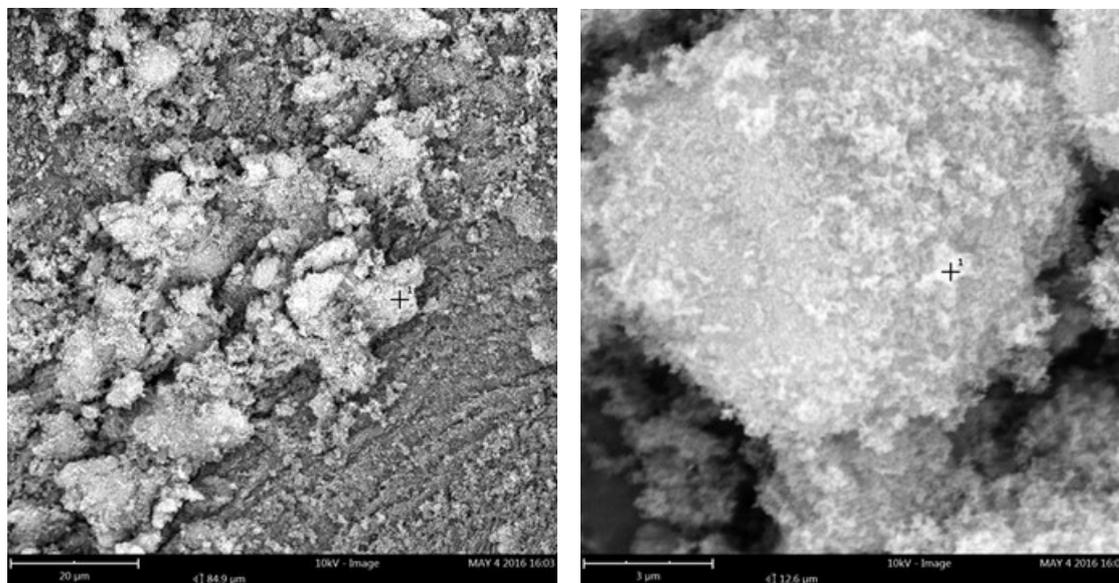


Figura 7. Microfotografías de sílicas fluoradas.

2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE RECUBRIMIENTOS.

SUPERFICIES METÁLICAS

Los materiales recibidos presentaban las siguientes referencias:

- Muestra 1: Aluminio B2
- Muestra 2: Aluminio D1
- Muestra 3: E1
- Muestra 4: E2

Se llevó a cabo el estudio de las muestras por microscopia electrónica de barrido (MEB) con objeto de conocer su microestructura y la distribución de los principios activos (Ag y Cu).

Ensayos realizados

Las muestras se observaron y fotografiaron con la señal de electrones retrodispersados del microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FEG-ESEM Quanta 200F). Dicha señal proporciona información sobre la topografía y composición. Es tanto más intensa cuanto mayor es el número atómico medio de la muestra, de manera que las zonas más claras contienen elementos más pesados (contraste de composición).

Asimismo, las muestras se analizaron con un equipo de microanálisis por dispersión de energías de rayos X (EDX) conectado al microscopio. Cabe destacar que el volumen de interacción del haz de electrones es del orden o superior a $3\mu\text{m}$, por lo que, en el caso de analizar zonas muy pequeñas, puede recibirse información química procedente de los alrededores. Además, hay que considerar que con este sistema de análisis se detectan los elementos de número atómico igual o mayor que 6 (desde el carbono).

Resultados y discusión

Las micrografías y los análisis EDX efectuados se incluyen a continuación.

En cuanto a la muestra N°4: E2, no se ha sometido al estudio por MEB debido a que la superficie de dicha muestra no era continua, estaba muy cuarteada.

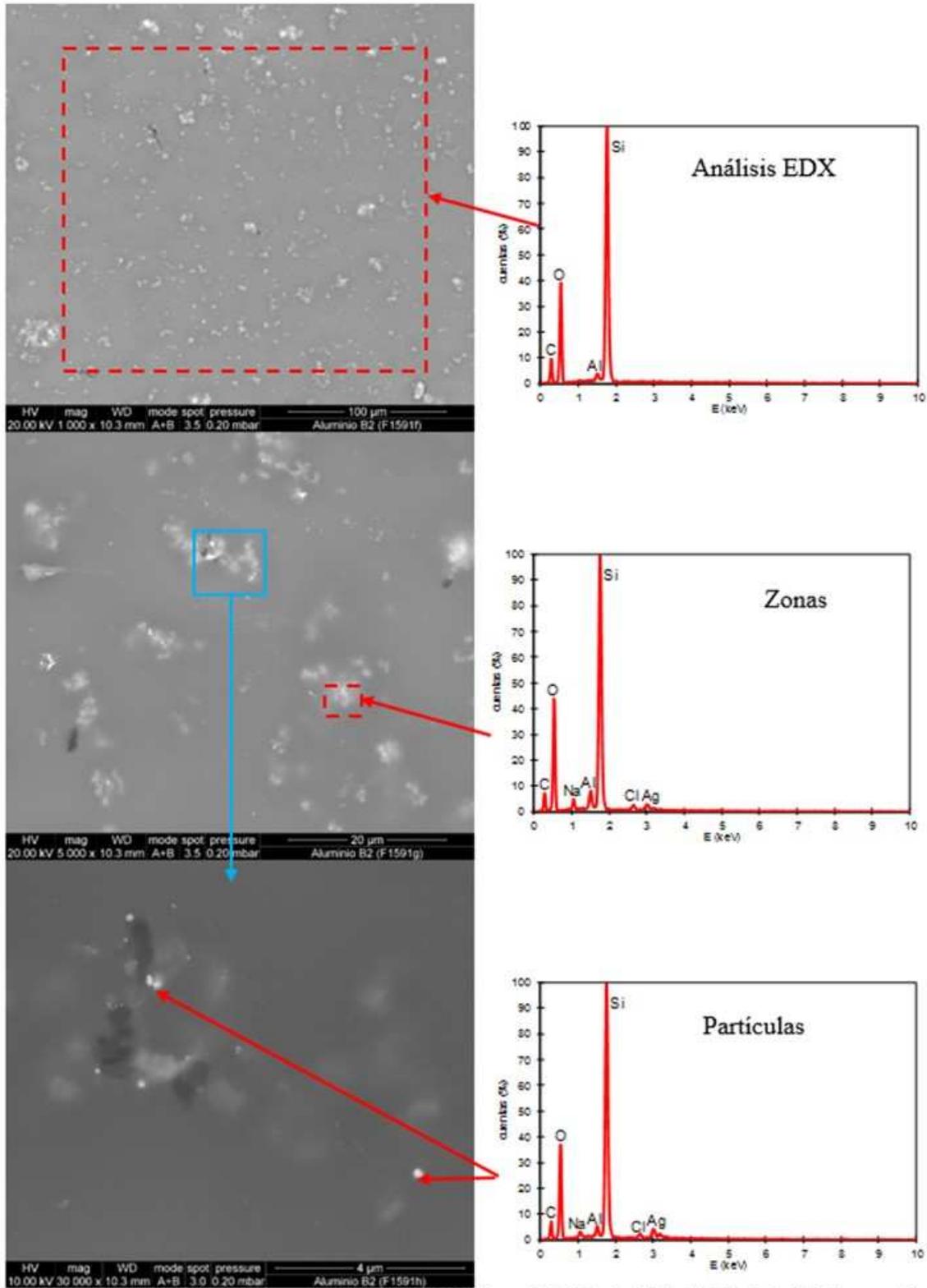


Figura 8. Superficie de la muestra “Aluminio B2” vista al MEB. Análisis EDX global de la superficie, análisis EDX de las zonas claras y de las partículas nanométricas, blancas y brillantes al MEB.

En los resultados obtenidos en el análisis global se observa que la zeolita se encuentra distribuida homogéneamente en la superficie de la muestra. En los análisis puntuales de las zonas claras, se ha detectado la presencia de plata.

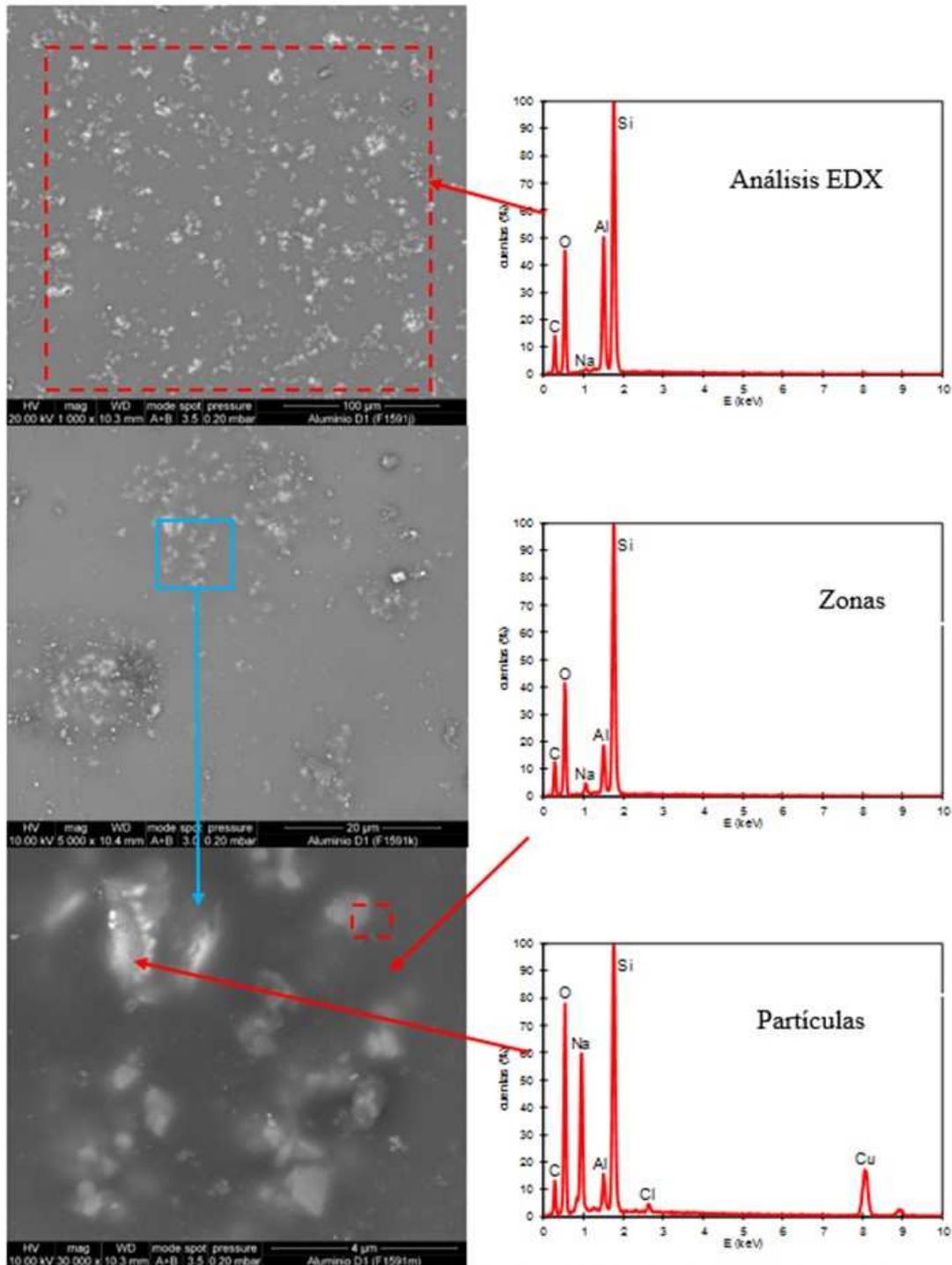
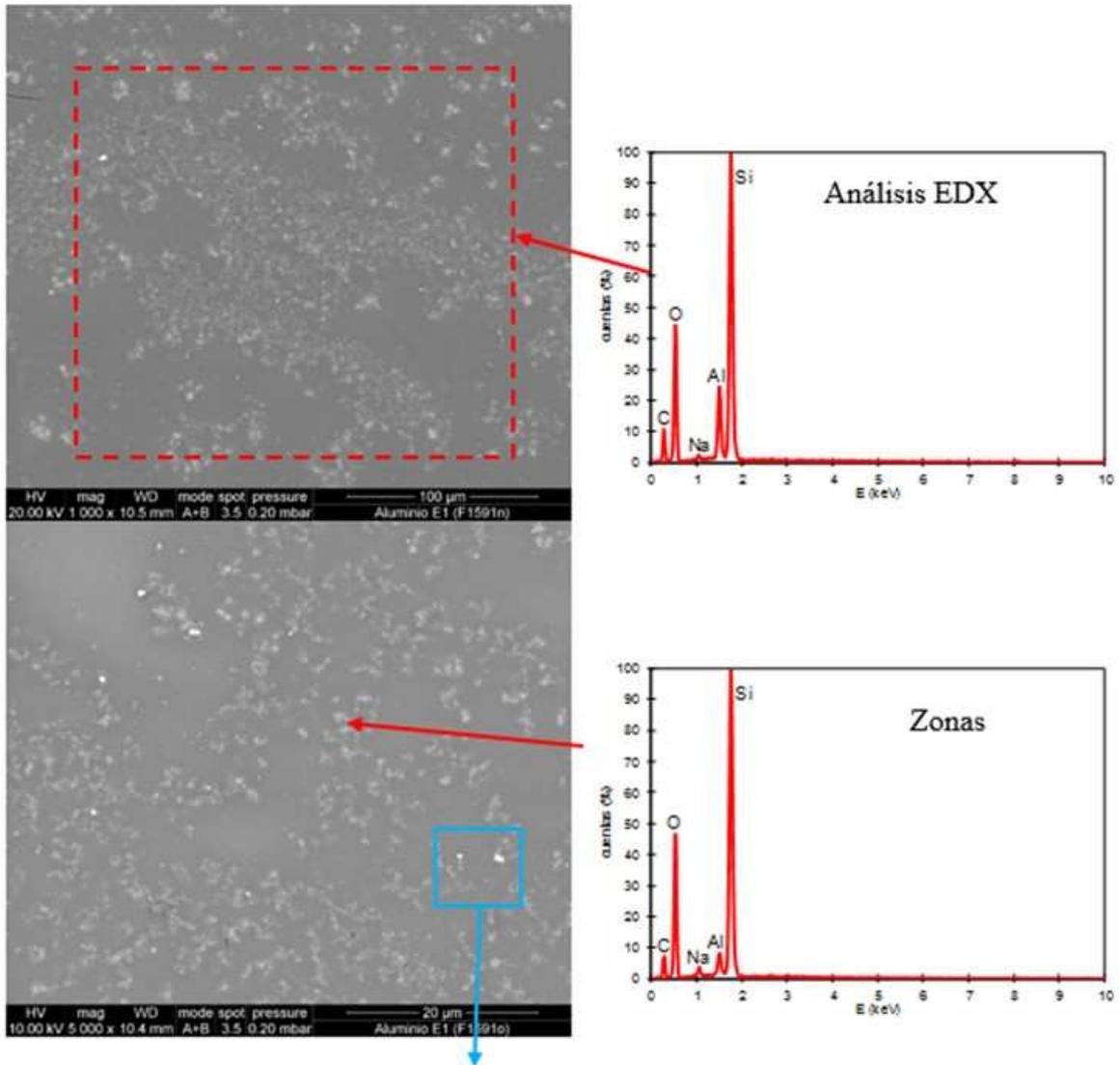


Figura 9. Superficie de la muestra “Aluminio D1” vista al MEB. Análisis EDX global de la superficie, análisis EDX de las zonas claras y de las partículas nanométricas, blancas y brillantes al MEB.

En los resultados obtenidos en el análisis global se observa que la zeolita también se encuentra distribuida homogéneamente en la superficie de la muestra. Pero, sólo en un caso puntual se ha detectado la presencia de cobre.



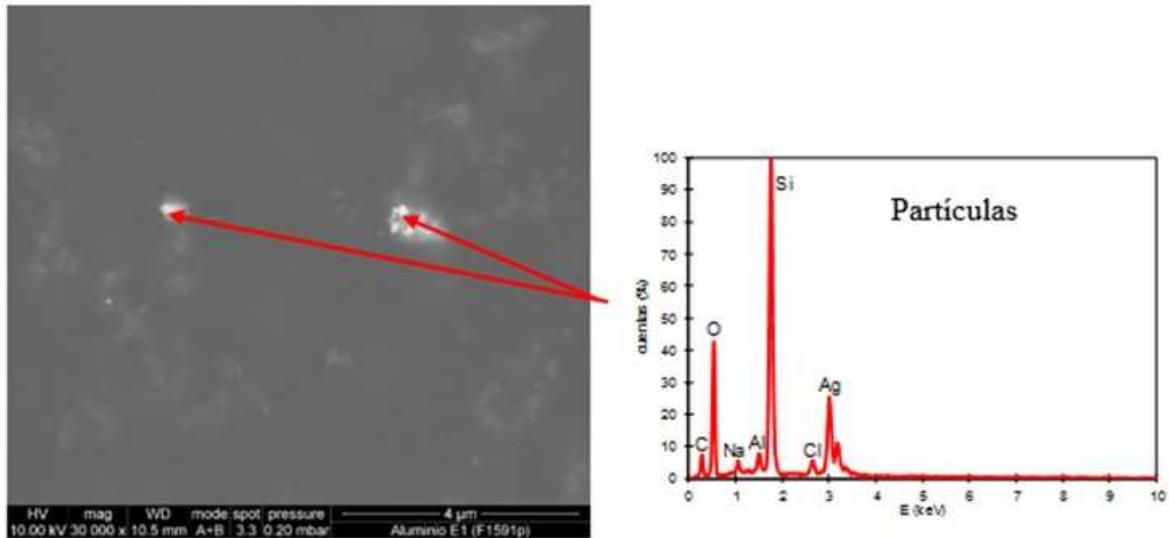


Figura 10. Superficie de la muestra “Aluminio E1” vista al MEB. Análisis EDX global de la superficie, análisis EDX de las zonas claras y de las partículas nanométricas, blancas y brillantes al MEB.

En los resultados obtenidos, al igual que en las muestras anteriores, en el análisis global se observa que la zeolita se encuentra distribuida homogéneamente en la superficie de la muestra. En el análisis puntual se ha detectado la presencia de plata.

SUPERFICIES TEXTILES

Los materiales recibidos presentaban las siguientes referencias:

- Muestra 1: Original
- Muestra 2: A2 CBV 10A 1:1 Ag
- Muestra 3: C1 CBV 10A 1:1 Cu

Se llevó a cabo el estudio de las muestras por microscopía electrónica de barrido (MEB) con objeto de conocer su microestructura y la distribución de los principios activos (Ag y Cu).

Ensayos realizados

Las muestras se observaron y fotografiaron con la señal de electrones retrodispersados del microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FEG-ESEM Quanta 200F). Dicha señal proporciona información sobre la topografía y composición. Es tanto más intensa cuanto mayor es el número atómico medio de la muestra, de manera que las zonas más claras contienen elementos más pesados (contraste de composición).

Asimismo, las muestras se analizaron con un equipo de microanálisis por dispersión de energías de rayos X (EDX) conectado al microscopio. Cabe destacar que el volumen de interacción del haz de electrones es del orden o superior a $3\mu\text{m}$, por lo que, en el caso de analizar zonas muy pequeñas, puede recibirse información química procedente de los alrededores. Además, hay que considerar que con este sistema de análisis se detectan los elementos de número atómico igual o mayor que 6 (desde el carbono).

Por otra parte, las muestras se observaron con el microscopio estereoscópico.

Resultados y discusión

En las figuras 11 y 12 se muestran las micrografías obtenidas para la muestra sin tratamiento y para las muestras tratadas con zeolitas a tres aumentos diferentes, así como el análisis EDX de cada una de las muestras.

Al comparar las micrografías de la muestra sin tratamiento con las de las muestras tratadas con las zeolitas, se observa que, en ambos casos, la distribución de las partículas de zeolita en las fibras de los tejidos es homogénea. Además, en el análisis EDX se puede observar, tal y como era de esperar, la presencia de Ag en la muestra A2 CBV 10A 1:1 Ag, y la presencia de Cu en la muestra C1 CBV 10A 1:1 Cu.

