

# Nuevos Materiales Sostenibles con Propiedades "Antifouling" con Aplicaciones en Acuicultura

Javier Barriga<sup>1</sup>, Eva Sanjuan<sup>1</sup>, María A. Rodrigo<sup>2</sup>, Óscar Andreu-Sánchez<sup>3</sup>, Alberto González<sup>4</sup>, Chelo Escrig<sup>4</sup> y Belén Fouz<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Instituto Universitario en Biomedicina y Biotecnología, Universitat de València (UV), 46100, Burjassot (Valencia)

<sup>2</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, UV. C/ Catedrático José Beltrán 2, 46980, Paterna (Valencia)

<sup>3</sup>Xenobiotics, S.L. Parque Científico de la UV. C/ Catedrático Agustín Escardino, 9. Edif. CUE., 46980, Paterna (Valencia)

<sup>4</sup>AIMPLAS, Instituto Tecnológico del Plástico. Parque Tecnológico de Valencia. C/ Gustave Eiffel 4, 46980, Paterna (Valencia)

## INTRODUCCIÓN

El "biofouling" marino es el fenómeno resultante de la acumulación gradual de micro – y macro – organismos en las estructuras presentes en el medio, provocando cambios biológicos, químicos y físicos e incrementando las tasas de deterioro de las mismas. Existen pinturas comerciales que ayudan a controlar este proceso, pero acaban degradándose y liberando sustancias biocidas y metales pesados que pueden ser nocivos para el entorno. El polietileno de alta densidad (HDPE), material ampliamente utilizado en la construcción de instalaciones acuícolas y de las protecciones portuarias, puede **funcionalizarse** con agentes con propiedades "antifouling" que contribuirían a minimizar este fenómeno. En este trabajo, hemos desarrollado nuevos materiales basados en HDPE funcionalizados con diferentes **derivados de cobre** o sílice.

## OBJETIVOS

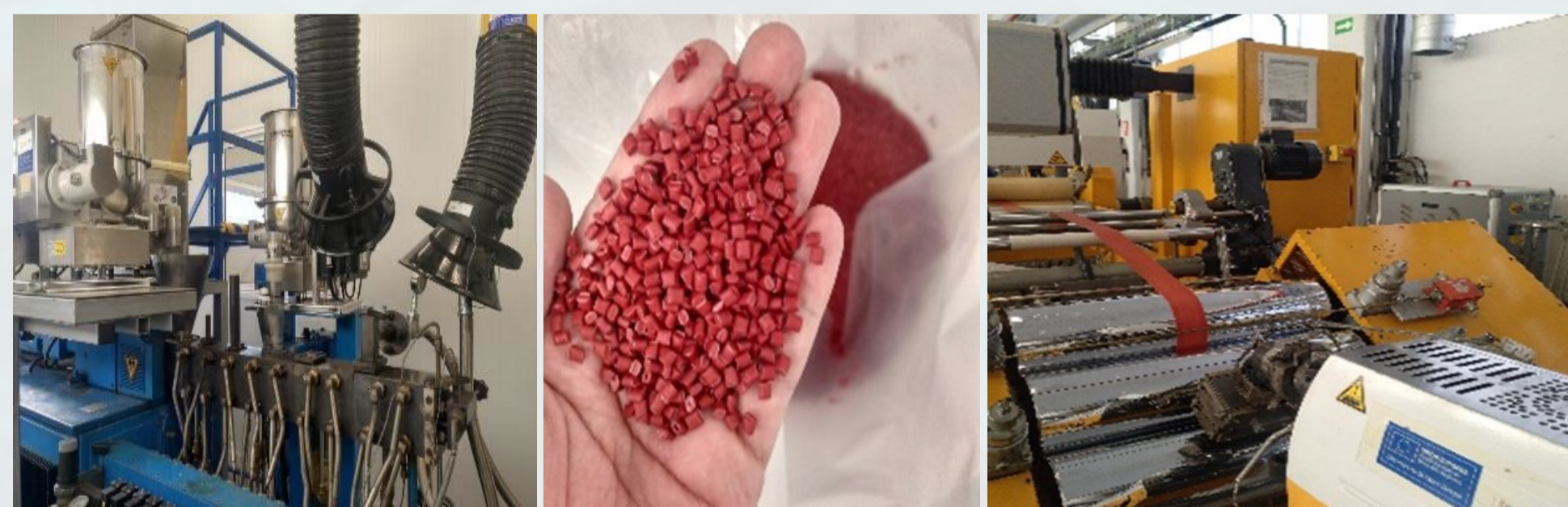
- Estudiar la **formación de biofilm** sobre HDPE funcionalizado con derivados de cobre y con sílice, usando como modelo bacterias y/o diatomeas con una alta capacidad de producción de biofilm.
- Evaluar el **impacto medioambiental** de las nuevas formulaciones de HDPE mediante un estudio ecotoxicológico de los lixiviados producidos por los materiales.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

