

Electrodeposición de nanopartículas metálicas: una estrategia en contra de la bioincrustación marina

Electrodeposition of metallic nanoparticles: a strategy against marine biofouling

Francisco Martínez-Baltodano, Coraquetzali Magdaleno-López*, y Gregorio Vargas-Gutiérrez*

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Saltillo, Av. Industria Metalúrgica No. 1062, Parque Industrial, Ramos Arizpe, Coahuila. México. C.P. 25900.

Correspondencia: coraquetzalli@cinvestav.mx;
gregorio.vargas@cinvestav.edu.mx

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Saltillo.

Correo electrónico: gregorio.vargas@cinvestav.edu.mx.

Resumen

La bioincrustación es un fenómeno indeseable que resulta de la colonización microbiana, de algas e invertebrados en superficies que se encuentran localizadas en ambientes húmedos o en presencia de agua. El problema de la bioincrustación acelera el deterioro de los materiales en ambientes marinos, en el procesamiento de alimentos y en el área médica. Una estrategia para inhibir el establecimiento y la proliferación de micro y macroorganismos en superficies metálicas es inhibir la formación de biopelículas. Los biocidas generalmente se emplean para combatir y tratar los efectos devastadores que resultan de la bioincrustación. No obstante, debido a la alta toxicidad de tales biocidas sintetizados químicamente, se han estado explorando formulaciones nuevas y ecológicas. La erradicación de este problema utilizando técnicas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente sigue siendo de vital importancia. La investigación y el desarrollo de una nueva generación de agentes antimicrobianos innovadores y efectivos se han convertido en una necesidad urgente. En esta búsqueda, la comunidad científica se ha centrado en el estudio de nanomateriales, principalmente nanopartículas (NPs) de base metálica como agentes antimicrobianos, para mitigar los problemas de la bioincrustación. El objetivo de esta investigación se centra en el estudio de NPs metálicas como agentes antimicrobianos sobre superficies de acero inoxidable AISI 304. Se hace énfasis específico en la electrodeposición de NPs de plata (Ag) y cobre (Cu). La novedad de esta investigación se basa en la discusión comparativa de los diferentes

tipos de NPs metálicas electrodepositadas sobre superficies de acero inoxidable AISI 304 previamente modificadas, su caracterización fisicoquímica y su capacidad antimicrobiana.

Palabras clave: Electrodeposición, iones metálicos, bioincrustación, biopelículas.

Abstract

Biofouling is an undesirable phenomenon that results from microbial colonization, algae, and invertebrates on surfaces that are in humid environments or in the presence of water. The problem of biofouling accelerates the deterioration of materials in marine environments, in food processing, and in the medical area. A strategy to inhibit the establishment and proliferation of micro and microorganisms on metal surfaces is to inhibit biofouling formation. Biocides are generally used to combat and treat the devastating effects that result from biofouling. However, due to the high toxicity of such chemically synthesized biocides, new and ecological formulations have been explored. The eradication of this problem using sustainable and respectful techniques with the environment remains of vital importance. The research and development of a new generation of innovative and effective antimicrobial agents have become an urgent need. In this search, the scientific community has focused on the study of nanomaterials, mainly metallic nanoparticles (NPS) as antimicrobial agents, to mitigate biofouling problems. The objective of this

research focuses on the study of metallic NPs as antimicrobial agents on AISI 304 stainless steel surfaces. Specific emphasis is placed on the electrodeposition of silver (Ag) and copper (Cu) NPs. The novelty of this research lies in the comparative discussion of different types of electrodeposited metallic NPs on previously modified AISI 304 stainless steel surfaces, their physicochemical characterization, and their antimicrobial capacity.

Keywords: Electroplating, metal ions, biofouling, biofilms.

Introducción

La bioincrustación es un problema que impacta el deterioro de los materiales en los campos médico, marino e industrial causando problemas de salud, de impacto ambiental y pérdidas financieras (Bixler y Bhushan, 2012; Nowicka y col., 2019).