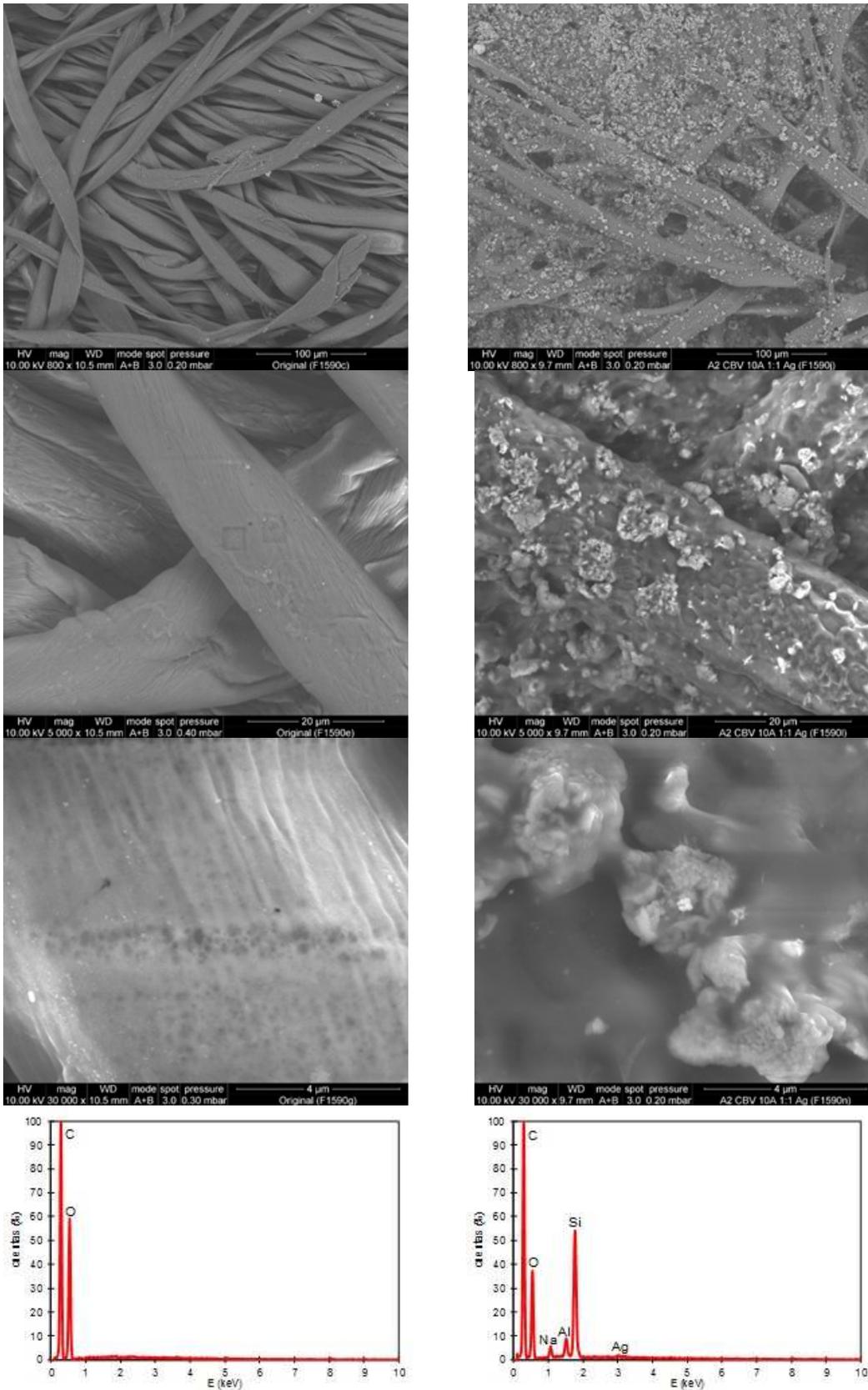


Figura 11. Micrografías al MEB y análisis EDX global de las muestras Tejido original (columna izquierda) y tejido A2 CBV 10A 1:1 Ag.

En el análisis EDX de la muestra tratada con la zeolita que contiene Ag se observa que, además de los elementos C y O presentes en el tejido original, presenta los elementos típicos de una zeolita junto a la Ag.

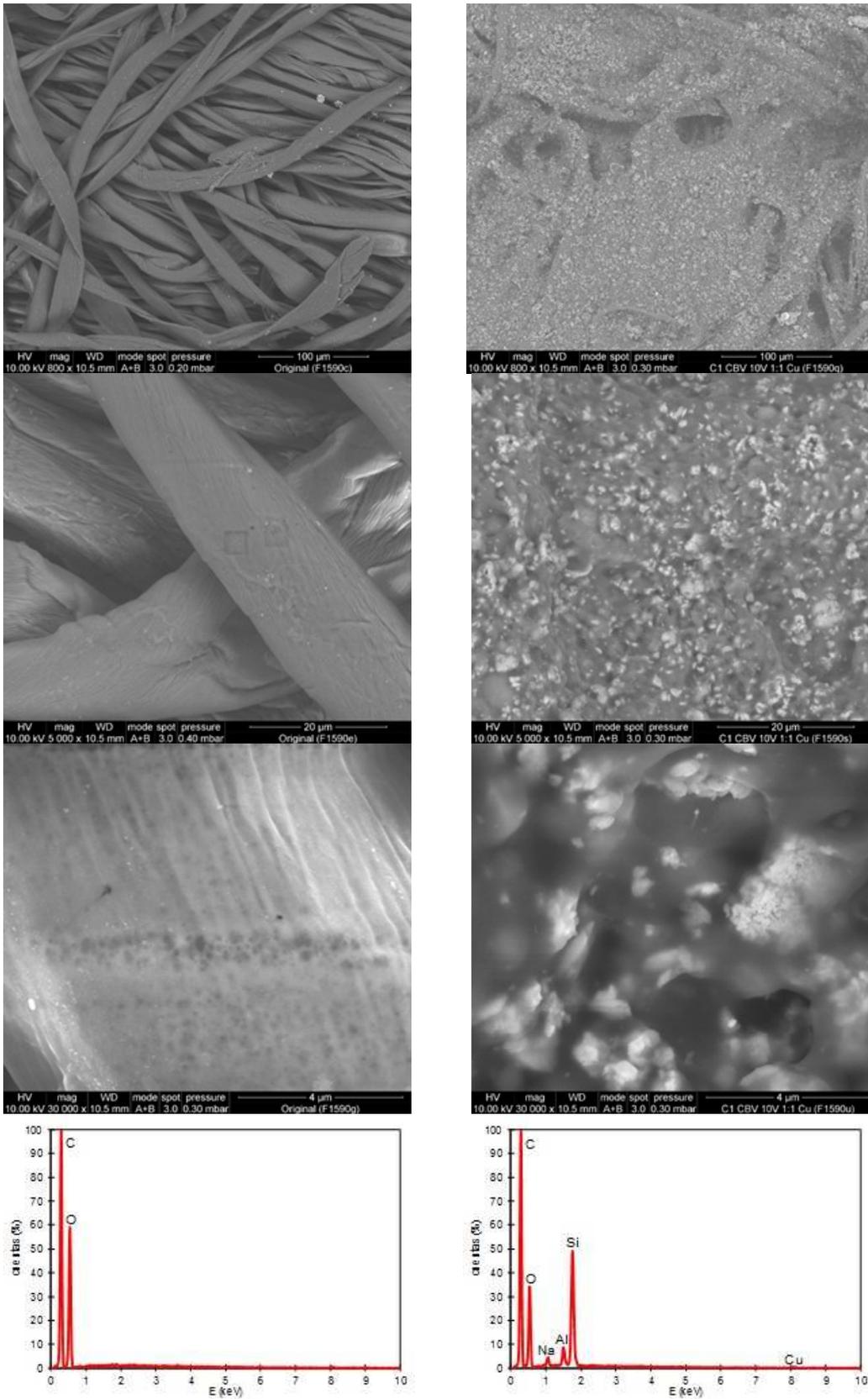


Figura 12. Micrografías al MEB y análisis EDX global de las muestras Tejido original (columna izquierda) y tejido C1 CBV 10A 1:1 Cu.

En el análisis EDX de la muestra tratada con la zeolita que contiene Cu se observa que, además de los elementos C y O presentes en el tejido original, presenta los elementos típicos de una zeolita junto al Cu.

Para clarificar el estudio, además del análisis mediante MEB se ha realizado el análisis mediante un microscopio estereoscópico. En la figura 13 se comparan las micrografías obtenidas en el microscopio estereoscópico (columna de la izquierda) y en el MEB (columna de la derecha) para las muestras recibidas: Original, A2 CBV 10A 1:1 Ag y C2 CBV 10A 1:1 Cu, donde también se puede observar la homogeneidad de la distribución de la zeolita en las fibras de los tejidos.

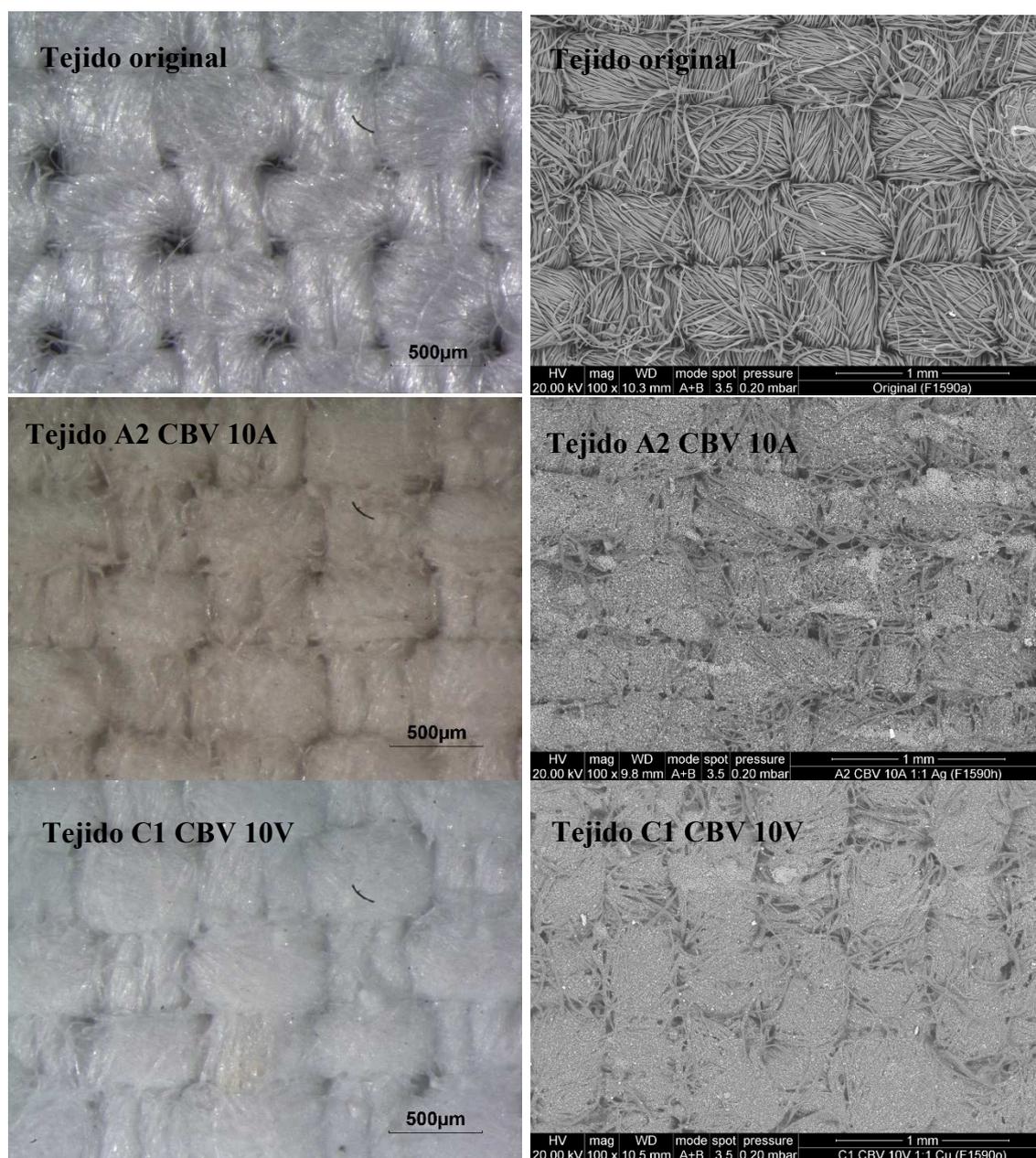


Figura 13. Micrografías al microscopio estereoscópico (columna de la izquierda) y al MEB (columna de la derecha) de los tejidos: Original, A2 CBV 10A 1:1 Ag y C2 CBV 10A 1:1 Cu.

En las figuras 14 y 15 se muestran de nuevo los análisis EDX globales de las muestras tratadas con las zeolitas, donde se han ampliado los espectros en la zona donde aparecen los picos de Ag y Cu.

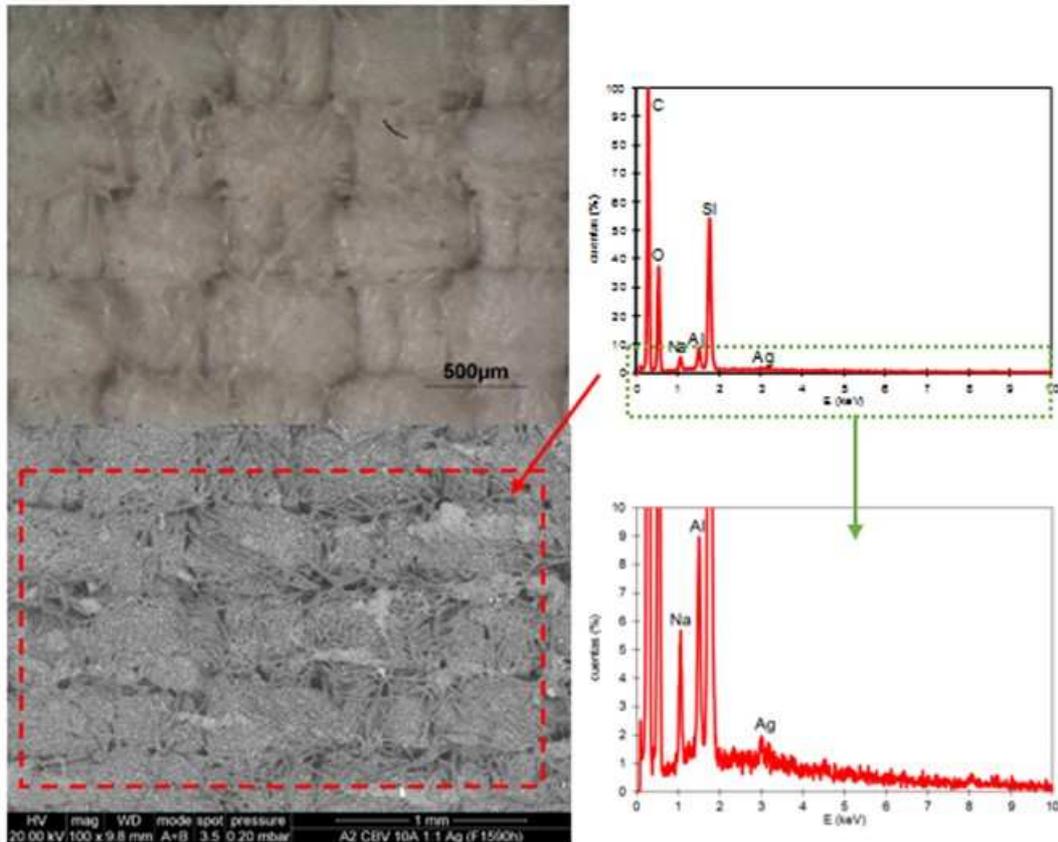


Figura 14. Muestra A2 CBV 10A 1:1 Ag vista al microscopio estereoscópico y al MEB. Análisis EDX global.

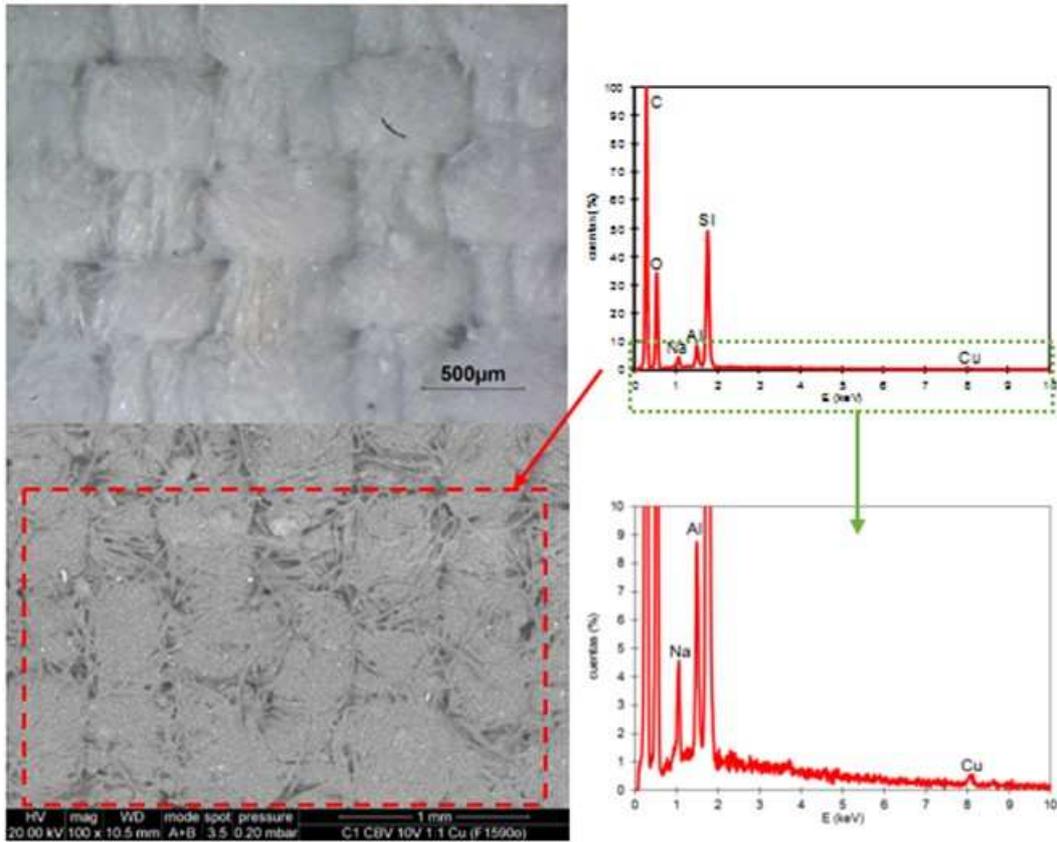


Figura 15. Muestra C1 CBV 10A 1:1 Cu vista al microscopio estereoscópico y al MEB. Análisis EDX global.

SUPERFICIES CERÁMICAS

Debido al elevado número de muestras de zeolita y nanozeolitas a ensayar, se decidió seleccionar únicamente algunas de ellas para la obtención de los recubrimientos y la realización del ensayo bactericida. Según el análisis químico realizado a las muestras, se decidió seleccionar las siguientes muestras:

- A1: CBV 100 ($\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1/1$), en adelante ZA1.
- B2: CBV 100 ($\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1/1.5$), en adelante ZB2.
- F1: LTL ($\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1/1.5$), en adelante ZF1.
- F2: LTL ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2/\text{H}_2\text{O} \Rightarrow 1/1.5$), en adelante ZF2.

Los criterios seguidos para seleccionar las muestras de zeolita a ensayar fueron los siguientes:

- ✓ Las muestras ZA1 y ZB2 presentan la misma composición química, diferenciándose únicamente en la proporción de plata que contienen.
- ✓ Las muestras ZF1 y ZF2 presentan la misma composición química, diferenciándose en que la muestra ZF1 contiene plata y la muestra ZF2 contiene cobre.

Ensayos realizados

Las muestras se observaron y fotografiaron con la señal de electrones retrodispersados del microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FEG-ESEM Quanta 200F). Dicha señal proporciona información sobre la topografía y composición. Es tanto más intensa cuanto mayor es el número atómico medio de la muestra, de manera que las zonas más claras contienen elementos más pesados (contraste de composición).

Asimismo, las muestras se analizaron con un equipo de microanálisis por dispersión de energías de rayos X (EDX) conectado al microscopio. Cabe destacar que el volumen de interacción del haz de electrones es del orden o superior a $3\mu\text{m}$, por lo que, en el caso de analizar zonas muy pequeñas, puede recibirse información química procedente de los alrededores. Además, hay que considerar que con este sistema de análisis se detectan los elementos de número atómico igual o mayor que 6 (desde el carbono).

Resultados y discusión

En las figuras 16 a 19 se muestran los análisis mediante MEB-EDX de las piezas con la aplicación de las zeolitas seleccionadas (ZA1, ZB2, ZF1 y ZF2), donde se han realizado los análisis puntuales y globales de la superficie de las mismas.

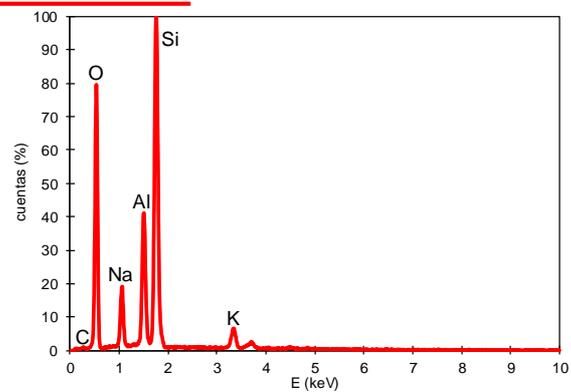
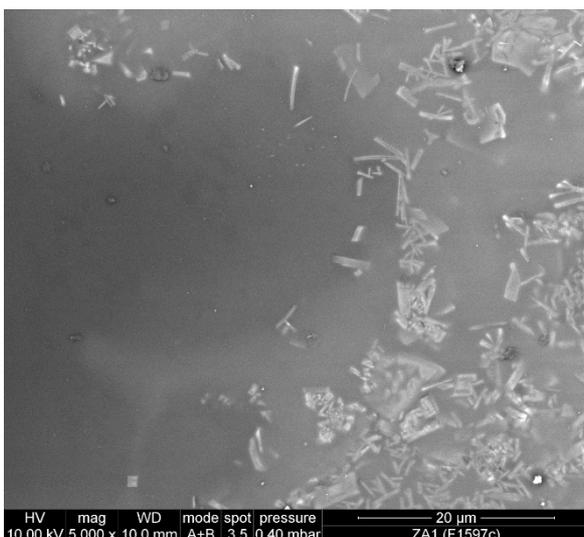
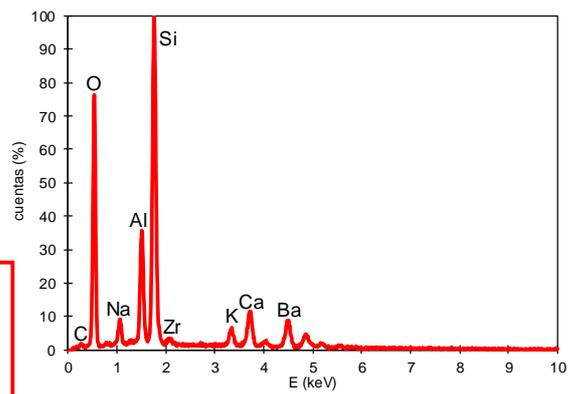
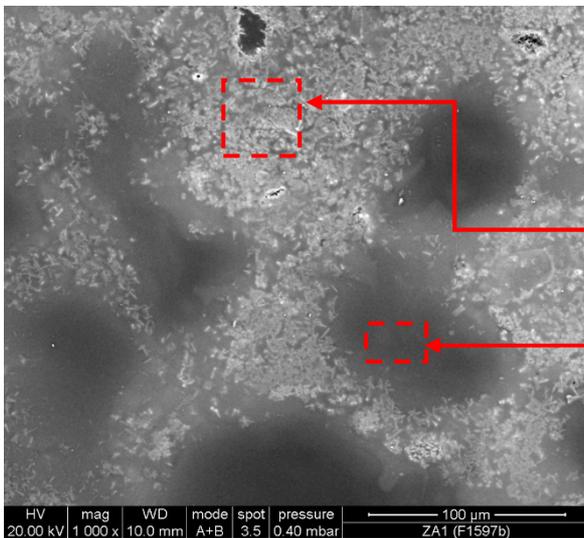
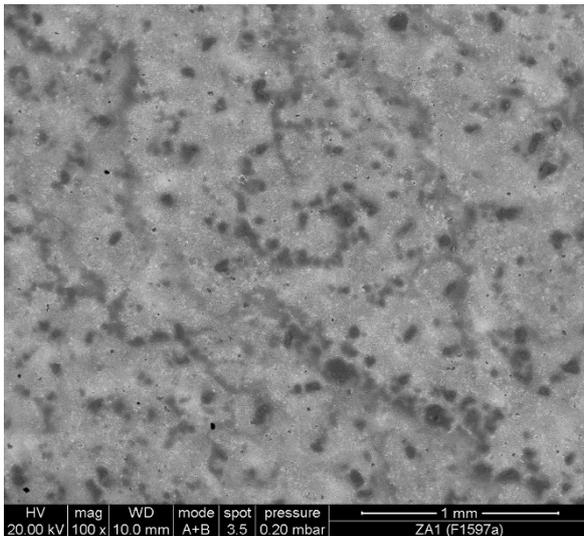


Figura 16 Superficie de la muestra ZA1 al MEB. Análisis EDX global de las zonas claras, con cristales, y de las zonas oscuras.