### 1 Preparación del HDPE funcionalizado

Los discos o láminas basados en HDPE se prepararon empleando una extrusora co-rotativa de doble husillo, seguida de un proceso de extrusión de lámina plana.

Material	Descripción
HDPE	Poliétileno de alta densidad (HDPE) - Muestra referencia
Cu <sub>2</sub> O-2	HDPE funcionalizado con Óxido de Cobre (I) al 2%
Cu <sub>2</sub> O-4	HDPE funcionalizado con Óxido de Cobre (I) al 4%
CuSCN-2	HDPE funcionalizado con Tiocianato de Cobre (I) al 2%
CuSCN-4	HDPE funcionalizado con Tiocianato de Cobre (I) al 4%
CuPT-2	HDPE funcionalizado con Pirritona de Cobre (II) al 2%
CuPT-4	HDPE funcionalizado con Pirritona de Cobre (II) al 4%
SiO <sub>2</sub> -3	HDPE funcionalizado con Óxido de Silicio (IV) al 3%
SiO <sub>2</sub> -5	HDPE funcionalizado con Óxido de Silicio (IV) al 5%
CuPT-2 + SiO <sub>2</sub> -3	HDPE funcionalizado con Pirritona de Cobre (II) al 2% + Óxido de Silicio (IV) al 3%
CuPT-2 + Cu <sub>2</sub> O-3	HDPE funcionalizado con Pirritona de Cobre (II) al 2% + Óxido de Cobre (I) al 3%
CuPT-2 + Cu <sub>2</sub> O-2 + SiO <sub>2</sub> -3	HDPE funcionalizado con Pirritona de Cobre (II) al 2% + Óxido de Cobre (I) al 2% + Óxido de Silicio (IV) al 3%



### 2 Estudios ecotoxicológicos y análisis químico de los lixiviados

- Bioensayos con tres niveles tróficos representativos del medio marino (*Alivivrio fisheri*, *Phaeodactylum tricornutum* y *Brachionus plicatilis*). La toxicidad de los lixiviados generados a los 30 y 60 días se expresó en Unidades Tóxicas (UT).
- Detección de la presencia de cobre en los lixiviados mediante un análisis de trazas por espectrometría de absorción atómica.



- Lámpara UV-C
- Envoltura de plástico
- Tanque de cristal
- Bomba de circulación (300 L/h)
- Dirección del flujo

Origen Lixiviado	Tiempo de lixiviación (días)	Ensayo de toxicidad (UT)				µg/L de Cu
		Rotíferos 24 h	Rotíferos 48 h	Diatomeas 72 h	Bacterias 15 min	
HDPE (referencia)	30	4	5,2	<1	<2	NT
	60	3,7	7,9	<1	<2	NT
Cu <sub>2</sub> O-4	30	1,5	2,2	1,2	<2	15
	60	3,9	11,2	1,8	<2	47
CuPT-4	30	2,7	2,8	1,5	<2	27
	60	3,5	11,5	2,5	<2	134
SiO <sub>2</sub> -3	30	3,2	3,2	1,7	<2	NT
	60	10,1	43,5	<1	3,2	NT

NT: No Testado

- La **presencia de cobre** en los lixiviados generados tras 30 y 60 días de ensayo fue prácticamente **despreciable**.
- El estudio de impacto ambiental, siguiendo un esquema clásico de evaluación en diferentes niveles de la cadena trófica, demostró que **ninguno de los aditivos fue tóxico**. Los lixiviados se produjeron en las condiciones más desfavorables debido a la alta relación material/ agua de mar en el entorno artificial del ensayo.