La bioincrustación se puede definir como la formación de una biopelícula sobre una superficie la cual es posteriormente colonizada por micro y macroorganismos conduciendo a su deterioro (Pérez y col., 2022; Debiemme y col., 2018; Omran y Abdel-Salam, 2020). El proceso de bioincrustación comienza con la formación de una biopelícula sobre la superficie de los materiales en presencia de cierta humedad y nutrientes (Calabrese y col., 2022). En la superficie acondicionada tiene lugar el crecimiento y la proliferación de microorganismos, así como la producción de sustancias poliméricas extracelulares compuestas por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos (Amara y col., 2018).

Los metales y sus aleaciones son susceptibles a la colonización microbiana que provoca la bioincrustación (Bixler y Bhushan, 2012). En la Tabla 1 se indican los sectores, ejemplos de componentes y problemas asociados a la bioincrustación.

Tabla 1. Sectores, ejemplos y problemas asociados al problema de la bioincrustación (Bixler y Bhushan, 2012; Aldhameer, 2020).

Sectores	Ejemplos	Problemas
Marino	Casco de barco	Mayor consumo de combustible
	Motor de barco	Mayor estrés por arrastre adicional
	Plataforma marina	Aumento de la carga/fatiga de la estructura marina
Industrial	Membrana	Flujo reducido
	Intercambiador de calor	Eficiencia de convección reducida
	Flujo de fluido	Perdida por fricción de tuberías
	Agua potable	Microorganismos patógenos en agua potable
	Comida, papel y pintura	Deterioro y riesgo para la salud de los trabajadores.
Médico	Implante ortopédico	Eliminación por infección
	Respirador	Neumonía asociada a ventilador
	Catéter	Infecciones del tracto urinario
	Biosensor	Fracaso por encapsulación fibrosa

	Implante dental	Enfermedad periodontal, gingivitis
--	-----------------	---------------------------------------

Bioincrustación marina. Los océanos son entornos que permiten la creación de vida y la conversión de energía, pero también son entornos extremadamente agresivos. El agua de mar es una mezcla compleja de diversas sales, gases disueltos, oligoelementos, sólidos en suspensión, materia orgánica descompuesta y organismos vivos (Dhanak y Xiros, 2016). En el agua de mar, el comportamiento de los metales y sus aleaciones está relacionado principalmente con su potencial de oxidación, con el contenido de oxígeno, la velocidad de las corrientes, la temperatura, la contaminación, los organismos marinos y la posición de los materiales con respecto al nivel de la marea (Byron, 2020).

La bioincrustación marina implica incrementos en costos de mantenimiento, de vida útil de dispositivos y de infraestructura ubicados en ambientes marinos. El consumo de energía y el costo de mantenimiento de embarcaciones también se ven afectados por el problema de la bioincrustación (Omran y Abdel-Salam, 2020; Vinagre y col., 2022). Por consecuencia, en este sector es necesario optimizar la confiabilidad de los materiales usados mediante el empleo de mecanismos antiincrustantes confiables y duraderos (Trepas y col., 2014), (Loxton y col., 2017).

Las estrategias de mitigación que se han utilizado consideran el uso de pinturas y recubrimientos, empleo de inhibidores de corrosión y biocidas, métodos físicos para

desplazar la biomasa de biopelículas, y el control electroquímico que utiliza campos eléctricos para controlar la formación de las biopelículas (Nowicka y col., 2019).

La aplicación de biocidas puede ser la estrategia más práctica para la mitigación de la bioincrustación. Sin embargo, debido a los efectos sobre organismos marinos de orden superior, la organización marítima internacional ha prohibido su aplicación (Ytreberg y col., 2021). Los métodos físicos, por otro lado, no son adecuados para todas las superficies y esto limita su aplicabilidad.