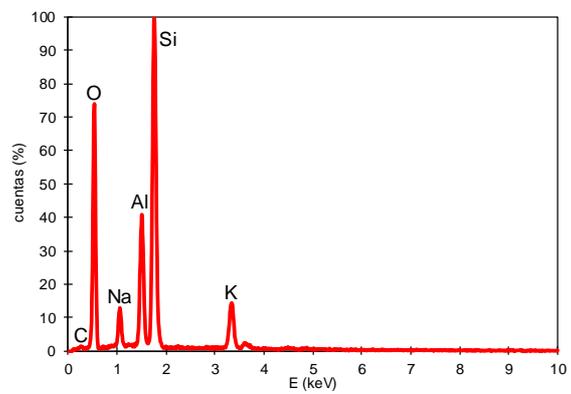
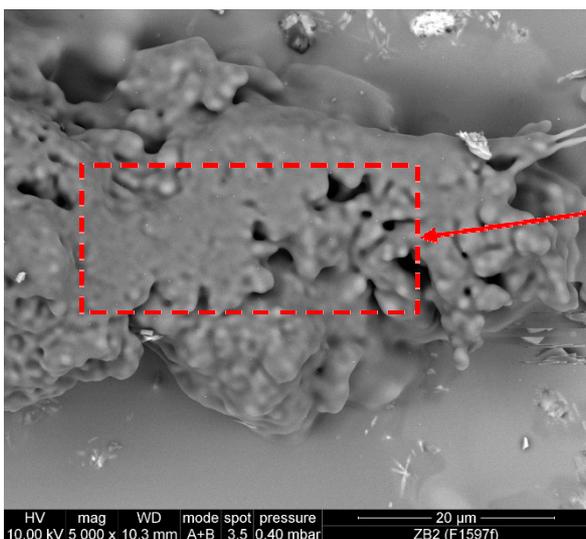
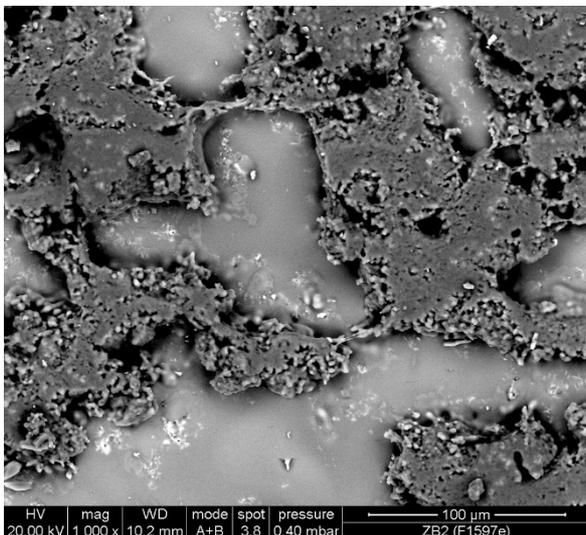
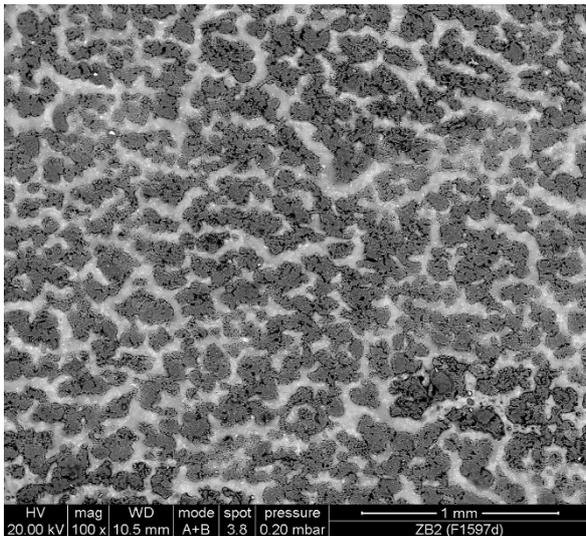


Figura 17 Superficie de la muestra ZB2 al MEB. Análisis EDX global de las zonas oscuras.

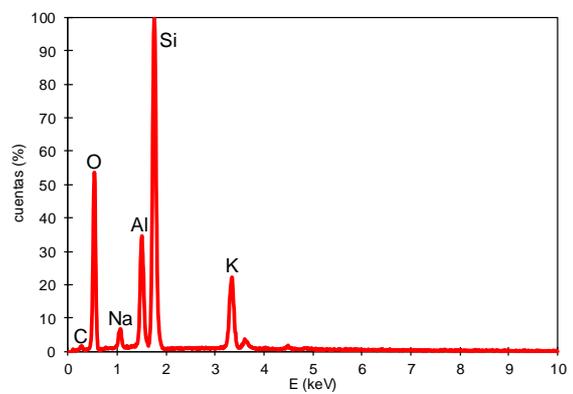
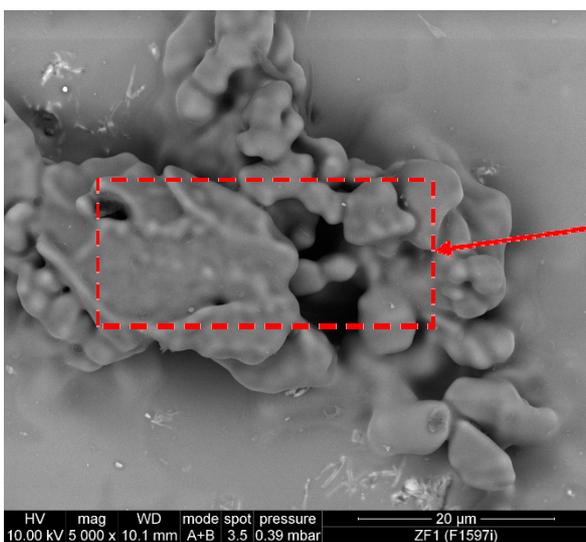
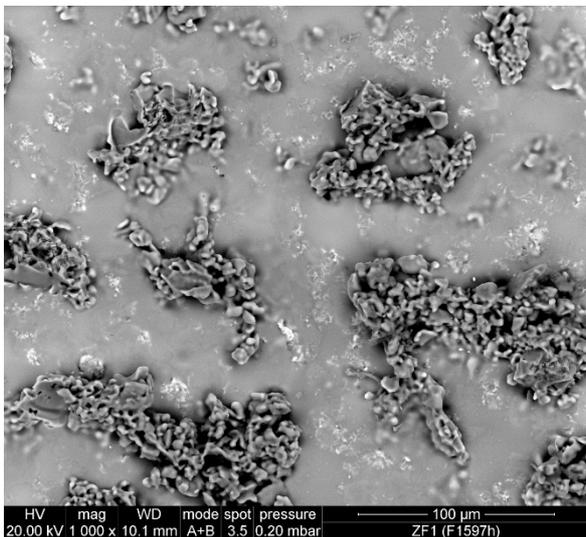
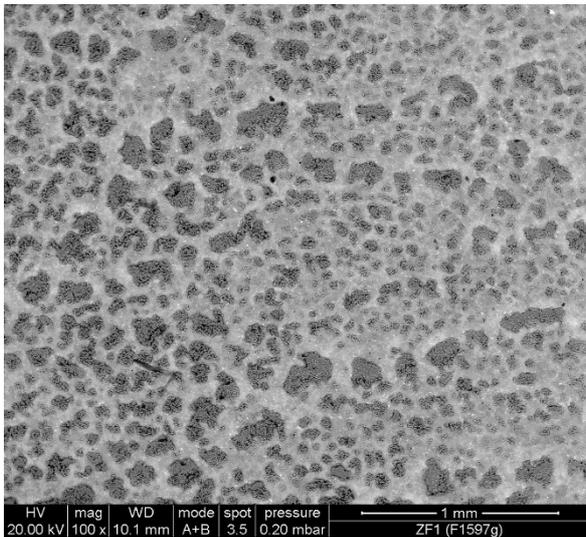


Figura 18 Superficie de la muestra ZF1 al MEB. Análisis EDX global de las zonas oscuras.

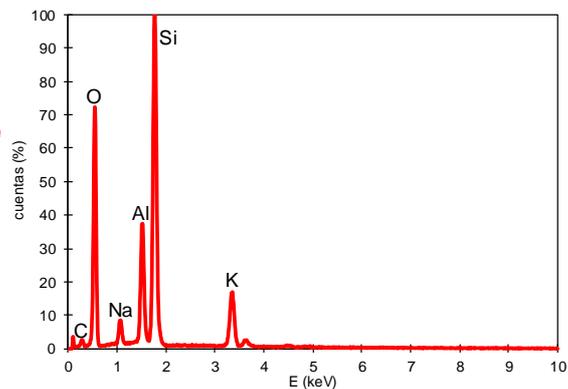
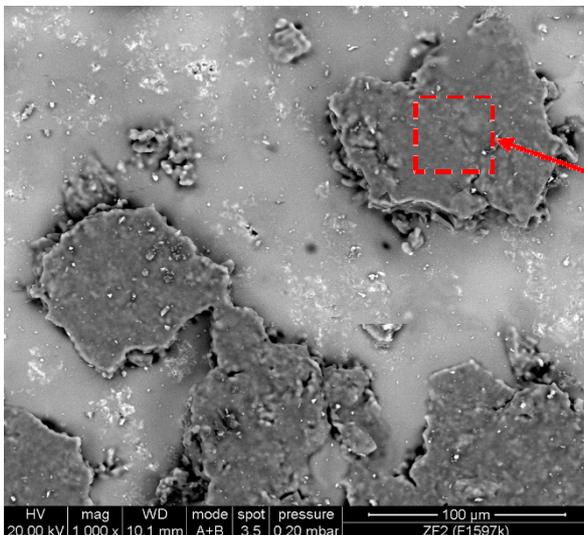
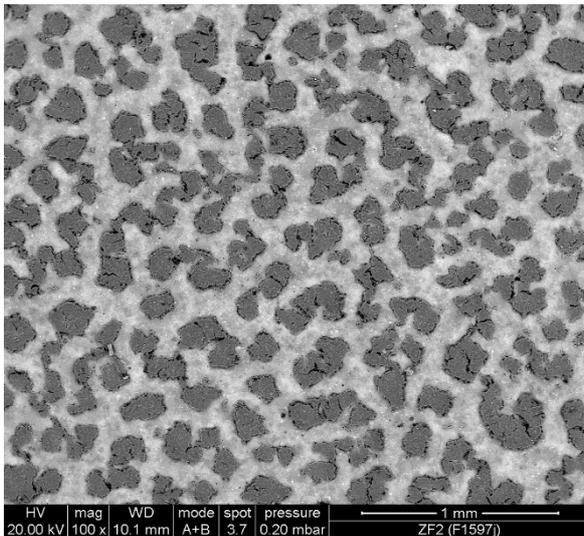


Figura 19 Superficie de la muestra ZF2 al MEB. Análisis EDX global de las zonas oscuras.

En las imágenes obtenidas en el MEB se observan unas zonas más oscuras que corresponden a las zeolitas aplicadas, lo cual se confirma con el análisis por EDX. De acuerdo a las imágenes correspondientes se puede ver una aplicación homogénea del principio activo sobre las superficies, aunque debido a la baja concentración de Ag y de Cu, éstos no han podido ser identificados en ninguna de las cuatro piezas analizadas.

3. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DE RECUBRIMIENTOS.

ESTUDIO PROLIFERACIÓN BACTERIANA.

En esta tarea se han llevado a cabo los ensayos de eficacia antimicrobiana de una selección de los distintos sustratos desarrollados en el presente proyecto. En función de la naturaleza de las probetas se ha empleado la norma ASTM E2180-07 y la norma JIS L 1902. La primera de las normas va dirigida al ensayo de la actividad microbiana de materiales poliméricos o hidrofóbicos. En la segunda se evalúa la eficacia antimicrobiana de materiales textiles.

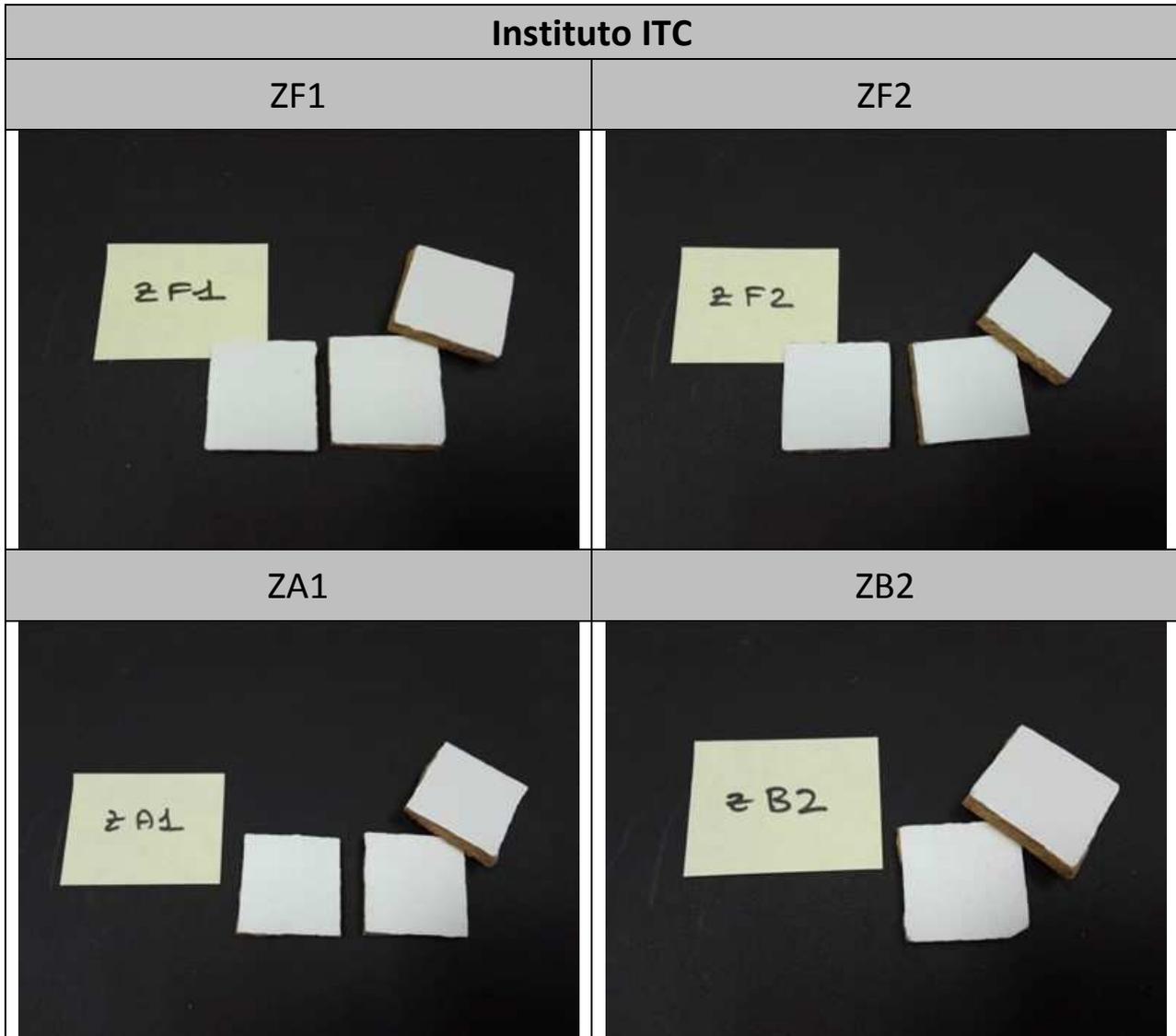
Ensayos realizados según la norma ASTM E2180-07

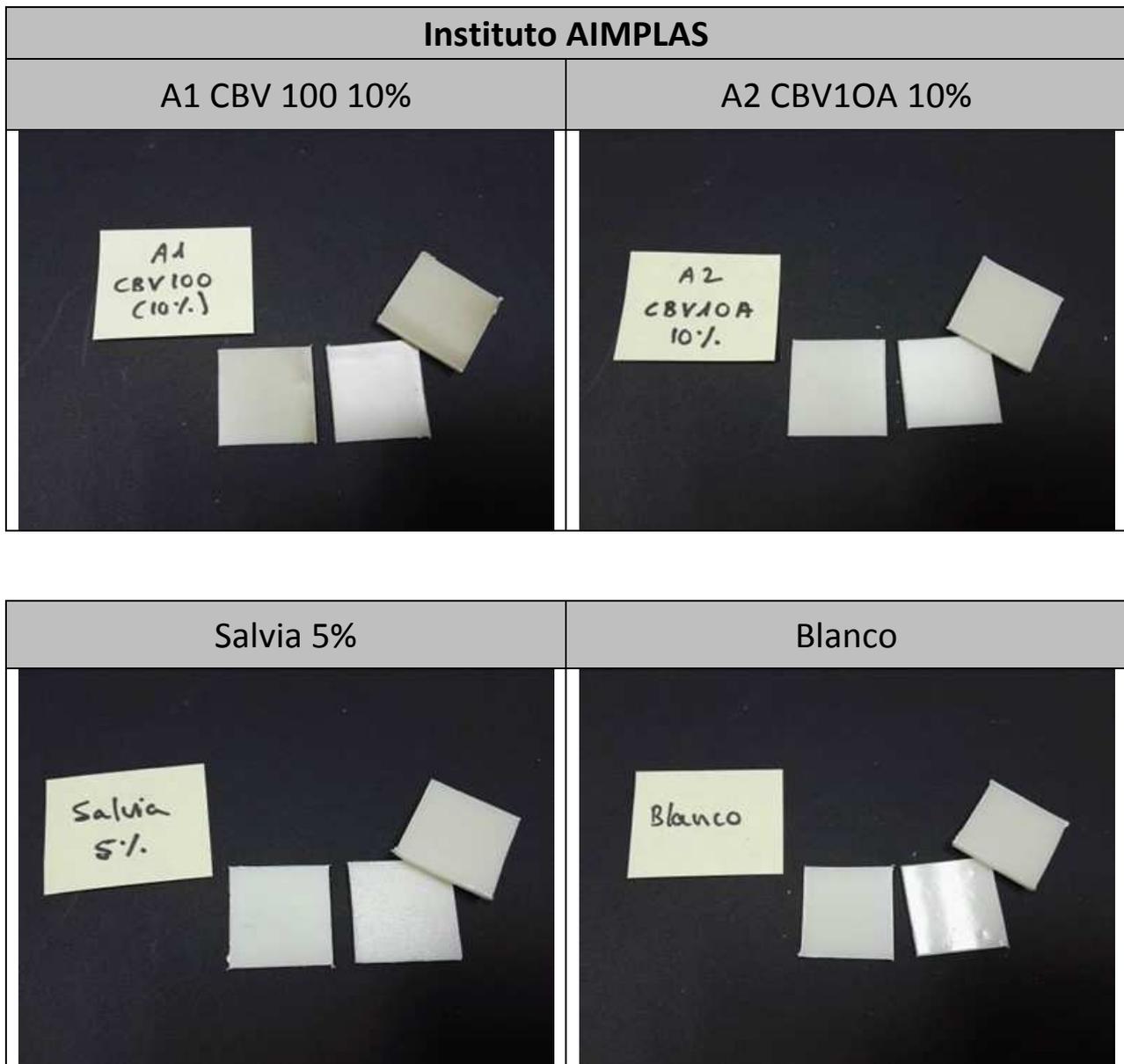
Muestras de ensayo

Se llevan a cabo los ensayos de eficacia antimicrobiana en los siguientes sustratos:

Instituto Tecnológico	Muestras de ensayo	Descripción
ITC	ZF1	Material cerámico con nanozeolitas de Ag
	ZF2	Material cerámico con nanozeolitas de Ag
	ZA1	Material cerámico con zeolitas de Ag
	ZB2	Material cerámico con zeolitas de Ag
	Blanco	Material cerámico
AIMPLAS	A1 CBV 100 10%	Material plástico con zeolitas de Ag
	A2 CBV10A 10%	Material plástico con zeolitas de Ag
	Salvia 5%	Material plástico con cápsulas de salvia
	Blanco	Material plástico
AIDIMA	ZeA1 MEL-1	Tablero de haya melaminizado con zeolitas de Ag
	Ze B1 MEL-1	Tablero de haya melaminizado con zeolitas de Ag
	Sal MEL-2	Tablero de haya melaminizado con cápsulas de salvia
	Blanco	Tablero de haya melaminizado barnizado

AIMME	B2	Material metálico con zeolitas de Ag
	E2	Material metálico con nanozeolitas de Cu
	E1	Material metálico con nanozeolitas de Ag
	D1	Material metálico con zeolitas de Cu
	Blanco	Material metálico
AITEX	C1-CBV 10A 1:1 Cu	Zeolitas de cobre
	A2-CBV 10A 1:1 Ag	Zeolitas de plata





Instituto AIDIME

ZeA1 MEL-1



Ze B1 MEL-1

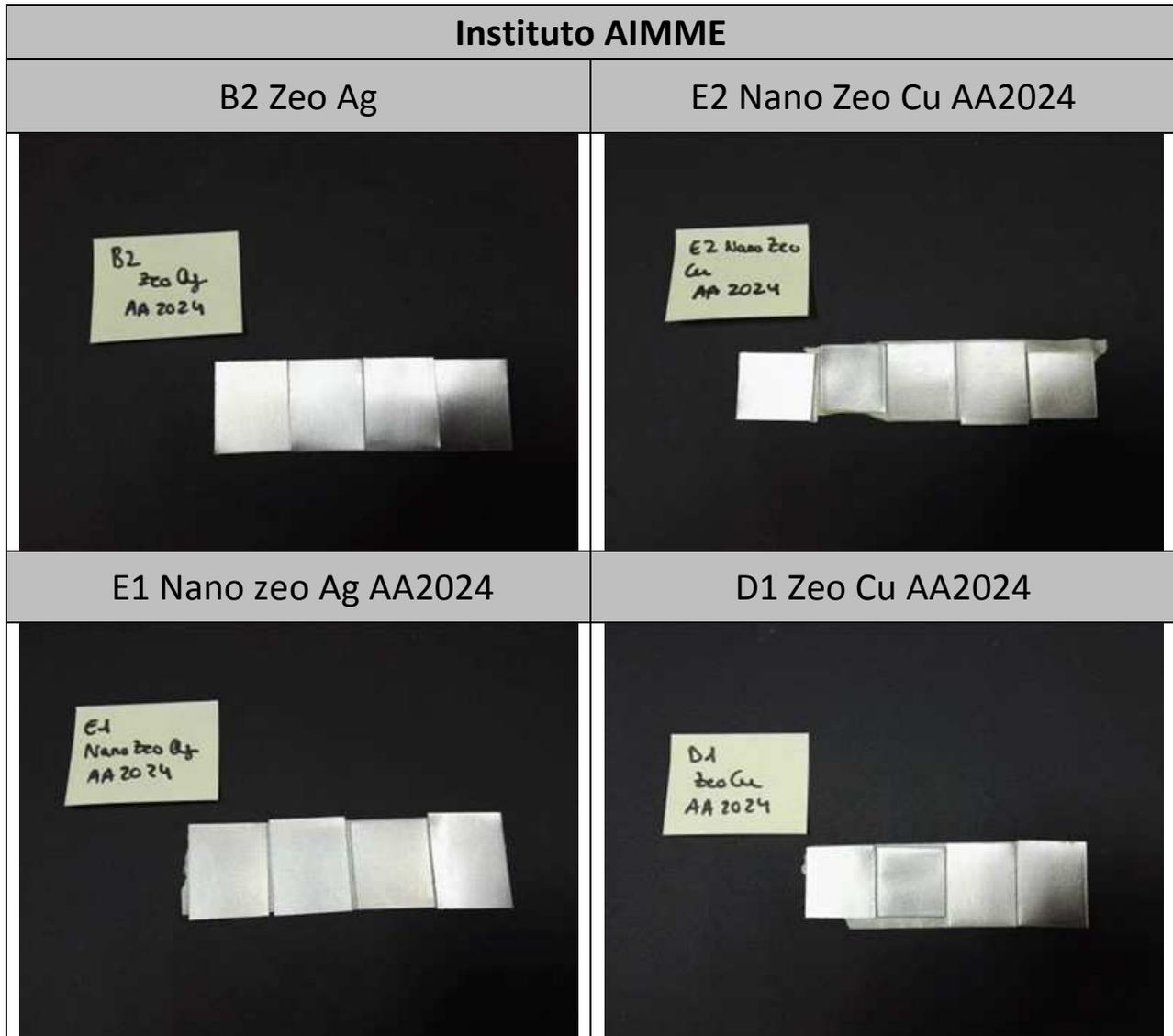


SAL MEL-2



Blanco





Adecuación del método de ensayo a norma

El método de ensayo realizado coincide con lo indicado en la siguiente norma:

► ASTM E2180-07 “Standard test method for determining the activity of incorporated antimicrobial agent(s) in polymeric or hydrophobic materials”

Microorganismos ensayados

Se lleva a cabo la determinación de la actividad antibacteriana de las muestras de ensayo frente al microorganismo:

- Bacteria Gram-negativa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388

Los cultivos Stock son proporcionados por la CECT (Colección Española de Cultivos Tipo). Una vez activados los liófilos, las cepas son mantenidas en tubos inclinados con medio TSA a 4°C.

Procedimiento

El procedimiento de ensayo se lleva a cabo para evaluar la actividad de los agentes antimicrobianos incorporados a materiales poliméricos o hidrófobos. El método se basa en la inoculación de determinados microorganismos mediante agar blando sobre la superficie de ensayo.

La determinación de la actividad antimicrobiana se lleva a cabo mediante la determinación de la reducción logarítmica de una suspensión microbiológica puesta en contacto sobre la superficie de ensayo, tomando como referencia el mismo soporte sin agentes antimicrobianos tras un determinado tiempo de incubación.

Preparación de las muestras

Las muestras de ensayo y de control negativo se cortaron bajo las dimensiones de (3 x 3) cm². Se ensayaron tres réplicas por cada cepa bacteriana para llevar a cabo el análisis del contenido bacteriano a t=0h y a t=24h.

Las probetas fueron esterilizadas mediante una solución de etanol al 70%, dejando secar al final. Se guardaron en placas Petri estériles.

Preparación de la suspensión bacteriana de ensayo

Cada cepa se cultivó en medio TSA a 37°C durante 24h. A partir de este cultivo se obtuvo una suspensión de bacteriana de $1-5 \times 10^{10}$ ufc/ml mediante agua de triptona (Fig 16). Posteriormente se añadió 1 ml de esta suspensión a 100 ml de agar blando equilibrado a 45°C para alcanzar una concentración de $1-5 \times 10^8$ ufc/ml (Fig 17)



Fig. 16. Preparación de diluciones a partir del cultivo bacteriano de trabajo para conocer su concentración



Fig.17. Preparación de la dilución bacteriana de trabajo con el fin de inocular las probetas de ensayo

Inoculación de las muestras de ensayo

La superficie de las probetas de ensayo fue inoculada con 1 ml de la suspensión bacteriana de ensayo tratando que la capa de agar blando no superara 1 mm de grosor (Img. 18-19).

Tras la inoculación ($t=0h$) de los controles negativos fueron procesados mediante agitación vigorosa durante 2 min con 50 ml de neutralizante para la recuperación de las células bacterianas. Se tomó 1 ml de esta suspensión y se diluyó de forma seriada con neutralizante para llevar a cabo un recuento de las ufc en medio TSA. Las placas se incubaron a $37^{\circ}C$ durante 48h (Fig 20).

El resto de probetas de ensayo y controles negativos se incubaron a $37^{\circ}C$ durante 24 h ($t=24h$) para ser posteriormente procesadas de la forma antes descrita.

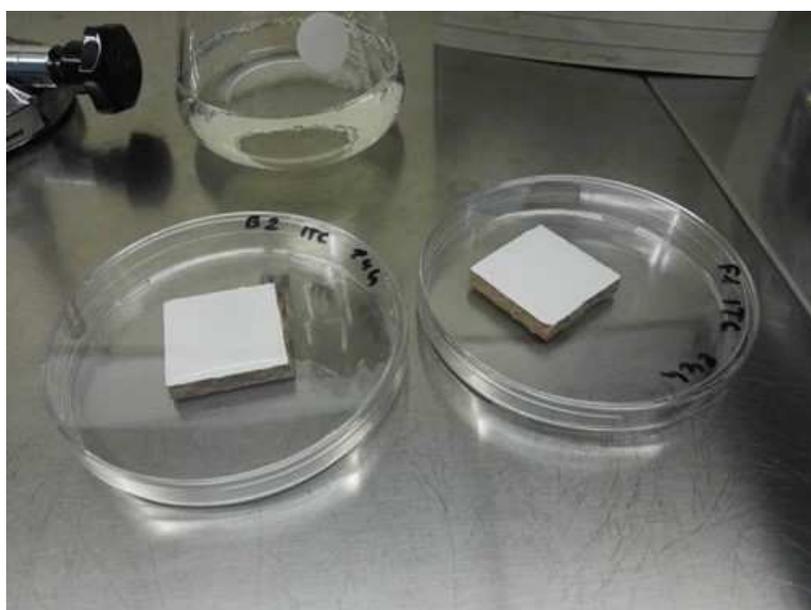


Fig.18. Probetas inculadas con 1 ml de agar blando inoculado



Fig.19. Muestra de las probetas de ensayo inoculadas



Fig.20. Placas de siembra de las diferentes diluciones del lavado de las probetas inoculadas

Obtención de los resultados

Los resultados se expresan a través de las siguientes ecuaciones:

- Media geométrica = $(\text{Log } R1 + \text{Log } R2 + \text{Log } R3) / 3$

R: ufc recuperadas tras el período de incubación

- $R (\%) = [(N_u - N_a) / N_u] \times 100$

N_u: antilogaritmo de la media geométrica de los microorganismos recuperados tras el período de incubación en las muestras no tratadas (control negativo)

N_a: antilogaritmo de la media geométrica de los microorganismos recuperados tras el período de incubación en las muestras tratadas

- $R = [\log (B/A) - \log (C/A)]$

R: valor actividad antimicrobiana

A: media del número de ufc inmediatamente después (t=0h) de la inoculación de las muestras control negativo

B: media del número de ufc de las muestras control negativo tras 24 h incubación

C: media del número de ufc de las muestras de ensayo tras 24 h incubación

Se considera que un valor de $R \geq 2$ demuestra una correcta actividad antimicrobiana

Resultados

ITC									
Muestra		t (h)	Promedio	Lmax	Lmin	Media geométrica	Validación*	R	% Reducción
ZF1	Control	0	4,25E+08	8,65	8,60	8,63	0,1	0,3	54,6
		24	5,10E+08	8,72	8,69	8,71	0,1		
	Material	24	2,31E+08	8,43	8,28	8,36	0,1		
ZF2	Control	0	4,50E+08	8,77	8,55	8,64	0,1	0	0
		24	4,70E+08	8,72	8,60	8,67	0,1		
	Material	24	5,31E+08	8,77	8,68	8,72	0,1		
ZA1	Control	0	4,30E+08	8,65	8,61	8,63	0,1	0	0
		24	3,84E+08	8,60	8,56	8,58	0,1		
	Material	24	5,81E+08	8,80	8,71	8,76	0,1		
ZB2	Control	0	4,23E+08	8,70	8,58	8,62	0,1	0,3	48
		24	4,10E+08	8,63	8,60	8,61	0,1		
	Material	24	2,13E+08	8,36	8,30	8,33	0,1		

*Parámetro de validación del ensayo. Queda validado cuando el valor resultante es ≤ 2

AIMPLAS									
Muestra		t (h)	Promedio	Lmax	Lmin	Media geométrica	Validación*	R	% Reducción
A1 CBV 100 10%	Control	0	4,63E+08	8,69	8,64	8,67	0,1	≥ 2	100
		24	4,60E+08	8,69	8,63	8,66	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
A2 CBV10A 10%	Control	0	4,41E+08	8,65	8,63	8,64	0,1	≥ 2	100
		24	4,30E+08	8,68	8,60	8,63	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
Salvia 5%	Control	0	3,97E+08	8,62	8,57	8,60	0,1	0,2	35,9
		24	4,00E+08	8,60	8,60	8,60	0,1		
	Material	24	2,56E+08	8,46	8,35	8,41	0,1		

*Parámetro de validación del ensayo. Queda validado cuando el valor resultante es ≤ 2

AIDIMA									
Muestra		t (h)	Promedio	Lmax	Lmin	Media geométrica	Validación*	R	% Reducción
ZeA1 MEL-1	Control	0	3,91E+00	0,61	0,56	0,59	0,1	≥2	100
		24	4,33E+00	0,67	0,61	0,64	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
Ze B1 MEL-1	Control	0	4,26E+08	8,63	8,63	8,63	0,1	≥2	100
		24	4,05E+08	8,61	8,60	8,61	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
Sal MEL-2	Control	0	3,78E+08	8,59	8,57	8,58	0,1	0	2,6
		24	3,08E+08	8,51	8,47	8,49	0,1		
	Material	24	3,00E+08	8,51	8,46	8,48	0,1		

*Parámetro de validación del ensayo. Queda validado cuando el valor resultante es ≤ 2

AIMME									
Muestra		t (h)	Promedio	Lmax	Lmin	Media geométrica	Validación*	R	% Reducción
B2	Control	0	4,39E+08	8,66	8,63	8,64	0,1	≥2	100
		24	4,40E+08	8,71	8,60	8,64	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
E2	Control	0	4,51E+08	8,67	8,63	8,65	0,1	0,6	77,2
		24	4,40E+08	8,65	8,62	8,64	0,1		
	Material	24	1,00E+08	8,00	8,00	8,00	0,1		
E1	Control	0	4,90E+08	8,70	8,67	8,69	0,1	≥2	100
		24	4,40E+08	8,65	8,64	8,64	0,1		
	Material	24	0,00E+00	-	-	-	-		
D1	Control	0	4,10E+08	8,62	8,60	8,61	0,1	0,3	52,3
		24	4,40E+08	8,67	8,59	8,64	0,1		
	Material	24	2,10E+08	8,36	8,30	8,32	0,1		

*Parámetro de validación del ensayo. Queda validado cuando el valor resultante es ≤ 2

Conclusiones de los ensayos realizados según la norma ASTM E2180-07

Las muestras de material **plástico A1 CBV 100 10%** y **A2 CBV10A 10%**, las muestras de **tablero melaminizado de haya ZeA1 MEL-1** y **Ze B1 MEL-1**, y las de **metal B2** y **E1** muestran actividad antibacteriana tras 24 h de tiempo de contacto frente a la especie bacteriana Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, pues la reducción de la viabilidad microbiana es del 100%.

Las muestras de material cerámico ZF1 y ZB2 presentan una reducción de la actividad microbiana del 54,6% y 48% pero el factor R no es superior a 2, valor a partir de cual la norma considera que el material presenta eficacia antimicrobiana. La misma situación se da con las muestras de material plástico con Salvia 5% (36%) y con las muestras de metal E2 (77,2%) y D1 (52,3%).

Instituto Tecnológico	Muestras de ensayo	Descripción	Actividad antimicrobiana
ITC	ZF1	Material cerámico con nanozeolitas de Ag	No
	ZF2	Material cerámico con nanozeolitas de Ag	No
	ZA1	Material cerámico con zeolitas de Ag	No
	ZB2	Material cerámico con zeolitas de Ag	No
	Blanco	Material cerámico	No
AIMPLAS	A1 CBV 100 10%	Material plástico con zeolitas de Ag	Sí
	A2 CBV10A 10%	Material plástico con zeolitas de Ag	Sí
	Salvia 5%	Material plástico con cápsulas de salvia	No
	Blanco	Material plástico	No
AIDIMA	ZeA1 MEL-1	Tablero de haya melaminizado con zeolitas de Ag	Sí
	Ze B1 MEL-1	Tablero de haya melaminizado con zeolitas de Ag	Sí
	Sal MEL-2	Tablero de haya melaminizado con cápsulas de salvia	No
	Blanco	Tablero de haya melaminizado barnizado	No

AIMME	B2	Material metálico con zeolitas de Ag	Sí
	E2	Material metálico con nanozeolitas de Cu	No
	E1	Material metálico con nanozeolitas de Ag	Sí
	D1	Material metálico con zeolitas de Cu	No
	Blanco	Material metálico	No

Ensayos realizados según la norma JIS L 1902. Test cualitativo

Muestras de ensayo

Las muestras de ensayo de textil están impregnadas con partículas de cobre (Cu) y de plata (Ag), se denominan como C1 CBV10A 1:1 Cu y A2 CBV10A 1:1 Ag, respectivamente (Fig 21).



Fig.21. Muestras de textil de ensayo A2 CBV10A 1:1 Ag (muestra superior) y C1 CBV10A 1:1 Cu (muestra inferior)

Instituto Tecnológico	Muestras de ensayo	Descripción
AITEK	C1-CBV 10A 1:1 Cu	Zeolitas de cobre
	A2-CBV 10A 1:1 Ag	Zeolitas de plata

Adecuación del ensayo a norma

El método de ensayo realizado coincide con lo indicado en la siguiente norma:

- ▶ JIS L 1902 “Testing of antibacterial activity and efficacy on textile products” Apartado 9: Ensayo cualitativo (método del halo)

Procedimiento

Preparación de las probetas

Las muestras de textil se cortan en probetas de forma circular de 28 mm de diámetro. Cada probeta es envuelta en papel de aluminio, se introducen en placas Petri y se esterilizan en autoclave a 120°C durante 20 minutos (Fig 22).

Como control se emplean discos de filtro estériles inoculados con 20 μ l de una solución biocida de ProClin 150.



Fig.22. Probetas de textil de ensayo esterilizadas

Preparación del medio de cultivo

Se prepara en diferentes Erlenmeyer 100 ml de medio TSA (Tripton Soja Agar) que se esterilizan en autoclave a 120°C durante 15 minutos. Una vez esterilizados se equilibran en un baño de agua a 45°C. Posteriormente se añade un inóculo de $4,3 \times 10^8$ ufc/ml de la cepa ATCC 13388 de la bacteria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* preparada previamente. Se agita vigorosamente y se vierte en placas Petri estériles. Se dejan a temperatura ambiente para que el medio gelifique.

Una vez preparadas se les da la vuelta, se abren un poco y se dejan secar en el interior de la cámara de flujo para eliminar el exceso de agua condensada.

Colocación de las probetas de ensayo

Mediante unas pinzas metálicas esterilizadas en llama, las probetas de ensayo estériles se colocan en el centro de los medios de cultivo inoculados. Se asegura de que toda la probeta quede bien adherida al medio de cultivo. Parte de las probetas se ponen en contacto con el medio inoculado por la parte donde está presente la cola (cara inferior), el resto de probetas se ponen en contacto por la parte contraria (cara superior). El objetivo es evaluar si existen diferencias de comportamiento entre las dos caras de las probetas.

Tiempo de incubación

El conjunto de las placas Petri se incuban boca abajo a 37°C entre 24-48h

Control actividad bacteriana

Únicamente el ensayo queda validado si tras el período de incubación se observa crecimiento bacteriano.

Tratamiento de los resultados

Cuando el período de incubación finaliza se miden los valores T y D que se toman del halo de inhibición que se crea alrededor de la probeta de ensayo. Se obtiene el valor W que permite la comparación entre muestras biocidas.