## CONCLUSIONES

- La **funcionalización de HDPE con pirritona de cobre mejora** significativamente la **actividad "antifouling"** de este material, que además es fácilmente moldeable para producir estructuras integradas en acuicultura.
- Los **aditivos** testados podrían ser usados en el medio marino de forma **segura**.
- Nuestros resultados representan un **avance en la lucha contra el "biofouling"** en ambientes marinos.

### 3 Ensayos de formación de biofilm

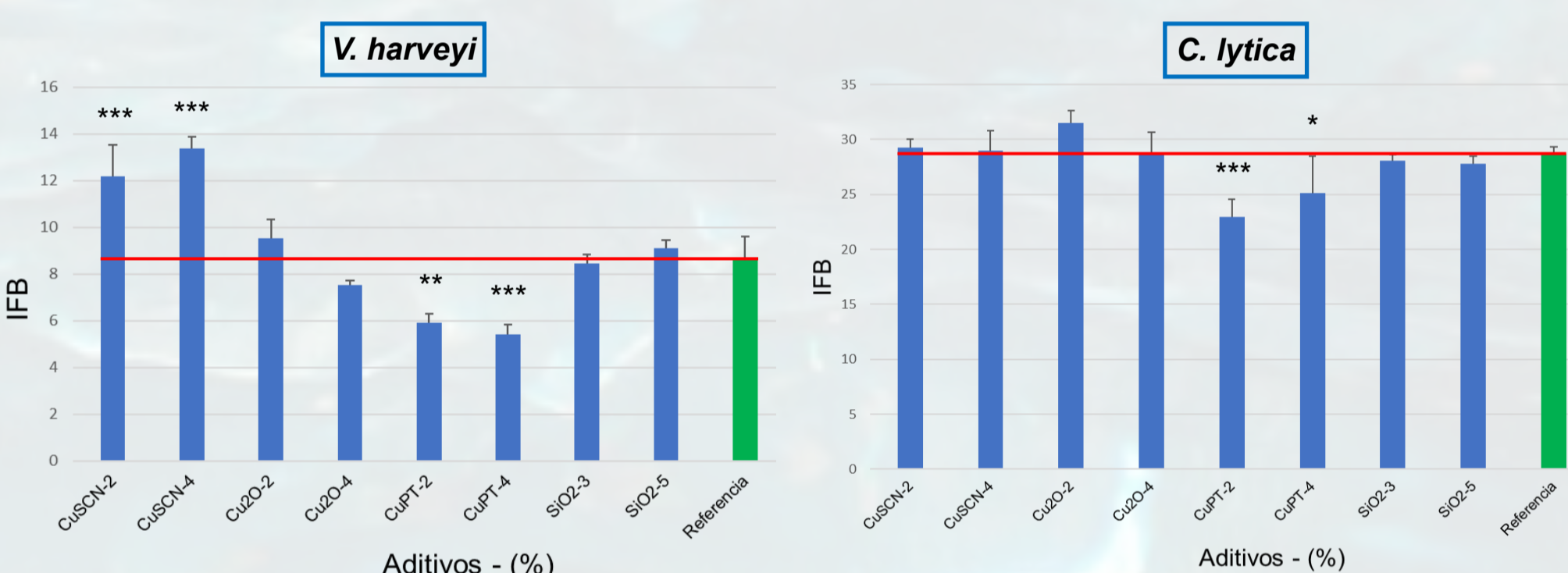
#### 3.1 Bacterias

Determinación del biofilm formado por *Vibrio harveyi* y *Cellulophaga lytica* sobre HDPE funcionalizado: tinción con cristal violeta. El Índice de Formación de Biofilm (IFB) se calculó según la ecuación:

$$IFB = \frac{Abs\ 540\ nm - Abs(Blanco)\ 540\ nm}{Abs\ 595\ nm - Abs(Blanco)\ 595\ nm}$$

#### 3.1.1 Escala laboratorio

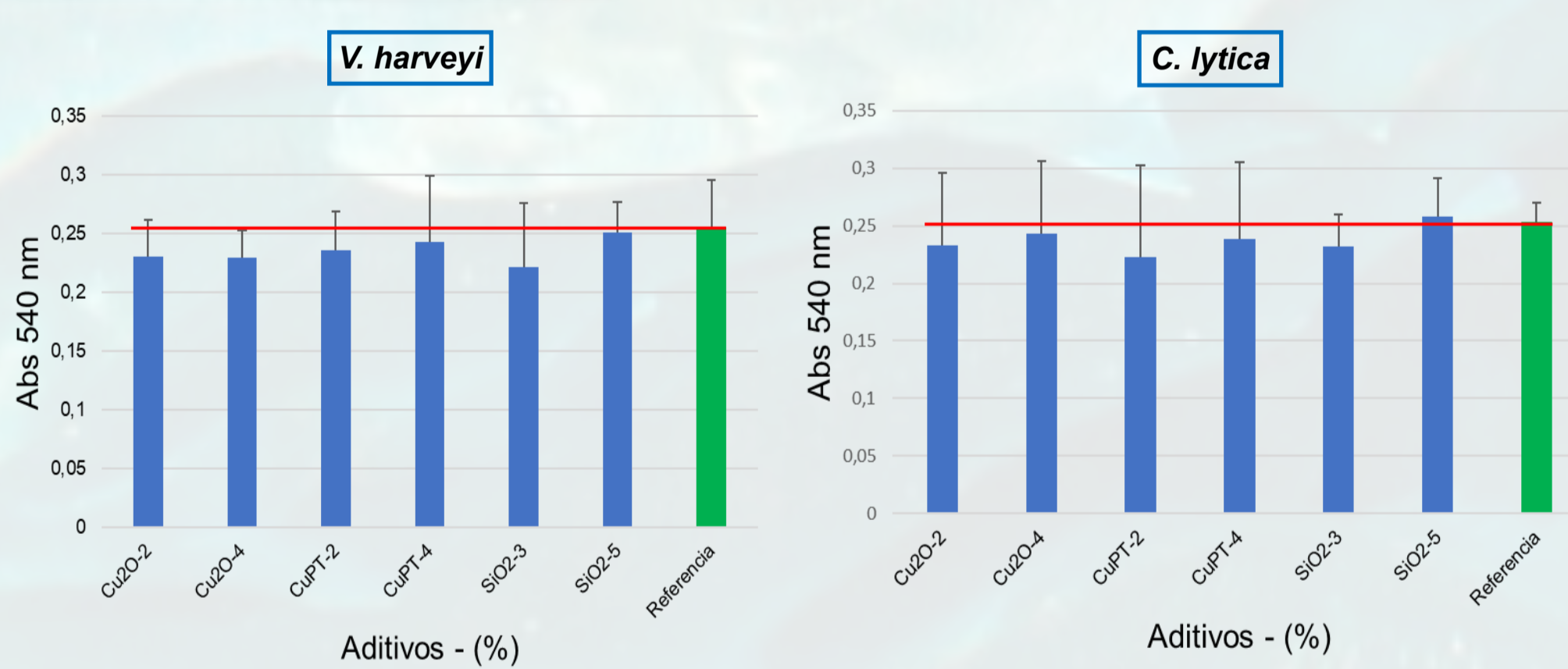
- Placas de cultivo celular de 24 pocillos.
- Discos de HDPE (12 mm) con aditivos.
- Concentración inóculo: 10<sup>6</sup> UFC/mL (*V. harveyi*) o 10<sup>8</sup> UFC/mL (*C. lytica*).
- Agua de mar artificial suplementada con glicerol al 0,3% (ASWgly).
- Incubación: 24h (*V. harveyi*) o 48h (*C. lytica*) a 22°C.



- El HDPE funcionalizado con **pirritona de cobre** mostró una **reducción significativa** en el IFB de *V. harveyi* y *C. lytica*.
- La **funcionalización con tiocianato de cobre** **incrementó significativamente** la producción de biofilm por parte de *V. harveyi*.

#### 3.1.2 Escala intermedia

- Tanques de 8 L con agua de mar filtrada.
- Láminas de HDPE (6x10 cm) con aditivos.
- Concentración inóculo: 1 x 10<sup>5</sup> UFC/mL.
- Incubación: 7 días a 22°C.



- No se observaron diferencias significativas en la formación de biofilm sobre las láminas de HDPE en las condiciones del ensayo.