W: ancho del halo (mm)

T: suma de la longitud de la probeta y del ancho del halo (cm)

D: Longitud de la probeta de ensayo (mm)

$$W = (T - D) / 2$$

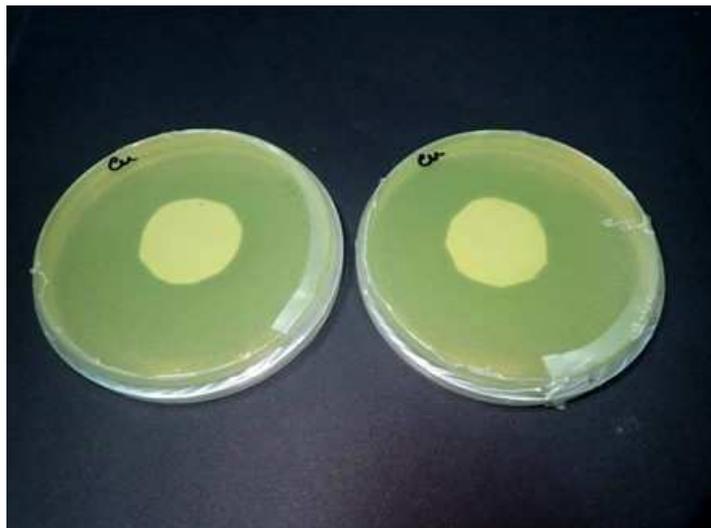
Evaluación de los resultados: la evaluación de la presencia o no de halos alrededor de las probetas de ensayo se llevan a cabo según la siguiente tabla:

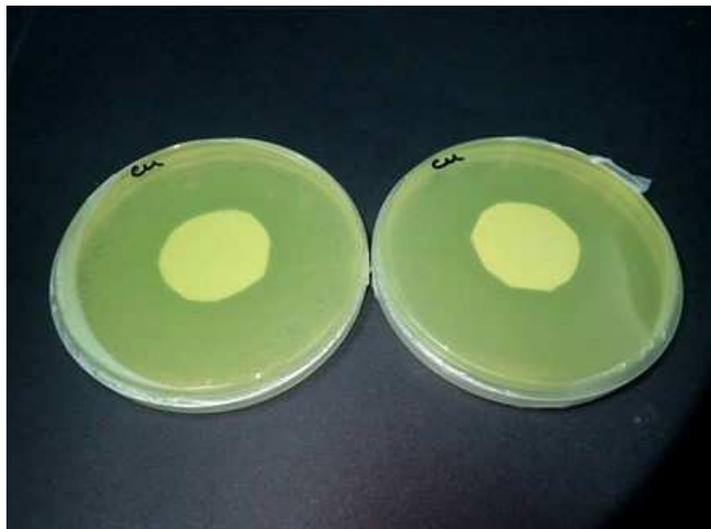
Resultado del ensayo	Presencia de halo
Cuando la media del ancho de los halos > 0	Presente
Cuando la media del ancho de los halos - 0	Ausente

Resultados

A continuación, se muestran en imágenes los resultados obtenidos tras la incubación de las muestras:

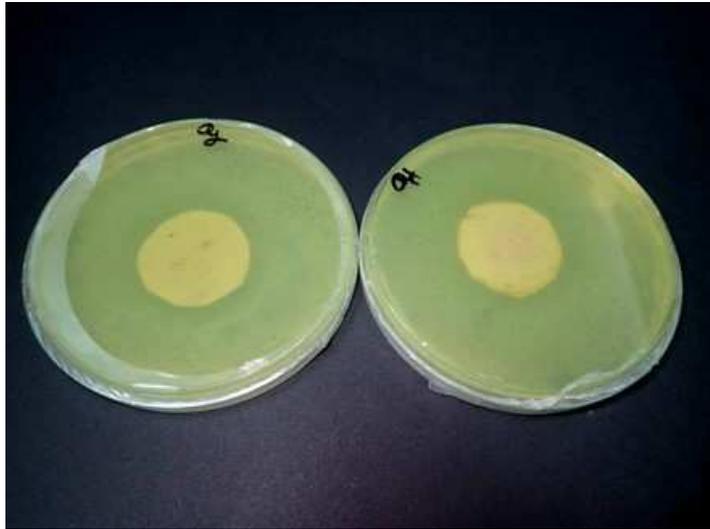
C1 CBV10A 1:1 Cu

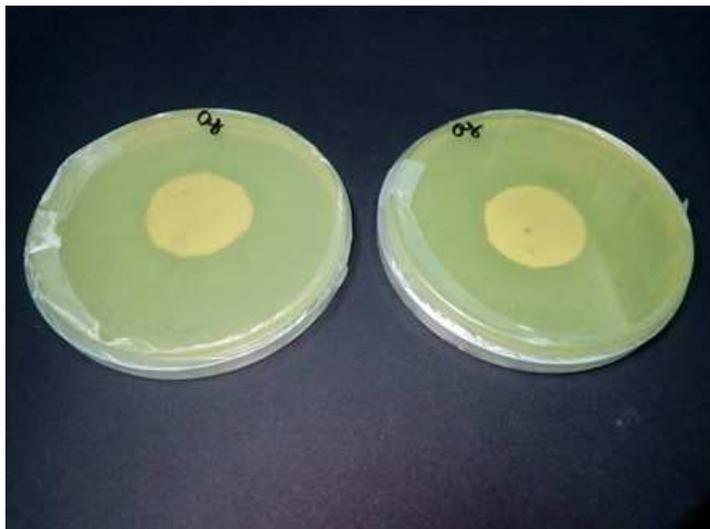






A2 CBV10A 1:1 Ag







Control



En las siguientes tablas se detalla la media de los resultados obtenidos para cada tipo de muestra textil, así como para el control positivo.

Muestra	Textil C1 CBV10A 1:1 Cu
Bacteria empleada en el ensayo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388
Concentración bacteriana	$4,4 \times 10^8$
W (cm)	-
Presencia de halos	Inexistente

Muestra	Textil A2 CBV10A 1:1 Ag
Bacteria empleada en el ensayo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388
Concentración bacteriana	$4,4 \times 10^8$
W (cm)	-
Presencia de halos	Inexistente

Muestra	Control positivo (PROCLIN 150)
Bacteria empleada en el ensayo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388
Concentración bacteriana	$4,4 \times 10^8$
Media ancho de los halos (cm)	1,93
Presencia de halos	Existente

Conclusiones de los ensayos realizados según la norma JIS L 1902. Test cualitativo

La ausencia de halos de inhibición demuestra que los dos textiles ensayados no presentan eficacia biocida frente a la bacteria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*.

Instituto Tecnológico	Muestras de ensayo	Descripción	Actividad antimicrobiana
AITEK	C1-CBV 10A 1:1 Cu	Zeolitas de cobre	No
	A2-CBV 10A 1:1 Ag	Zeolitas de plata	No

4. ESTUDIO PROPIEDADES ANTIFOULING.

Para la experiencia de crecimiento biológico en un ambiente controlado se han preparado diferentes tanques en los que se trata de reproducir en laboratorio un ambiente marino concentrado. Para ello se han considerado los siguientes factores:

- Agua natural del Mediterráneo.
- Contenido alto en microalgas (inóculo de *Tetraselmis Chuii*).
- Contribución externa de aire.
- Preparación adecuada de solución de nutrientes para el crecimiento.

El contenido microbiana y de algas fue controlado. La siguiente figura muestra una fotografía por microscopía óptica de transmisión de una alícuota del agua marina tras un mes de haber sido inoculada con la microalga.

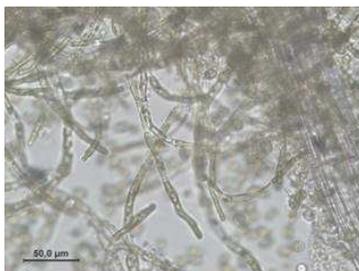


Fig.23. Fotografía por microscopía óptica de concentración de algas en tanques.

Durante el periodo de tratamiento se controla que los baños reciban la suficiente radiación solar, así como el correspondiente alimento para su crecimiento adecuado. Las siguientes fotografías muestran el estado de los baños de fouling durante la realización de los actuales trabajos.





Fig.24. Detalles de los baños de fouling con microalgas.

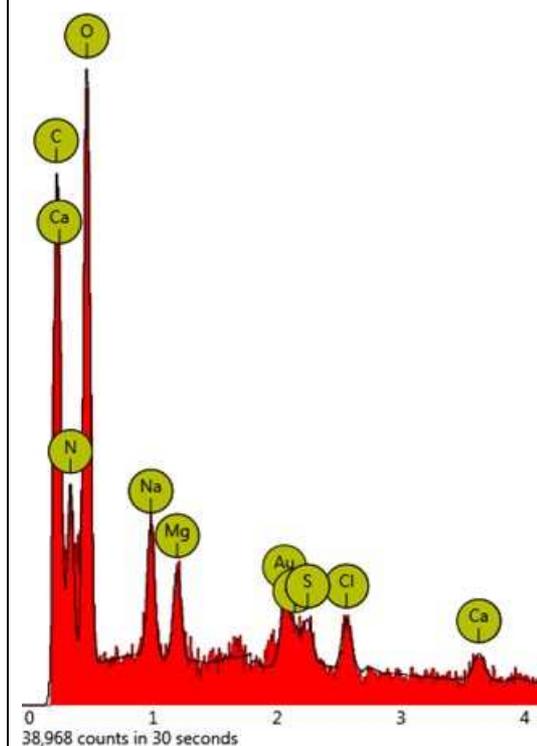
Se prepararon las muestras y se sumergieron en el baño durante 45 días teniendo siempre en consideración que ambas caras de las muestras rectangulares estuviesen totalmente sumergidas en el agua. Tras el tiempo de inmersión las muestras fueron analizadas visualmente y mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) para detectar en el breve espacio de tiempo de exposición la presencia o no de pequeñas estructuras biológicas adheridas a la superficie de las muestras. En las siguientes páginas se analizan algunas de las muestras estudiadas más significativas y que ayudan a la tendencia general observada. En general, las muestras presentan un cierto comportamiento antifouling comparado con los blancos en los que el crecimiento biológico es claramente perceptible a simple vista y con grandes costras a nivel microscópico. Pese a todo, tanto en el caso del grafeno como la sílica fluorada sí que se aprecian indicios de crecimiento biológico.

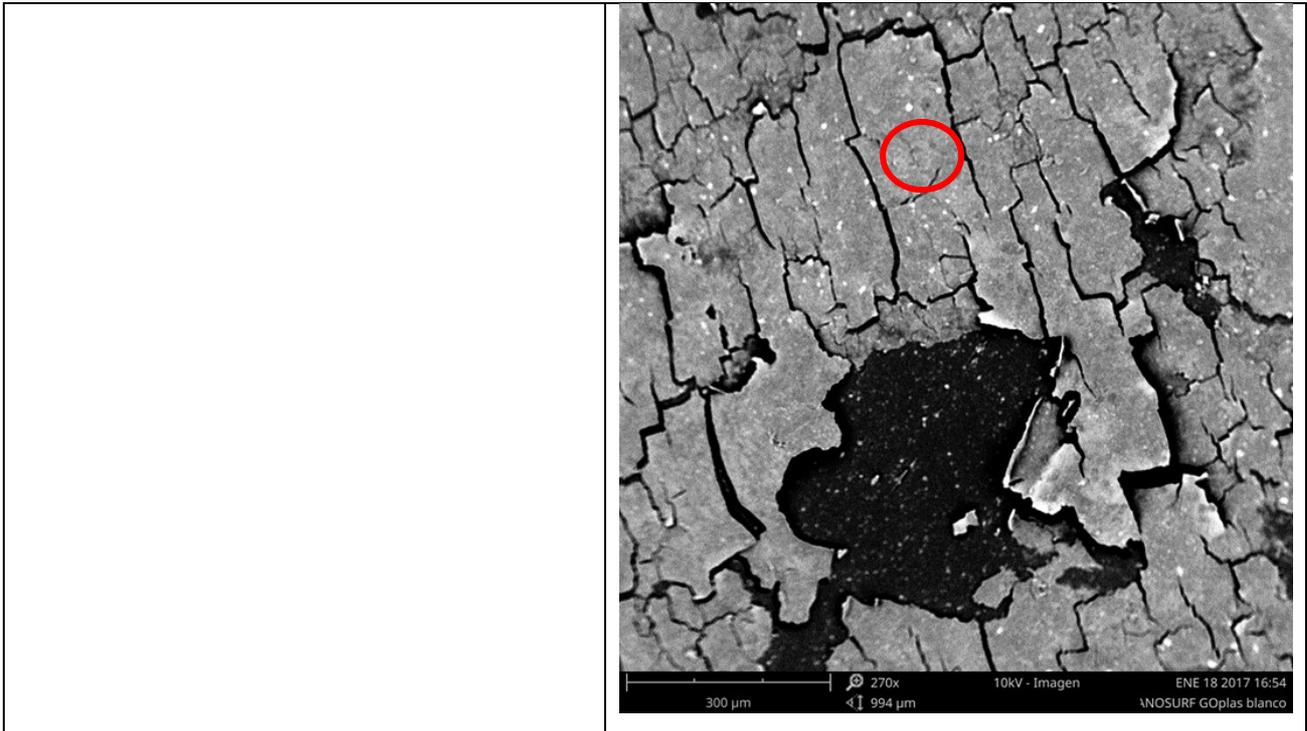
SUPERFICIES PLÁSTICAS.

Se han estudiado sistemas de sustratos plásticos con recubrimientos basados en barnices acrílicos con dispersión de grafeno oxidado (GO), GO liofilizado en la superficie, y barnices de poliéster con sílica fluorada dispersa a diferentes concentraciones. Los resultados, como tendencia general, muestran que las dispersiones basadas en grafeno presentan menor crecimiento biológico que las basadas en sílicas fluoradas. Dado que ninguno de los recubrimientos presenta propiedades superhidrofóbicas se observa abundante adhesión de cristales de sal (cloruro sódico) procedente del agua de mar. Dichas concentraciones podrían dar lugar a largo plazo a núcleos de crecimiento marino. Las muestras liofilizadas han mostrado escaso poder adherente lo que ha provocado la presencia de huecos y fracturas por la manipulación. Es en estas zonas donde se ha observado un mayor crecimiento biológico, dado que la combinación de rugosidad con la ausencia de recubrimiento las convierten en zonas aptas para el biofilm. Todas estas conclusiones quedan claramente reflejadas en las fotografías de microscopía electrónica de barrido (SEM), algunos de estos resultados se muestran en las siguientes figuras:

ABS Blanco

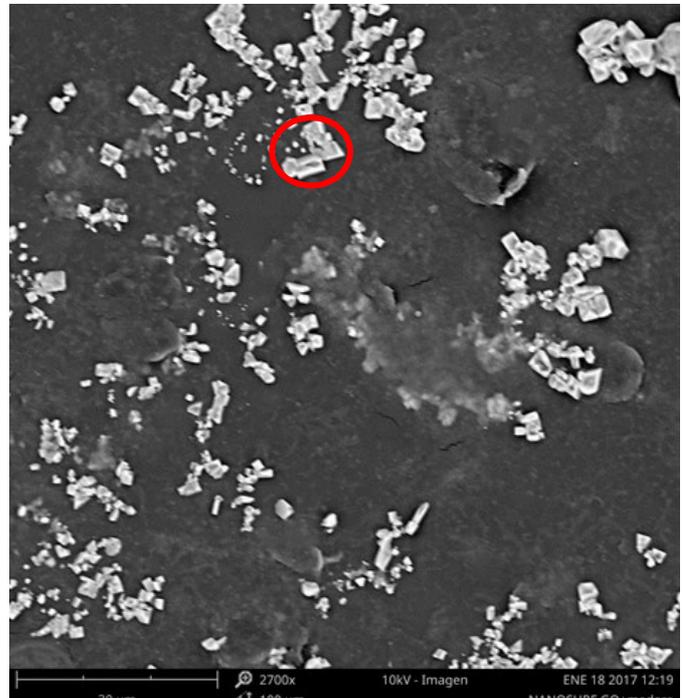
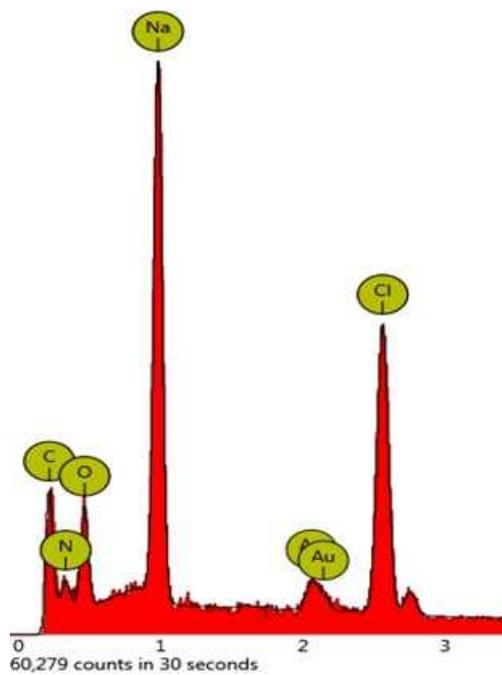
La muestra sin ningún tratamiento aparece llena de incrustaciones biológicas de color verdoso. El SEM muestra igualmente esas costras claramente de origen biológico (análisis elemental con S, N, Mg, N, Ca, etc.)





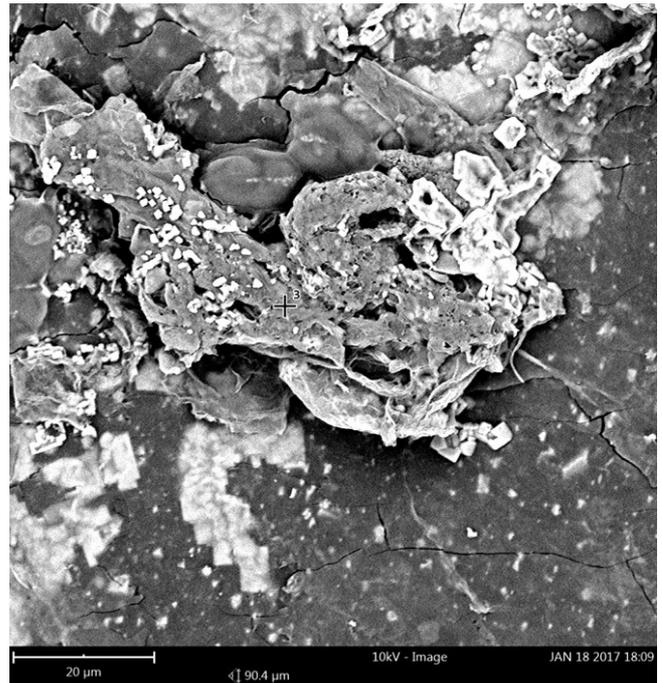
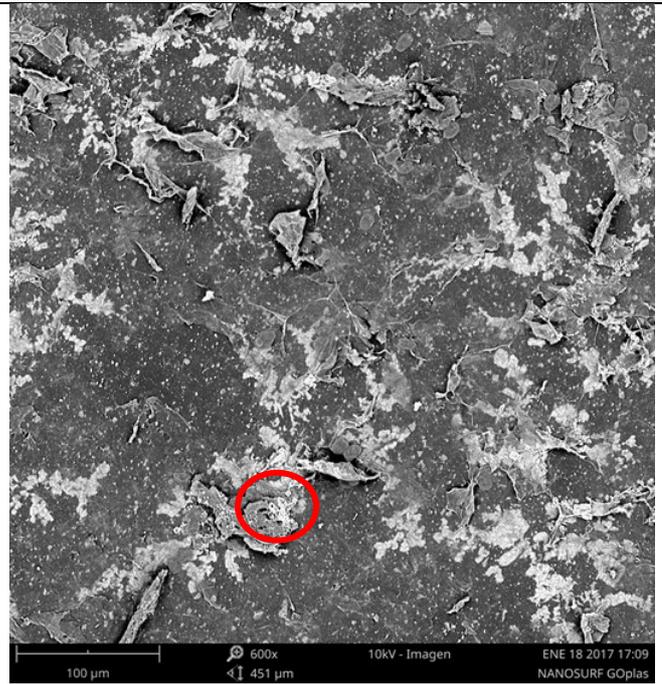
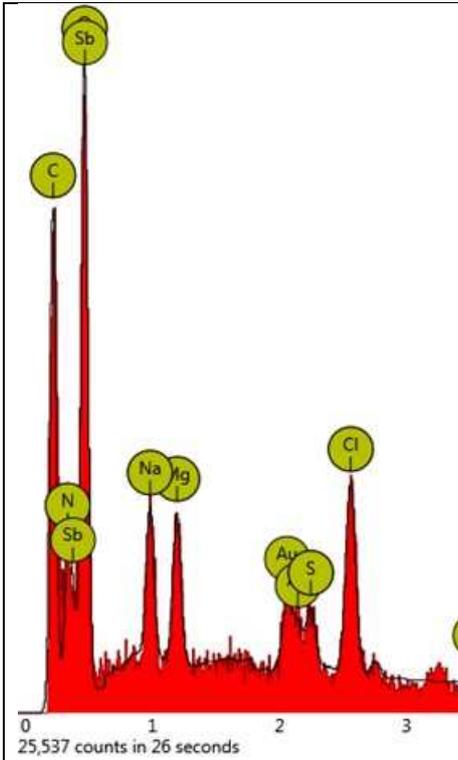
ABS + GO (acrílico)

La muestra aparece con pocas conformaciones de tipo biológico pero muchas incrustaciones de cristales de sal común (NaCl).



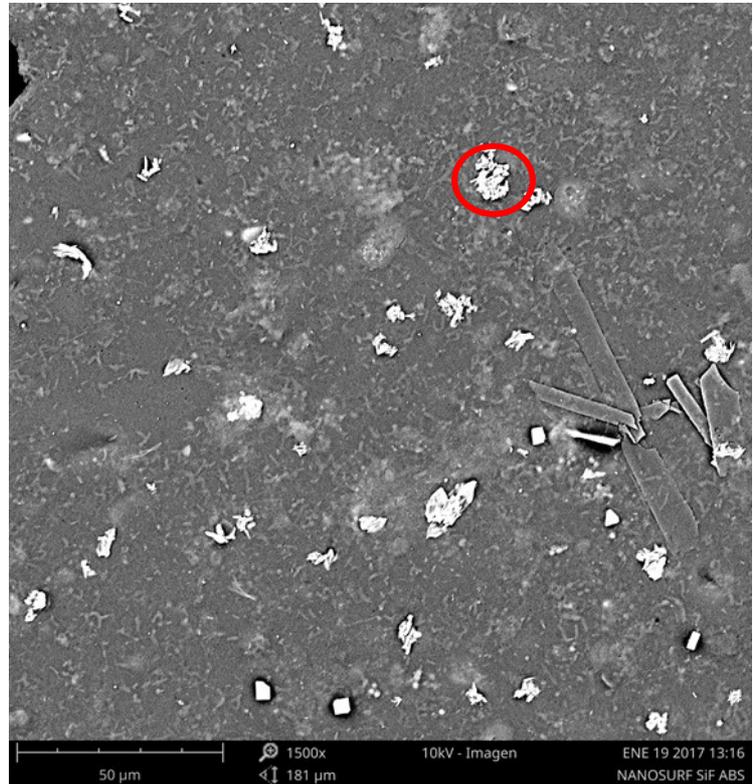
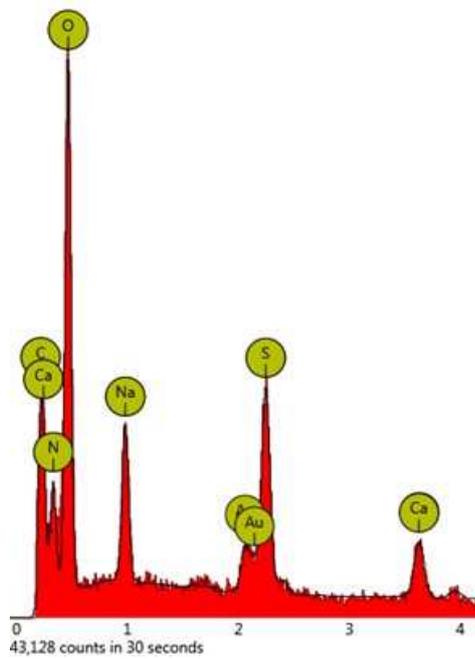
ABS + GO (liofilizado)

Aparecen crecimientos biológicos en las zonas de rotura del recubrimiento debido a su debilidad y a la manipulación. Las zonas más blanquecinas continúan siendo incrustaciones de sal común.