#### 3.1.3 Escala piloto

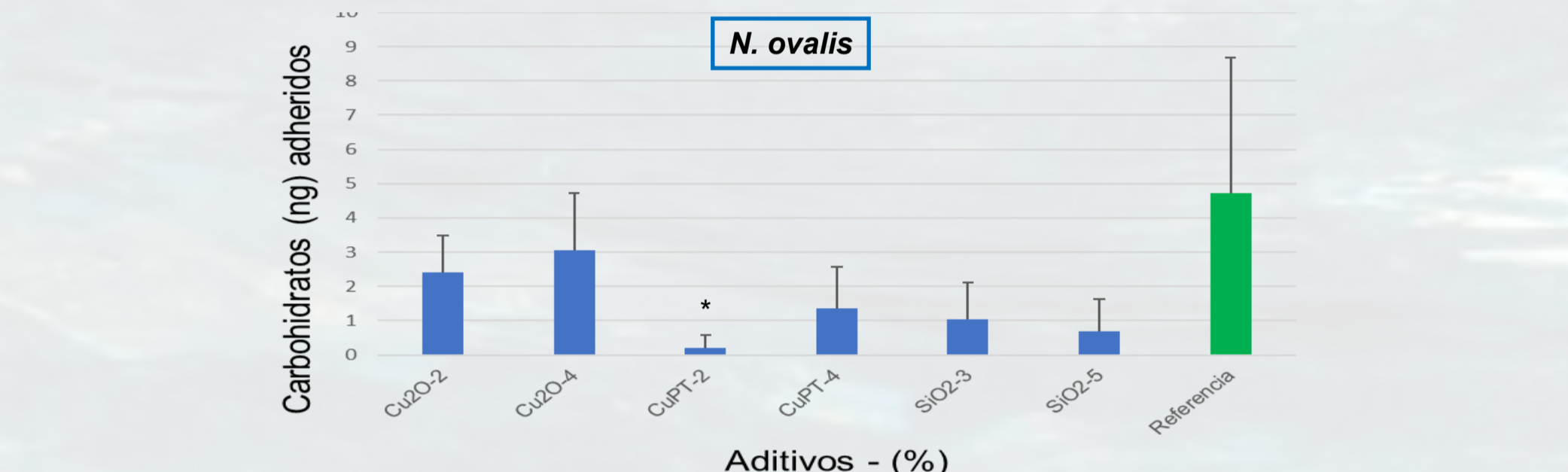
- Tanques de 100L con agua de mar filtrada.
- Láminas de HDPE (10x22 cm) con aditivos.
- Concentración inóculo: 1 x 10<sup>5</sup> UFC/mL.
- Incubación: 14 días a 22°C.

ANOVA y Test de Dunnett estadísticamente significativos con índice de confianza del 99,9% (\*\*\*), 99% (\*\*) y 95% (\*)

#### 3.2 Diatomeas

Determinación del biofilm formado por *Nitzschia ovalis*: cuantificación de carbohidratos totales mediante el ensayo fenol - ácido sulfúrico.

- Tubos con 9 mL de agua de mar estéril.
- Discos de HDPE (12 mm) con aditivos.
- Inóculo: 1 x 10<sup>5</sup> céls/mL
- Incubación de 7 días a 22°C.

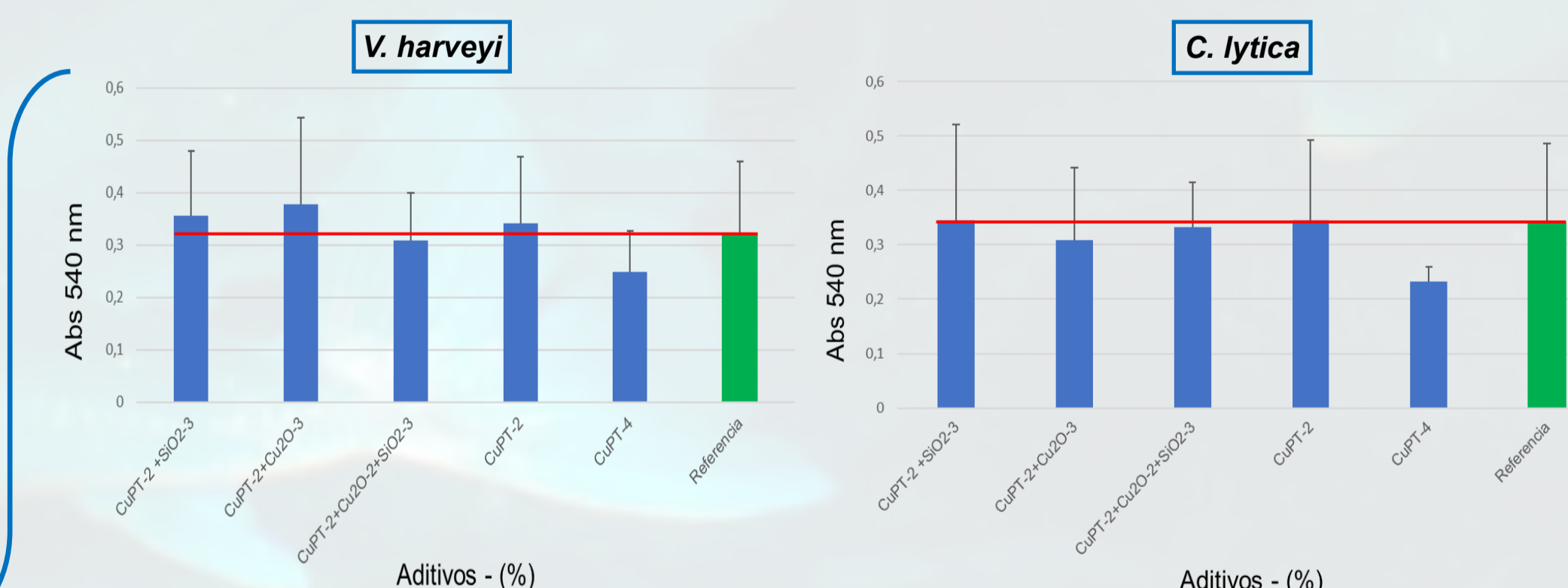


- En todas las formulaciones se observó una reducción en la cantidad de carbohidratos adheridos por *N. ovalis*: en la **lámina de HDPE con pirritona de cobre al 2%** la reducción fue drástica.

### Inhibición de la formación de biofilm por bacterias o diatomeas

HDPE funcionalizado con	FORMACIÓN DE BIOFILM (%) POR				
	Cellulophaga lytica Escala laboratorio	Cellulophaga lytica Media escala	Vibrio harveyi Escala laboratorio	Vibrio harveyi Media escala	Nitzschia ovalis
Óxido de cobre (I) 2%	109,69	92,16	111,02	90,12	51,4
Óxido de cobre (I) 4%	99,74	96,13	87,45	89,94	65,1
Pirritona de cobre 2%	79,94	88,03	71,37	92,49	4,5
Pirritona de cobre 4%	87,56	94,36	61,19	95,24	29,1
Silica 3%	97,78	91,51	100,52	86,72	22
Silica 5%	96,75	101,96	106,65	98,44	14,7
Tiocianato de Cobre (I) 2%	101,84	NT	141,87	NT	NT
Tiocianato de Cobre (I) 4%	100,91	NT	155,84	NT	NT

\*Porcentaje de la formación de biofilm con respecto al control (HDPE sin aditivos)



Aditivos (%)	Biofilm bacteriano (%)	
	Cellulophaga lytica	Vibrio harveyi
CuPT-2 + SiO <sub>2</sub> -3	102,32	111,31
CuPT-2 + Cu <sub>2</sub> O-3	98,58	112,93
CuPT-2 + Cu <sub>2</sub> O-2 + SiO <sub>2</sub> -3	106,75	99,54
CuPT-2	101,16	106,02
CuPT-4	68,26	77,17

- La **pirritona de cobre** fue el único tratamiento que produjo una reducción notable (> 30%) en la formación de biofilm bacteriano, aunque este efecto no fue estadísticamente significativo.

## Referencias

- Hu, P., Xie, Q., Ma, C., & Zhang, G. 2020. Silicone-Based Fouling-Release Coatings for Marine Antifouling. Langmuir, 36(9), 2170–2183.  
Mitra, D., Kang, E.-T., & Gee Neoh, K. 2020. Antimicrobial Copper-Based Materials and Coatings: Potential Multifaceted Biomedical Applications. ACS Applied Materials & Interfaces 12 (19), 21159–21182.  
Saita, M., Wharton, J. A., Blache, Y., Stokes, K. R., & Briand, J. F. 2013. Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics. Environmental Microbiology, 15(11), 2879–2893.

## Financiación

El trabajo ha sido financiado por los proyectos INNEST/2020/55 e INNEST/2020/66 (Agència Valenciana de la Innovació) y THINKAZUL/2021/027 (Ministerio de Ciencia e Innovación de España, Next-Generation EU (PRTR-C17.11) y Generalitat Valenciana).