ABS + Sílica Fluorada (Si-F)

Aparecen depósitos de sal marina en forma de cristales, así como zonas con estructuras biológicas en constante crecimiento.

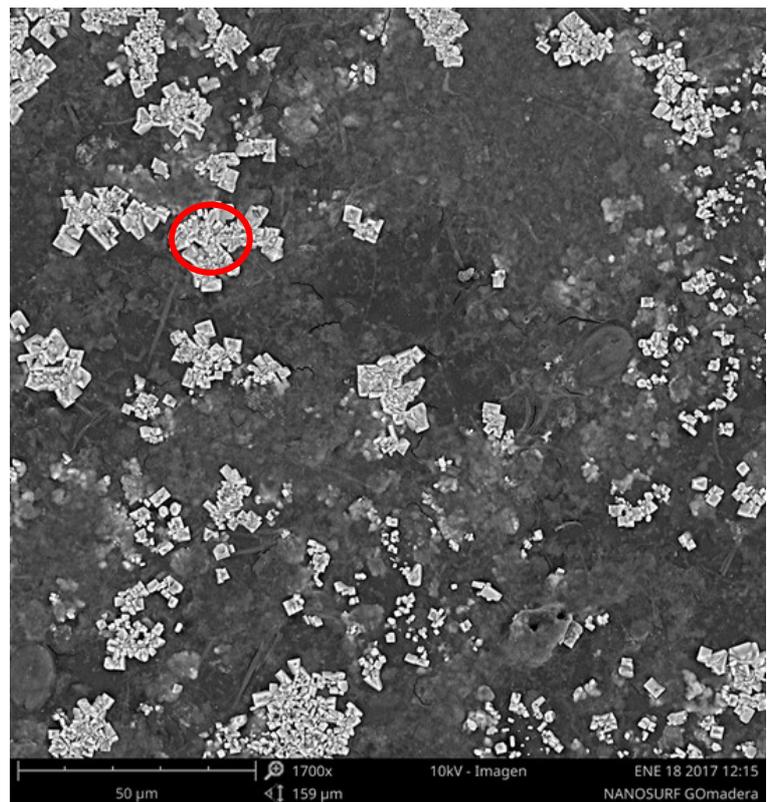
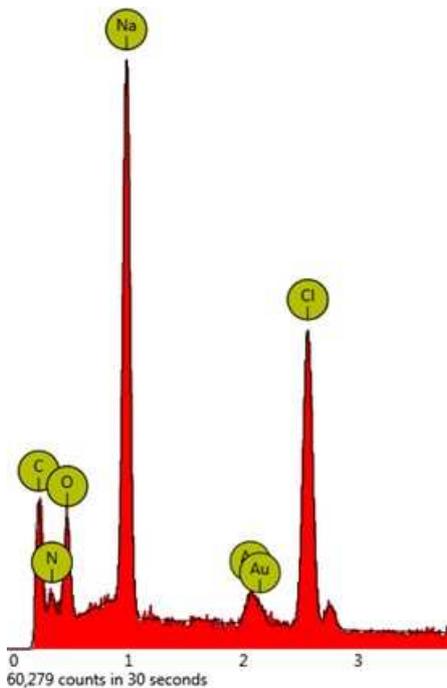


SUPERFICIES MADERA.

Se han estudiado sistemas de sustratos madera con recubrimientos basados en dispersiones de grafeno oxidado (GO), y sílica fluorada dispersa a diferentes concentraciones. La tendencia general muestra que los recubrimientos con GO aparecen depósitos en forma de cristales de sal común claramente incrustados en la superficie, ya que ésta no es superhidrofóbica. Asimismo, en la muestra con sílica fluorada la tendencia es a aparecer, además de la sal marina, unos pequeños crecimientos biológicos claramente diferenciados.

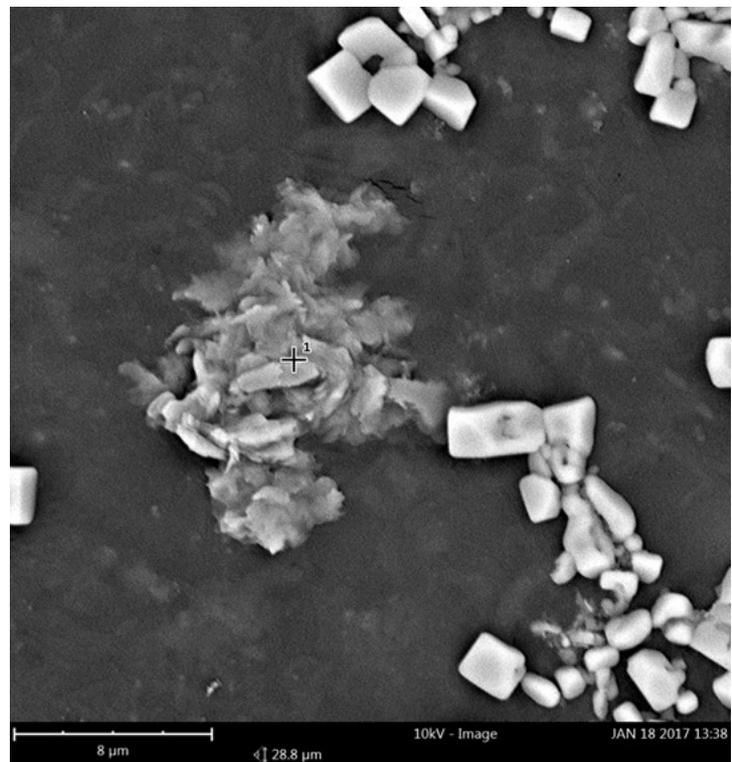
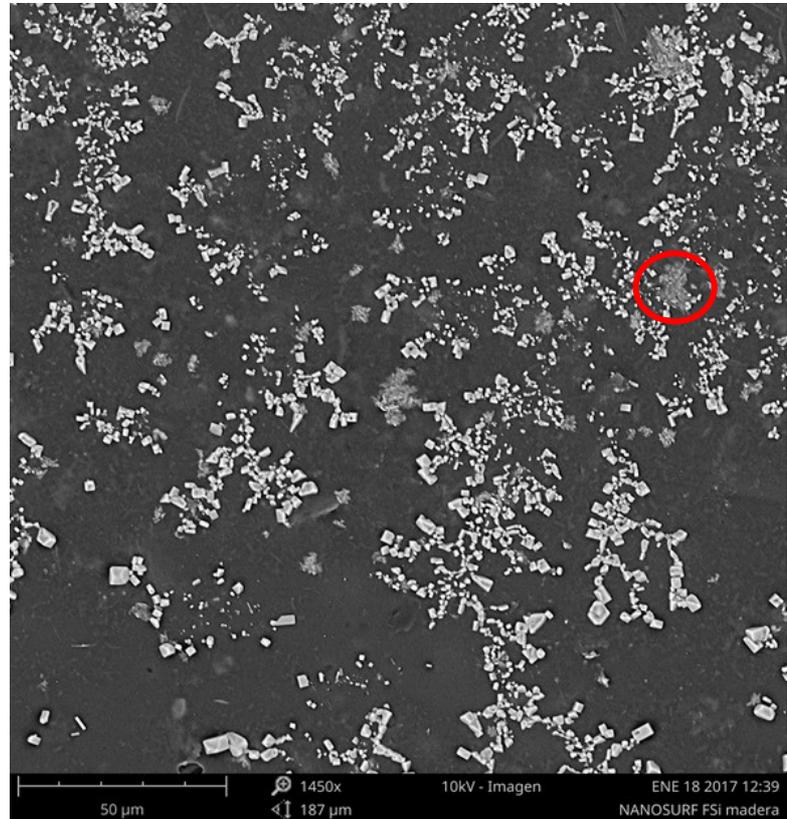
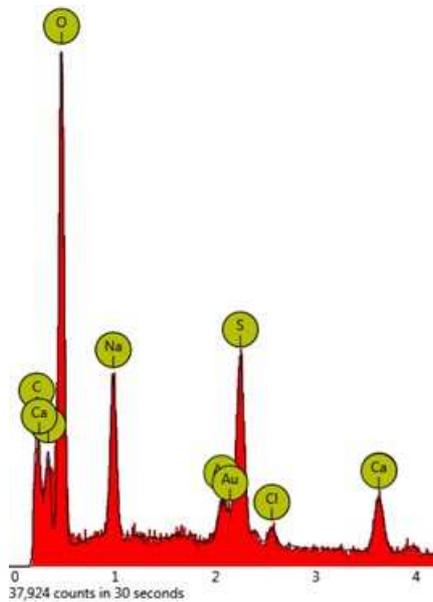
Madera + GO

Aparece abundancia de depósitos cristalinos de sal marina en la superficie del recubrimiento. No se detectan incrustaciones evidentes de estructuras biológicas. Sin embargo, se observa un parcial hinchamiento y desprendimiento del recubrimiento en determinadas zonas (ver fotografía adjunta).



Madera + Sílica fluorada (Si-F)

Aparece abundancia de depósitos cristalinos de sal marina en la superficie del recubrimiento, así como la presencia de estructuras biológicas en constante crecimiento distribuidas a lo largo de la superficie.

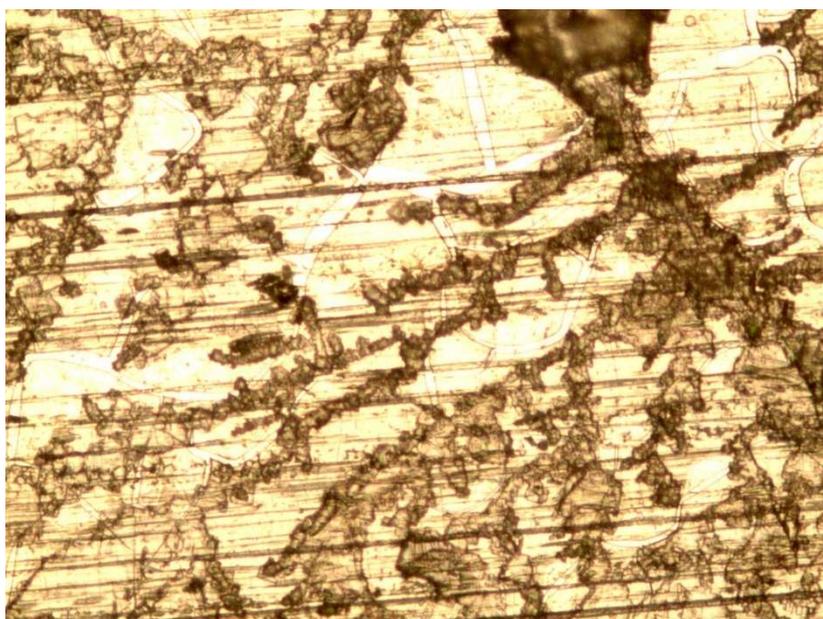


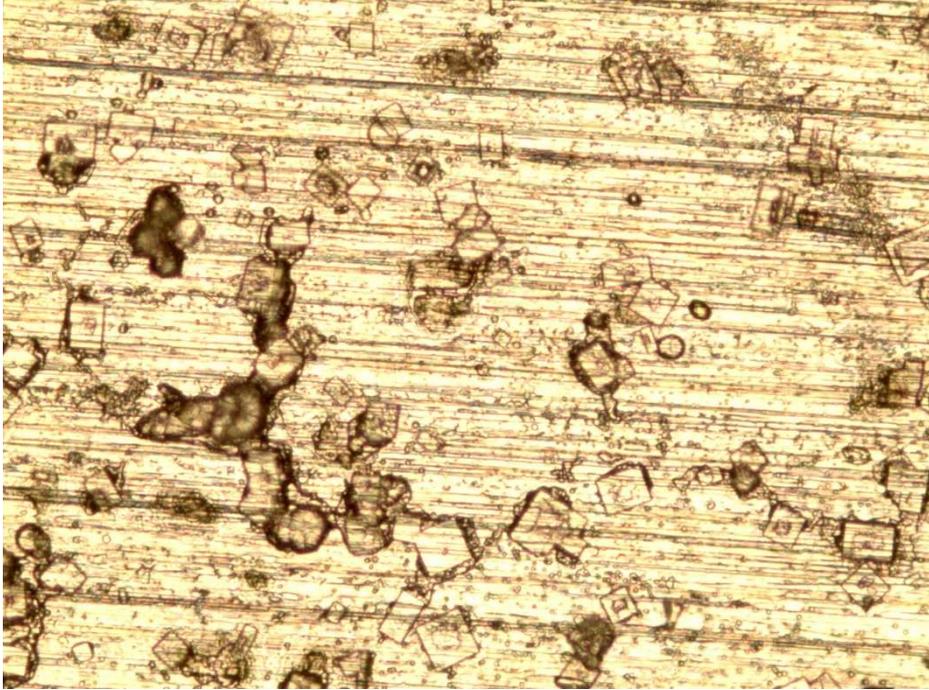
SUPERFICIES METÁLICAS.

Se han estudiado sistemas de sustratos metálicos con recubrimientos basados en dispersiones de grafeno oxidado (GO), y sílica fluorada dispersa a diferentes concentraciones. La tendencia general muestra que los recubrimientos con GO aparecen depósitos en forma de cristales de sal común claramente incrustados en la superficie, ya que ésta no es superhidrofóbica. Los blancos suelen presentar claros principios de crecimiento biológico. Se han realizado estudio de microscopia óptica de reflexión. Algunos ejemplos se muestran en las tablas siguientes:

Acero SS Blanco

Aparece abundancia de depósitos cristalinos de sal marina en la superficie del blanco sol-gel sin recubrimiento. Se observan asimismo incrustaciones evidentes de estructuras biológicas (ver fotografía adjunta).

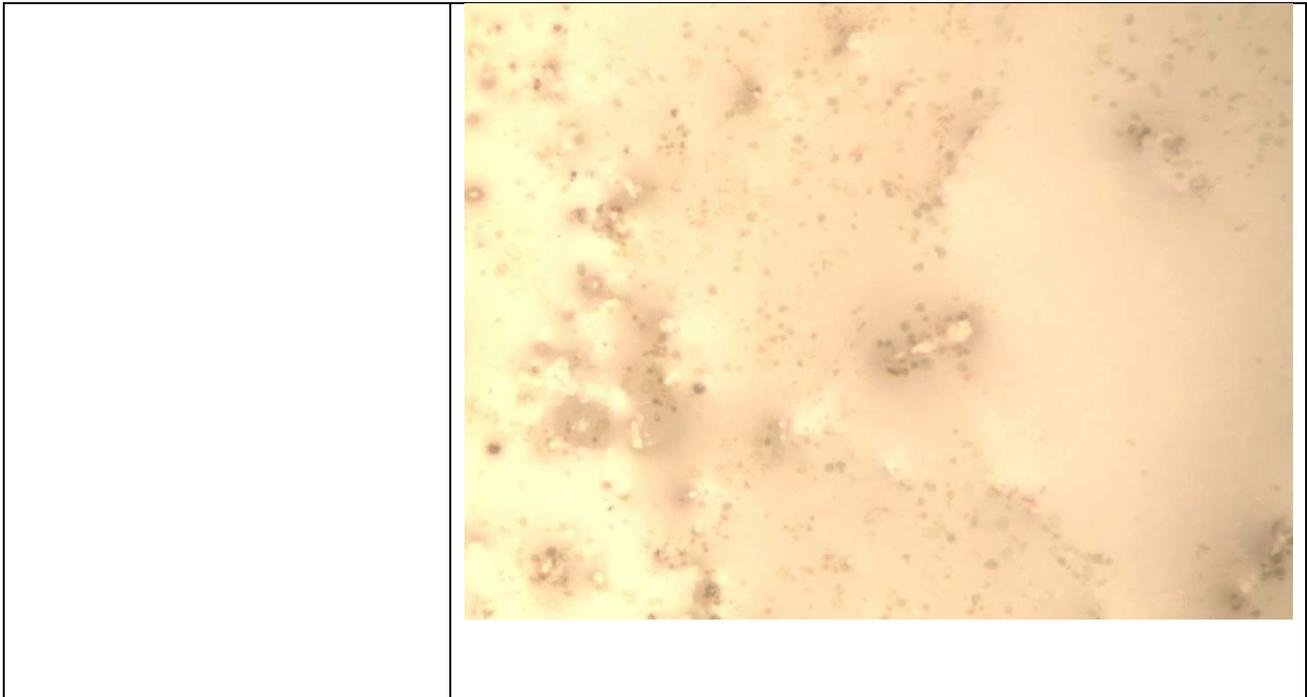


<p>Acero SS + GO</p> <p>Aparece abundancia de depósitos cristalinos de sal marina en la superficie del recubrimiento sol-gel con GO. Se observa crecimiento biológico pero a menor nivel que el blanco.</p>	
--	---

SUPERFICIES CERÁMICAS.

Se han estudiado sistemas de sustratos cerámicos con recubrimientos basados en dispersiones de grafeno oxidado (GO), y sílica fluorada a diferentes concentraciones. Los resultados en general, salvo matices, son bastante negativos. Se observa una tendencia general a producirse grandes depósitos de algas en la superficie de las cerámicas tratadas. Las siguientes tablas muestran algunos de los resultados obtenidos.

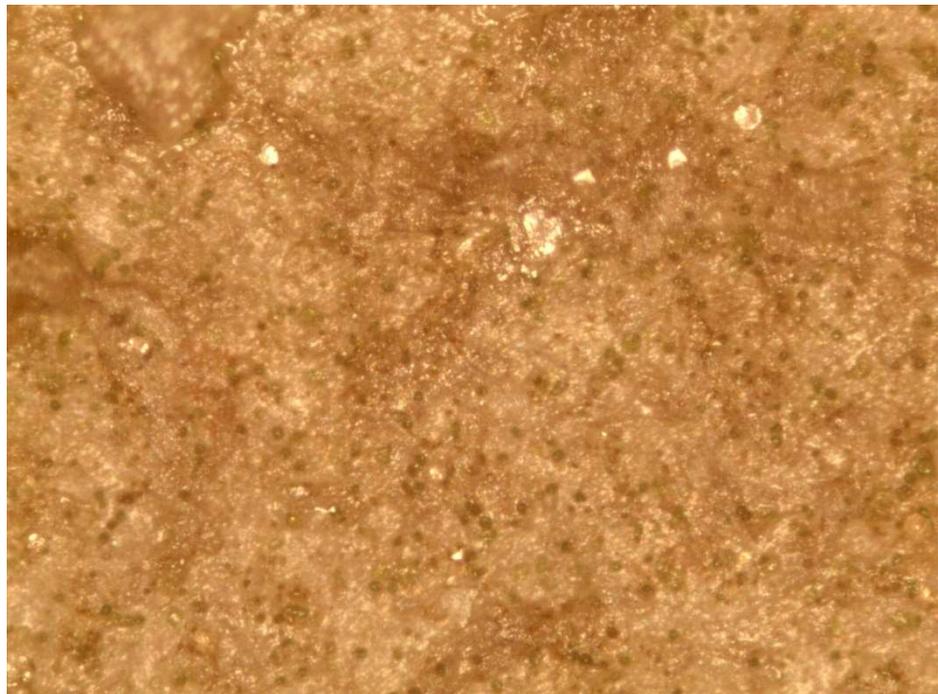
<p>Blanco Brillo y Mate</p> <p>En el blanco brillo apenas se observan crecimientos biológicos, mientras que en el mate sí que aparecen pequeñas estructuras que corresponden claramente a las microalgas. La concentración no es muy elevada (ver fotografía adjunta).</p>	
---	--



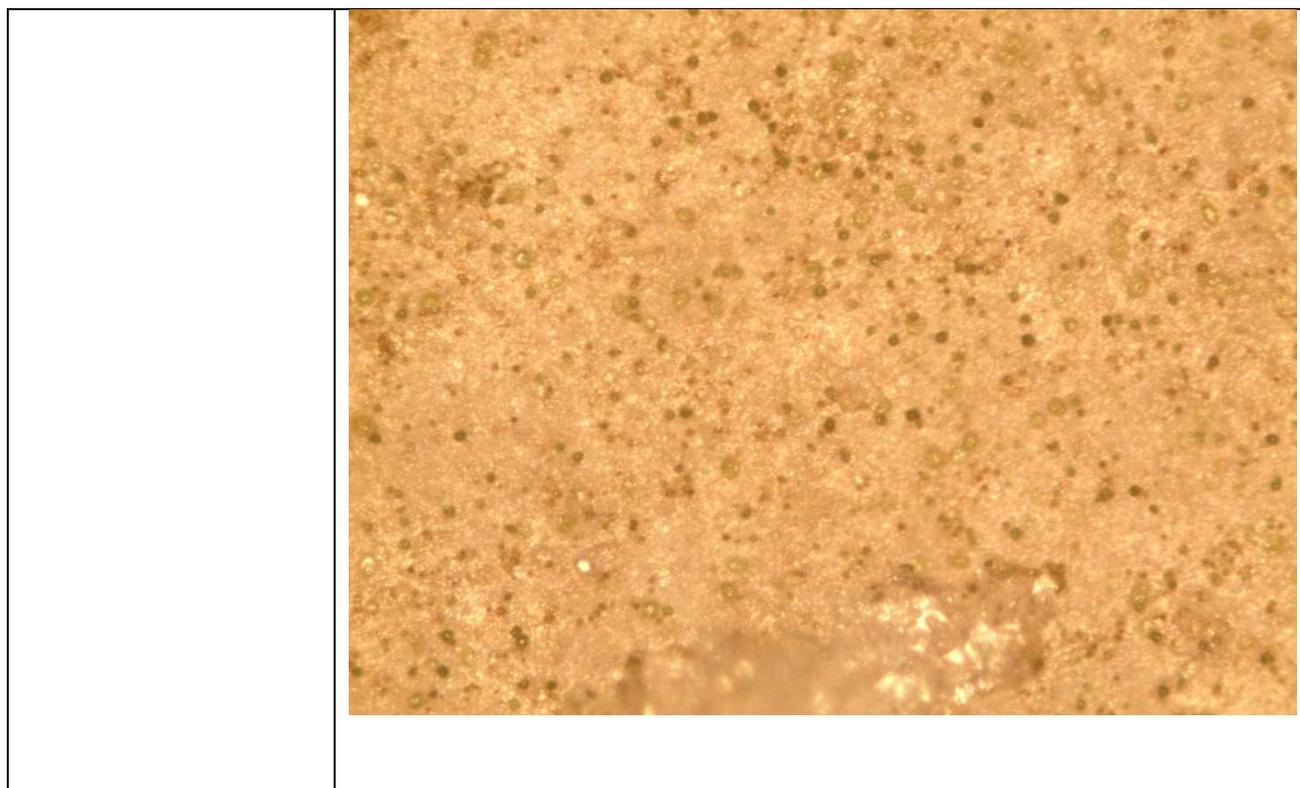
Cerámica con GO

Las muestras 15, 16, 20 y 21 muestran una evolución inversamente proporcional de crecimiento biológico. Se observan las microalgas, siendo la concentración de las mismas inferior en las muestras 20 y 21.

G15



G21



Cerámica con SiF

Se aprecia igualmente crecimiento biológico en la superficie de la muestra cerámica tratada (ver fotografía adjunta). En general, la concentración de microalgas incrustadas es inferior al caso del recubrimiento con GO.



5. CARACTERIZACIÓN ESPECÍFICA PARA SUBSTRATOS.

COMPORTAMIENTO FRENTE AL FUEGO EN SUBSTRATOS MADERA.

Normas de ensayo realizadas

- UNE 23721: 90. Ensayos de reacción al fuego de los materiales de construcción. Ensayo por radiación aplicable a los materiales rígidos o similares (materiales de revestimiento) de cualquier espesor y a los materiales flexibles de espesor superior a 5mm.
- UNE 23727:90. Ensayos de reacción al fuego de los materiales de construcción. Clasificación de los materiales utilizados en la construcción.

Descripción del método de ensayo

Método del Epirradiador (UNE 23 721:90).

Se ensayan 2 probetas* de 400mm x 300mm y de un espesor inferior a 120mm.

Se acondicionan las probetas en un recinto a (23 ± 3) °C y (50 ± 10) % de humedad relativa, hasta peso constante (± 2 %).

Se sitúa la probeta sobre un soporte, a 30mm de un foco radiante de calor constante, durante 20 minutos, observándose la inflamación de los gases desprendidos y la propagación de la combustión.

Durante el ensayo se determinan:

- Períodos de tiempo necesarios para la inflamación de las caras inferior (t1) y superior (t2) de la probeta, así como el tiempo de extinción de las llamas.
- Longitud de las llamas durante cada período de 30 segundos.
- Variaciones del equilibrio térmico de la cámara de ensayo en un registro.
- Otras incidencias o sucesos de interés: fusión del material caída de gotas, emisión de humos y su color, etc.

Con todos estos datos se calculan los siguientes índices:

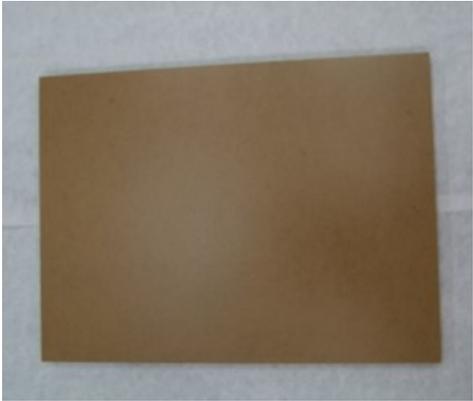
- índice de inflamabilidad "i"
- índice de desarrollo de las llamas "s"
- longitud máxima de las llamas "h"
- índice de combustibilidad "c"

Muestras seleccionadas objeto de ensayo

MUESTRA	REFERENCIA INTERNA	SUSTRATO
Barniz al agua monocomponente sin Nanopartículas	BLANCO	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente + Nanopartículas de salvia	SALVIA	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente + Gráfeno	GRAFENO	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente +Zeolita CBV 100 AgNO ₃ /H ₂ O (1/1)	A1	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente +Zeolita CBV 10A AgNO ₃ /H ₂ O (1/1)	A2	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente +Zeolita CBV 100 AgNO ₃ /H ₂ O (1/1,5)	B1	MDF ignifugo
Barniz al agua monocomponente +Zeolita CBV 10A AgNO ₃ /H ₂ O (1/1,5)	B2	MDF ignifugo

***Gramaje húmedo del barniz al agua monocomponente en todos los casos: 125g/m²**

Fotografías de las muestras de ensayo

	
BLANCO	SALVIA
	
GRAFENO	A1
	
A2	B1



B2

Resultados de ensayo

Ensayo de Reacción al Fuego de los Materiales de Construcción. Ensayo por radiación aplicable a los materiales rígidos o similares de cualquier espesor, y a los materiales flexibles de espesor superior a 5 mm, s/n UNE 23 721: 90.

REFERENCIA INTERNA/ N° PROBETA	i	s	h	c
BLANCO/1	1,42	0,30	0,75	<1
BLANCO/2	1,23	0,26	0,75	<1
SALVIA/1	1,36	0,26	0,75	<1
SALVIA/2	1,55	0,21	0,75	<1
GRAFENO/1	0	0	0	<1
GRAFENO/2	0	0	0	<1
A1/1	2,15	0,15	0,60	<1
A1/2	Se descarta la probeta al no obtener un resultado satisfactorio en el ensayo de la primera muestra			
A2/1	1,96	0,15	0,60	<1
A2/2	Se descarta la probeta al no obtener un resultado satisfactorio en el ensayo de la primera muestra			
B1/1	0	0	0	<1
B1/2	0	0	0	<1

B2/1	0	0	0	<1
B2/2	0	0	0	<1

Clasificación de las muestras en su reacción al fuego

Ensayos de reacción al fuego de los materiales de construcción. Clasificación de los materiales utilizados en la construcción, s/n UNE 23727:90.

REFERENCIA INTERNA/ N° PROBETA	CLASIFICACIÓN	GRADO DE INFLAMABILIDAD
BLANCO/1	M3	MODERADAMENTE INFLAMABLE
BLANCO/2	M3	MODERADAMENTE INFLAMABLE
SALVIA/1	M3	MODERADAMENTE INFLAMABLE
SALVIA/2	M3	MODERADAMENTE INFLAMABLE
GRAFENO/1	M1	NO INFLAMABLE
GRAFENO/2	M1	NO INFLAMABLE
A1/1	M2	DIFÍCILMENTE INFLAMABLE
A2/1	M2	DIFÍCILMENTE INFLAMABLE
B1/1	M1	NO INFLAMABLE
B1/2	M1	NO INFLAMABLE
B2/1	M1	NO INFLAMABLE
B2/2	M1	NO INFLAMABLE

Discusión de los resultados.

Los sustratos utilizados son soportes de MDF ignífugos clasificados como **M1** s/n UNE 23721:90.

Tras aplicarle el barniz al agua monocomponente (BLANCO) la clasificación obtenida es un **M3**, partiendo de esta clasificación se aditivan diferentes Nanopartículas al barniz para comparar si estas mejoran las propiedades de reacción al fuego.

Tras el ensayo de la muestra referenciada como SALVIA, se observa que esta Nanopartícula ni mejora ni empeora la clasificación, con lo cual se determina que no tiene propiedades ignífugas ni que a su vez aporta una mayor carga de fuego al conjunto, quedando clasificada la muestra nuevamente como **M3**.

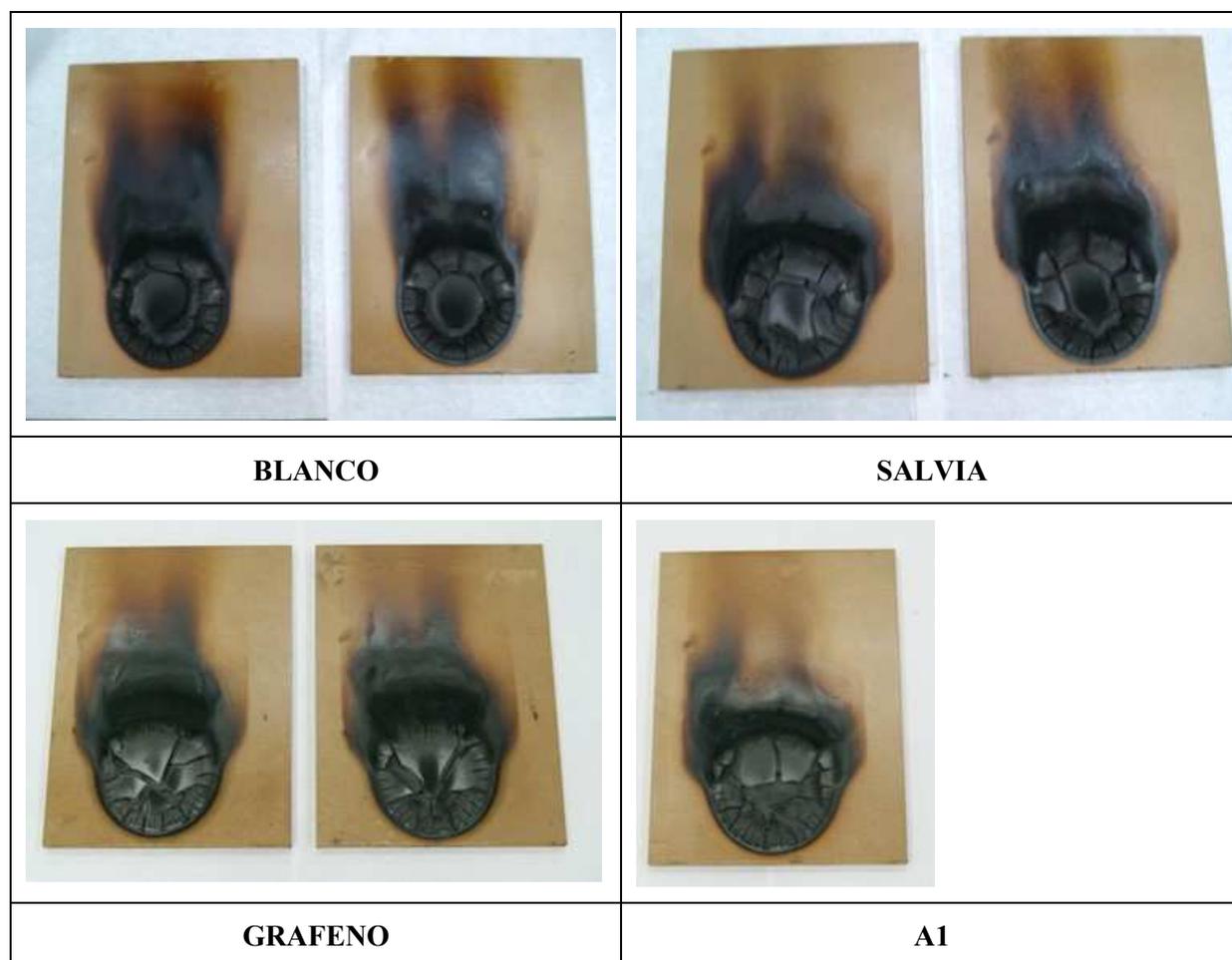
Tras el ensayo con la muestra aditivada con Nanopartículas de Grafeno se observa una mejora de 2 clasificaciones en la reacción al fuego, obteniendo un **M1**, siendo este el mejor resultado posible para la muestra objeto de ensayo, y demostrando así que esta Nanopartícula posee características ignífugas.

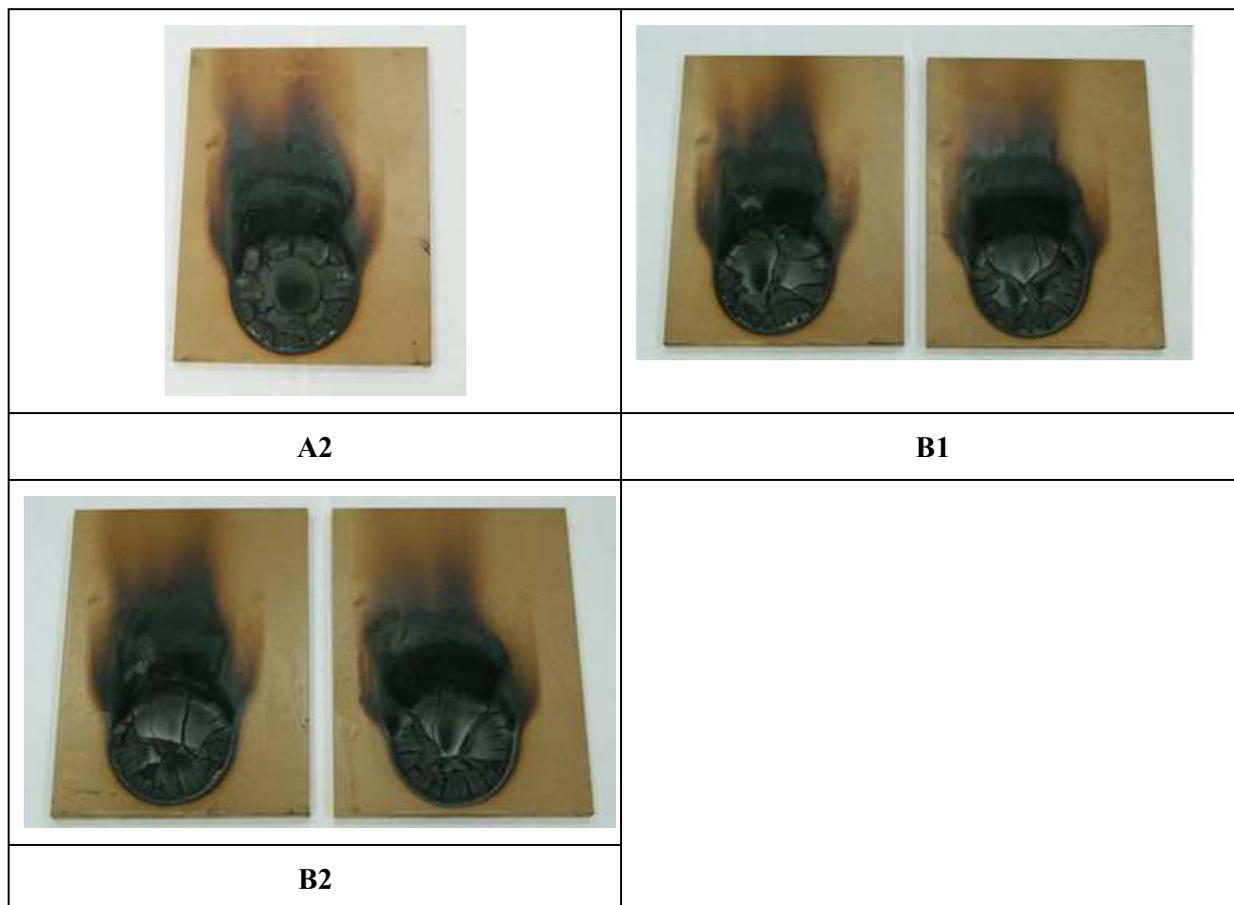
En cuanto a las muestras referenciadas como A1 y A2, a pesar de que se obtiene una mejora de la clasificación inicial, **M2**, quedan descartadas en pro de aquellas muestras que sí consiguen obtener la clasificación final M1.

Las muestras referenciadas como B1 y B2, también alcanzan la clasificación deseada **M1**, comprobando así sus características ignífugas.

Por tanto y a la vista de los resultados obtenidos, las muestras que seguirán siendo objeto de estudio en su comportamiento de reacción al fuego son aquellas aditivadas con Nanopartículas y referenciadas internamente como: Grafeno, B1 y B2.

Fotografías de las muestras tras el ensayo





Resumen de la clasificación y grado de inflamabilidad para materiales combustibles

CLASIFICACIÓN	GRADO DE INFLAMABILIDAD
M1	NO INFLAMABLE
M2	DIFÍCILMENTE INFLAMABLE
M3	MODERADAMENTE INFLAMABLE
M4	FÁCILMENTE INFLAMABLE

Criterios de clasificación s/n UNE 23727:90

Resumen de las clasificaciones obtenidas por los materiales rígidos y los materiales flexibles de espesor superior a 5 mm.

	CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN				
PARAMETROS	i = 0 s = 0	i cualquiera s < 0,2	i < 1 s < 1	i cualquiera s < 1	i < 2 s < 5

	$h = 0$ $c < 1$	$h < 1$ $c < 1$	$h < 1$ $c < 1$	$h < 1,5$ $c < 1$	$h < 2,5$ $c < 2,5$
CLASIFICACIÓN	M1	M2		M3	

Ensayo de Propagación de la Llama.	Materiales que no entran en las clases precedentes y con un valor de Velocidad de Propagación < 2 mm/s. M4
---	---

EVALUACIÓN DE PROPIEDADES ANTI-CORROSIVAS Y DE ADHERENCIA EN LOS SUSTRATOS METÁLICOS

De manera general se realizaron ensayos de resistencia a la corrosión mediante técnicas electroquímicas no invasivas, EIS (espectroscopía de impedancia electroquímica). La resistencia a la corrosión se debe realizar con y sin aditivos para valorar los efectos que pueden llevar estos aditivos a la resistencia a la corrosión de estos metales. Es importante obtener una buena compatibilidad entre las propiedades antimicrobianas y antifouling con la propiedad de resistencia a la corrosión. Esto es debido, a que tanto en los procesos de crecimiento del fouling que se generan en agua de mar principalmente, ambiente altamente corrosivo, como en el caso del crecimiento bacteriano, en el que puede haber bajadas de pH que provoquen situaciones de corrosión localizada, el recubrimiento debe ser protector del sustrato y además, la interacción con el aditivo debe ser nula en dicho efecto o sinérgica, mejorando dicha propiedad.

Previamente a los ensayos de corrosión se realizaron pruebas de adhesión de los recubrimientos a los sustratos mediante ensayo de corte por enrejado, UNE EN ISO 2409:2013 para ello se evaluaron los espesores finales mediante método magnético (UNE-EN ISO 2808:2007 (7C); UNE-EN ISO 2178:1996) y/o corrientes inducidas (UNE-EN ISO 2808:2007 (7D); UNE-EN ISO 2360:2004). Los datos de estos ensayos sobre los prototipos recubiertos seleccionados para las pruebas de antifouling y antimicrobiano se muestran en la siguiente tabla.

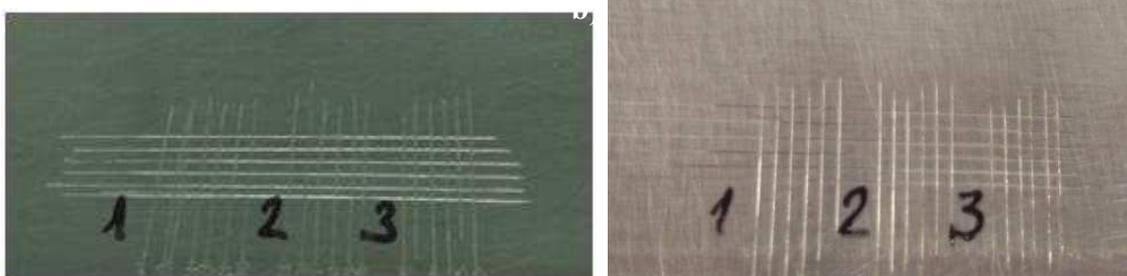
Espesores

Sustrato / Aplicación	Probeta Ref.	Valor mínimo (µm)	Valor máximo (µm)	Desv. Típica (µm)	Valor medio (µm) Incertidumbre calculada para k=2
Acero Inoxidable 304 / Antifouling	ACERO 304 – ENS3 Recubrimiento sol-gel sin aditivos	9,8	12,8	1,0	11,6 ± 2,1
	ACERO 304 – SFINS3 Recubrimiento con sílica fluorada	15,2	20,7	1,6	18,9 ± 2,3
	ACERO 304 –GOENS Recubrimiento con óxido de grafeno	18,3	21,5	1,0	20,2 ± 2,1
Aluminio 2024 / Antimicrobiano	Al 2024 – SGA Recubrimiento sol-gel sin aditivos	3,4	5,8	0,8	4,4 ± 1,6
	Al 2024 – SGA_B2 Recubrimiento sol-gel con zeolitas de Ag	6,5	10,7	1,5	8,1 ± 1,8
	Al 2024 – SGA_D1 Recubrimiento sol-gel con zeolitas de Cobre	4,6	11,2	2,4	8,0 ± 2,2

Adherencia por corte por enrejado

Sustrato	Probeta Ref.	Resultado:
Acero Inoxidable 304	ACERO 304 – ENS3_P1 Recubrimiento sol-gel sin aditivos	2,2,2
Aluminio 2024	Al 2024 – SGA Recubrimiento sol-gel sin aditivos	0,0,1

0. Los bordes de las incisiones son perfectamente lisos: ningún cuadrado del enrejado se ha desprendido.
1. Se observan ligeros desprendimientos del recubrimiento en las intersecciones de las incisiones. El área de enrejado afectada no es superior al 5%.
2. Se observan desprendimientos del recubrimiento en los bordes y/o en las intersecciones de las incisiones. El área de enrejado afectada es mayor del 5% pero no mayor del 15%.

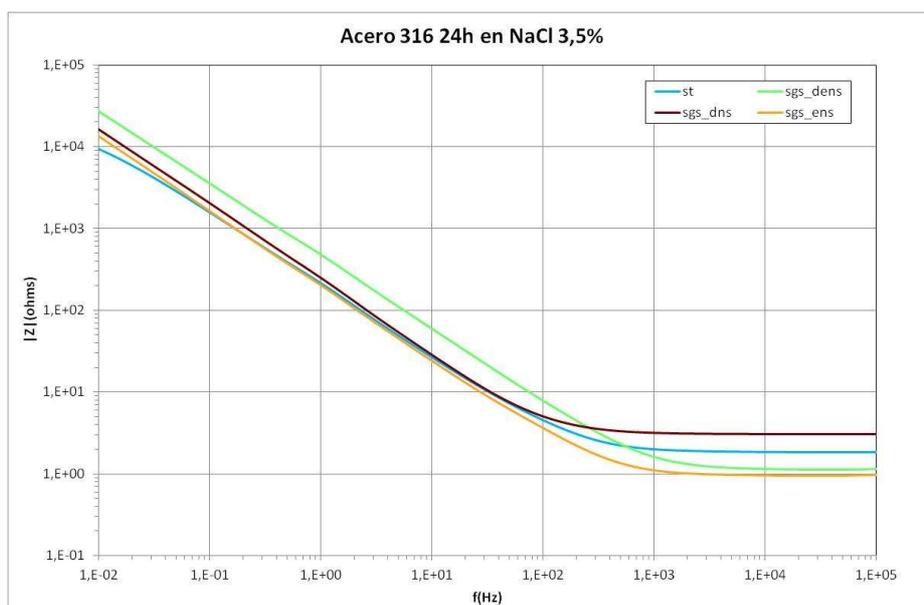


Resultado de adherencia por corte por enrejado de los dos recubrimientos seleccionados para a) antifouling sobre acero inoxidable y b) antimicrobiano sobre aluminio.

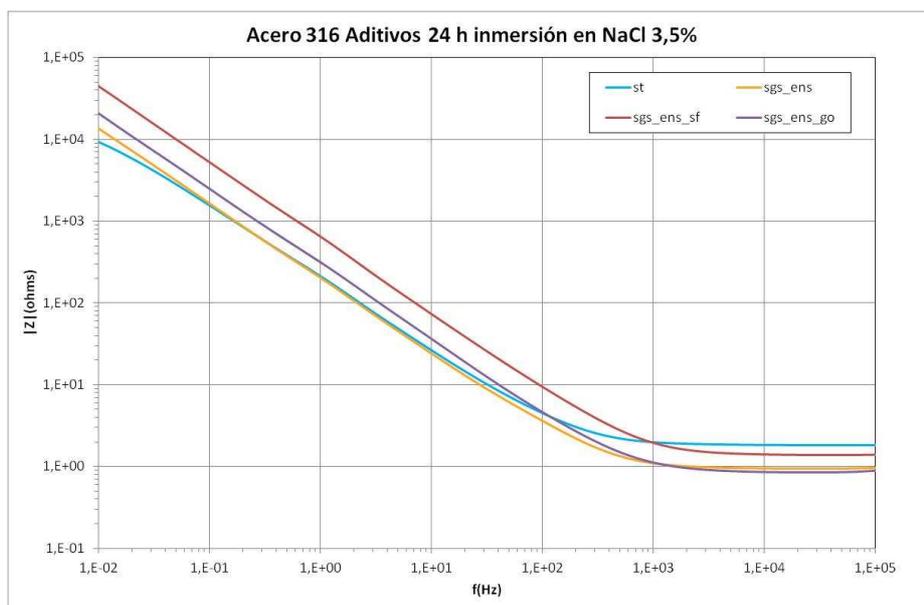
Evaluación resistencia a la corrosión

A.- Sustrato acero inoxidable 316: aplicación antifouling

Se realizaron ensayos de resistencia a la corrosión a las 2 h, 24 h,... hasta 21 días en medio corrosivo de NaCl 3,5% evaluándose las impedancias o resistencias a la corrosión del recubrimiento frente a un sustrato sin recubrir, ST. Se formularon 3 recubrimientos base distintos, todos ellos proporcionaron valores de resistencia parecidos pero el que proporcionó una mayor dispersión de los aditivos fue el seleccionado para introducir los principios activos. En términos de corrosión se evaluaron todos ellos. A continuación, a modo de ejemplo, se muestra la gráfica de los ensayos realizados a 24 horas de inmersión de los recubrimientos sin aditivos y con aditivos para la aplicación antifouling.



Selección del recubrimiento sin aditivos mediante ensayo de impedancias del sustrato acero 316 con tres recubrimientos distintos sin aditivos y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST.



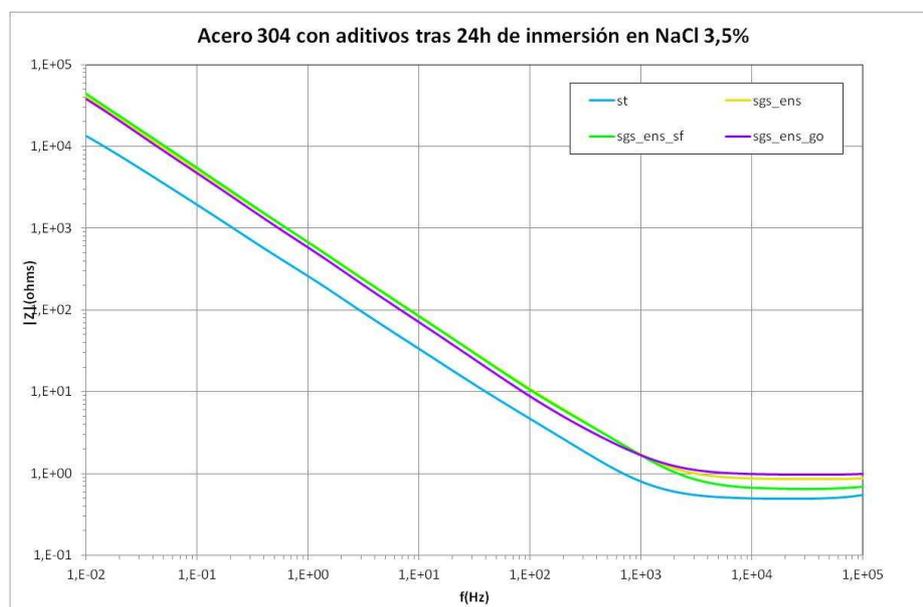
Evaluación del efecto sinérgico del recubrimiento seleccionado con los aditivos antifouling, SGS_ENS_SF (sílica fluorada) y SGS_ENS_GO (óxido de grafeno) y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST y el recubrimiento sin aditivos, SGS_ENS.

Los datos obtenidos de las gráficas anteriores muestran que los recubrimientos con y sin aditivos aumentan un orden de magnitud la resistencia a la corrosión del sustrato original. Además, en el caso de la Sílica Fluorada, SGS_ENS_SF, existe un efecto sinérgico apreciable como se observa en la siguiente tabla.

	Sustrato 316 SS 24h	Z (ohm) 10 mHz
Sustrato sin recubrir	ST	9,33E+03
Recubrimientos sin aditivos	SGS_DENS	2,70E+04
	SGS_DNS	1,63E+04
	SGS_ENS	1,36E+04
Recubrimiento con aditivos	SGS_ENS_GO	2,07E+04
	SGS_ENS_SF	4,47E+04

B.- Sustrato acero inoxidable 304: aplicación antifouling

Se realizaron ensayos de resistencia a la corrosión a las 2 h, 24 h,... hasta 14 días en medio corrosivo de NaCl 3,5% evaluándose las impedancias o resistencias a la corrosión del recubrimiento frente a un sustrato sin recubrir, ST. Se formularon con la misma base seleccionada para el sustrato 316, ya que fue la que proporcionó mejor dispersión de los aditivos con similares resistencias a la corrosión. En términos de corrosión se evaluaron los aditivos antifouling, SGS_ENS_SF (sílica fluorada) y SGS_ENS_GO (óxido de grafeno). A continuación, a modo de ejemplo, se muestra la gráfica de los ensayos realizados a 24 horas de inmersión de los recubrimientos sin aditivos y con aditivos para la aplicación antifouling.



Evaluación del efecto sinérgico del recubrimiento seleccionado con los aditivos antifouling, SGS_ENS_SF (sílica fluorada) y SGS_ENS_GO (óxido de grafeno) y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST y el recubrimiento sin aditivos, SGS_ENS.

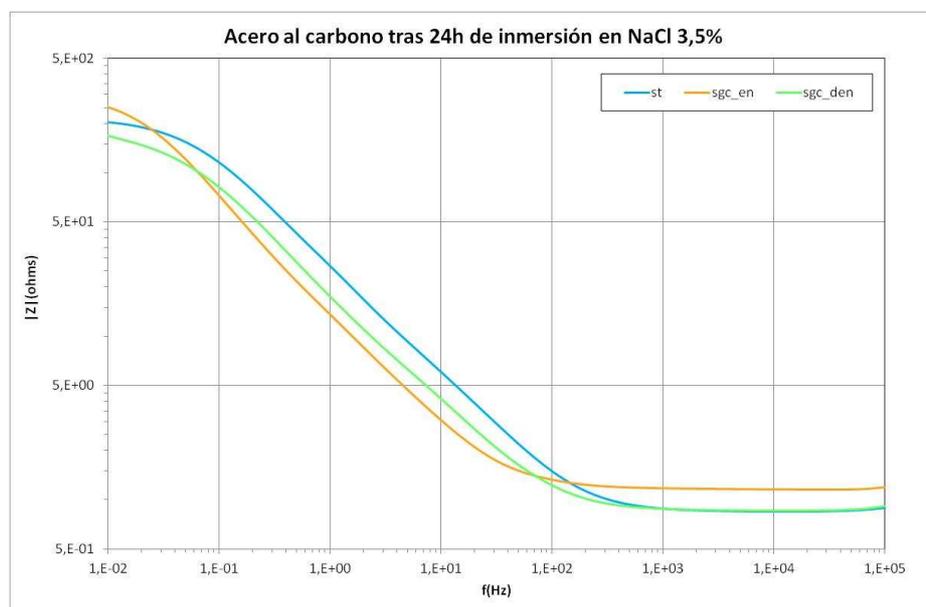
Los datos obtenidos de las gráficas anteriores muestran que los recubrimientos con y sin aditivos aumentan en cuatro veces la resistencia a la corrosión del sustrato original. Sin embargo no se

observa efecto sinérgico entre los aditivos y el recubrimiento sin ellos. Tampoco se observa un deterioro derivado de su adición.

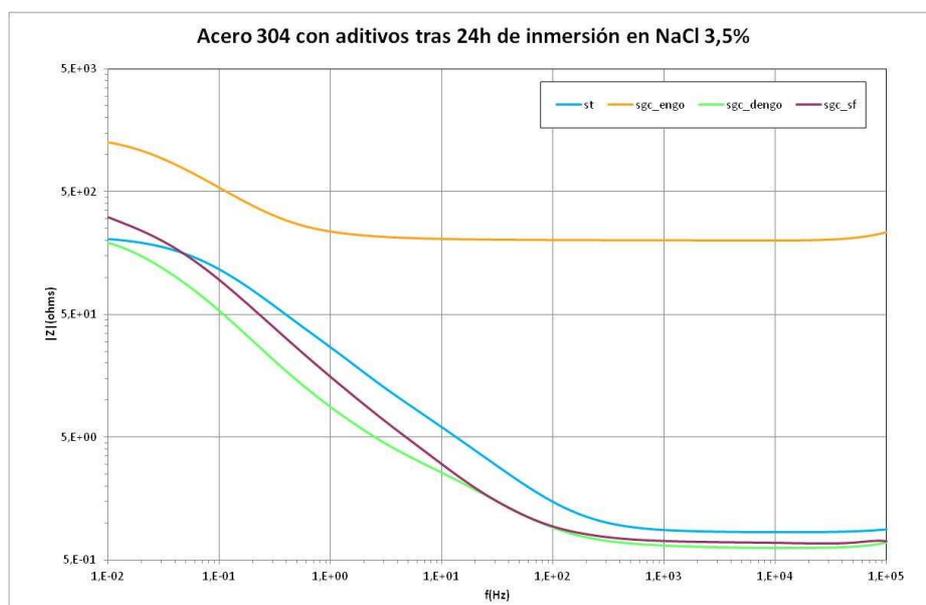
	Sustrato 304 SS 24h	Z (ohm) 10 mHz
Sustrato sin recubrir	ST	1,34E+04
Recubrimientos sin aditivos	SGS_ENS	4,13E+04
Recubrimiento con aditivos	SGS_ENS_GO	3,79E+04
	SGS_ENS_SF	4,47E+04

C.- Sustrato acero al carbono: aplicación antifouling

Se realizaron ensayos de resistencia a la corrosión a las 2 h y a las 24 h en medio corrosivo de NaCl 3,5% evaluándose las impedancias o resistencias a la corrosión del recubrimiento frente a un sustrato sin recubrir, ST. Se formularon dos bases distintas para el sustrato acero al carbono, una más concentrada, SGC_EN y otra más diluida, SGC_DEN. Se seleccionó la concentrada para la sílica ya que proporcionaba mejor dispersión y en el caso del óxido de grafeno se evaluaron ambar con dicho aditivo. En términos de corrosión se evaluaron los aditivos antifouling, SGC_ENS_SF (sílica fluorada) y SGS_ENS_GO (óxido de grafeno). A continuación, a modo de ejemplo, se muestra la gráfica de los ensayos realizados a 24 horas de inmersión de los recubrimientos sin aditivos y con aditivos para la aplicación antifouling.



Selección del recubrimiento sin aditivos mediante ensayo de impedancias del sustrato acero al carbono, CS, con dos recubrimientos distintos sin aditivos, uno concentrado, SGC_EN y otro diluido, SGC_DEN, y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST.



Evaluación del efecto sinérgico del recubrimiento seleccionado con los aditivos antifouling, SGC_SF (sílica fluorada) y SGC_ENGO y SGC_DENGO (óxido de grafeno) y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST.

De la evaluación de los datos anteriores se observa que el recubrimiento diluido con el grafeno muestra el mismo comportamiento que el sustrato original, por lo que no se ve efecto protector. En el caso de la sílica fluorada y el óxido de grafeno con el recubrimiento concentrado sí que se observa una protección que en el caso del grafeno es mayor de un orden de magnitud, por lo que se puede decir que existe un efecto sinérgico entre el recubrimiento y el aditivo, como se observa en la siguiente tabla.

	Sustrato Acero al Carbono 24h	Z (ohm) 10 mHz
Sustrato sin recubrir	ST	2,04E+02
Recubrimientos sin aditivos	SGC_EN	2,51E+02
	SGC_DEN	1,68E+02
Recubrimiento con aditivos	SGC_ENGO	1,25E+03
	SGC_DENGO	1,90E+02
	SGC_SF	3,08E+02

En las siguientes imágenes se muestra el estado de las muestras de acero al carbono tras 24 horas en inmersión NaCl 3,5% para su evaluación visual. En ellas se puede observar el claro efecto de protección contra la corrosión del óxido de grafeno sobre el acero al carbono.



A: SUSTRATO SIN RECUBRIR



B: SUSTRATO RECUBIERTO SGC_EN



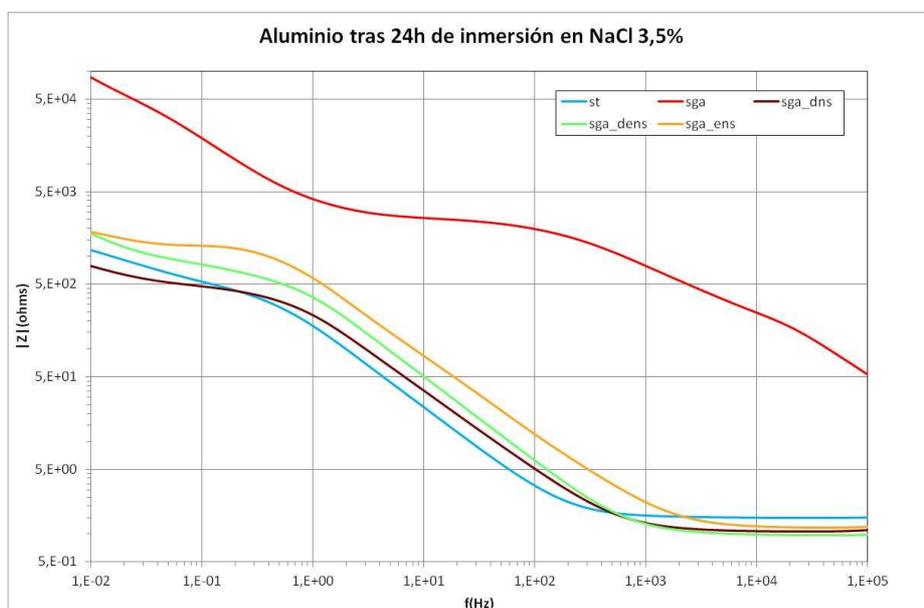
C: SUSTRATO CON SÍLICA FLUORADA



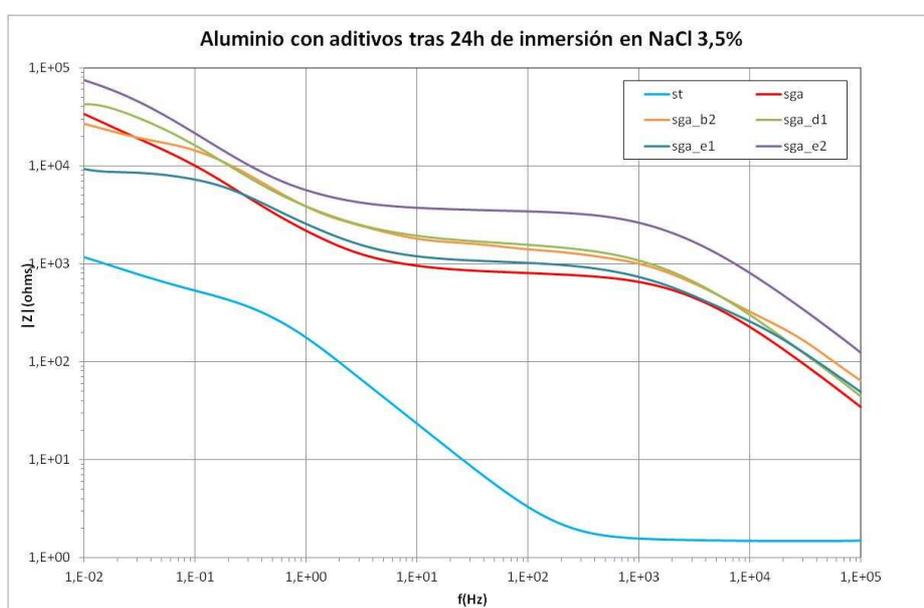
D: SUSTRATO CON ÓXIDO DE GRAFENO

D.- Sustrato aluminio: aplicación antibacteriano

Se realizaron ensayos de resistencia a la corrosión a las 2 h, 24 h,...hasta 7 días, en medio corrosivo de NaCl 3,5% evaluándose las impedancias o resistencias a la corrosión del recubrimiento frente a un sustrato sin recubrir, ST. Se formularon cuatro bases distintas para el sustrato aluminio, dos concentradas, SGA_ENS y SGA y otras dos diluidas, SGA_DEN y SGA_DN. Se seleccionó la concentrada SGA para la dispersión de los aditivos antibacterianos de las zeolitas y nanozeolitas de plata y cobre, ya que proporcionaba mejor dispersión y mucha mejor resistencia a la corrosión. A continuación, a modo de ejemplo, se muestra la gráfica de los ensayos realizados a 24 horas de inmersión de los recubrimientos sin aditivos y con aditivos para la aplicación antifouling.



Selección del recubrimiento sin aditivos mediante ensayo de impedancias del sustrato Aluminio, con cuatro recubrimientos distintos sin aditivos, dos concentrados, SGA y SGA_ENS y otros dos diluidos, SGA_DENS y SGA_ENS, y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST.



Evaluación del efecto sinérgico del recubrimiento seleccionado, SGA, con los aditivos antibacterianos, SGA_B2 (zeolitas Ag), SGA_D1 (zeolitas Cu), SGA_E1 (nanozeolitas Ag) y SGA_E2 (nanozeolitas Cu) y su comparación con el sustrato sin recubrir, ST.

De la gráfica anterior se observa que todos los recubrimientos con base el SGA mejoran la resistencia a la corrosión del sustrato aluminio desnudo en más de un orden de magnitud. Además, para el caso concreto de los aditivos con cobre, D1 y E2 se observa un efecto sinérgico que llega hasta medio orden de magnitud más para las nanozeolitas de cobre. Para los aditivos de plata no se

observa efecto sinérgico claro pero tampoco un deterioro del recubrimiento debido a dichos aditivos. Los datos de impedancias a 10 mHz se muestran en la siguiente tabla.

	Sustrato Aluminio 24h	Z (ohm) 10 mHz
Sustrato sin recubrir	ST	1,18E+03
Recubrimientos sin aditivos	SGA	3,37E+04
	SGA_ENS	1,84E+03
	SGA_DENS	1,76E+03
	SGA_DNS	7,86E+02
Recubrimiento con aditivos	SGA_B2	2,66E+04
	SGA_D1	4,22E+04
	SGA_E1	9,33E+03
	SGA_E2	7,55E+04

A modo de ejemplo, se muestran, a continuación las fotografías de los sustratos de Aluminio tras inmersión en NaCl 3,5% durante 7 días. En las muestras con Ag se ve un mayor deterioro del recubrimiento, Figuras B (SGA_E1) y D (SGA_B2), mientras que en las aditivadas con cobre no se observaron prácticamente ningún deterioro o picaduras en el sustrato, Figuras C (SGA_E2) y E (SGA_D1).



A: SUSTRATO CON RECUBRIMIENTO SGA



B: SUSTRATO CON NANOZEOLITAS Ag: E1

C: SUSTRATO CON NANOZEOLITAS Cu: E2



D: SUSTRATO CON ZEOLITAS Ag: B2

E: SUSTRATO CON ZEOLITAS Cu: D1