La investigación y el desarrollo de una nueva generación de agentes antimicrobianos innovadores y efectivos se han convertido en una necesidad urgente. En esta dirección, la comunidad científica se ha centrado en el estudio de nanomateriales, principalmente nanopartículas (NPs) de base metálica (Vimbela y col., 2017). Las propiedades químicas, físicas y biológicas de las NPs se han mejorado en relación con su área específica, distribución de tamaño y morfología (Singh y col., 2020). La síntesis de nanocompuestos con capacidad de controlar la biocorrosión en la superficie del metal pueden permitir una mayor eficiencia de inhibición de la corrosión en forma más rentable y ecológica (Mařátková y col., 2022; Becerra y col., 2020). Diferentes tipos de NPs de base metálica (Ag, Cu,) y no metálica (ZnO, TiO₂, CuO y NiO) han demostrado buena actividad antimicrobiana (Dhanak y Xiros, 2016; Guerrero y col. 2020; Banach y Pulit-Prociak, 2016).

Los aceros inoxidable se utilizan ampliamente por sus propiedades anticorrosivas en diferentes entornos húmedos (Sánchez y col., 2012). Sin embargo, en presencia de agua de mar, los aceros inoxidable son susceptibles a la formación de

biopelículas y, en consecuencia, a la bioincrustación y corrosión inducida microbiológicamente (Little y Lee, 2009).

En el presente trabajo de investigación se realizó un estudio de la implantación de NPs metálicas antimicrobianas en superficies modificadas del acero inoxidable AISI 304, con el fin de desarrollar propiedades antibioincrustantes para su uso en ambientes marinos. La generación de este conocimiento permitirá sentar las bases para cumplir con el objetivo principal de la propuesta de Ciencia de Frontera “Acelerar el diseño y descubrimiento de materiales nuevos y eficientes” que impidan el desarrollo de biopelículas y la degradación de superficies metálicas de estructuras y equipos usados en ambientes marinos.

Materiales y métodos

Preparación del sustrato. Se usaron probetas de acero inoxidable AISI 304, su composición química se muestra en la Tabla 2. A las probetas de acero inoxidable se les aplicó un tratamiento de oxi-nitrocarburo con pastas de cianato y carbonato de sodio a una temperatura de 550 °C durante un tiempo de 20 min (López y Vargas, 2022).

Tabla 2. Composición química porcentual del acero inoxidable AISI 304.

C	S	P	Si	Mn	Mo	Ni	Cr	Fe	Otros
0.02	0.014	0.044	0.25	1.68	1.76	9.56	18.04	68.2	0.432

Proceso de Electrodeposición

Determinación del potencial de reducción. Posterior al tratamiento de oxinitrocarburation, se realizaron pruebas electroquímicas por medio de la técnica de voltamperometría cíclica (VC) para obtener el potencial de electrodeposición de iones de Ag y Cu en un electrolito de etalina ($\text{HOC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}^-$). Se utilizó un potencióstato/galvanostato de la marca PARSTAT 4000[®], conectado a una celda tradicional de tres electrodos de 30 ml en la cual el electrodo de trabajo fue un disco de acero inoxidable oxiniturado, el contraelectrodo fue de platino y el electrodo de referencia fue de Ag/Ag⁺. Se usó una velocidad de barrido de 10 mV/s, el electrolito se mantuvo a una temperatura de 25 °C sin agitación.

Deposición. Una vez que se obtuvo el valor del potencial de reducción, se procedió a realizar el electrodeposición mediante la técnica de cronoamperometría (CA). La cronoamperometría se realizó a un tiempo de 20 min. Finalizada la electrodeposición se enjuagó la superficie, se secó por convección y se almacenó para las pruebas de caracterización.

Caracterización química y microestructural

Las superficies modificadas fueron caracterizadas mediante un microscopio electrónico de barrido (MEB) de emisión de campo marca PHILIPS, modelo XL30ESEM. Se realizaron mapeos elementales de las especies depositadas de Ag y Cu. Para determinar la química superficial de los depósitos se utilizó la técnica de difracción de rayos X (DRX).

Caracterización de la actividad microbiana

Se evaluó la actividad microbiana de los sustratos con los electrodepositos de Ag y Cu según la norma ASTM E2562-12 (ASTM E2562-12, 2017). Se utilizaron *Pseudomonas aeruginosa* gramnegativas ATCC 27588 en agar soya tripticaseína (TSA). Posteriormente se cultivó en agitación a 120 rpm por 16 h en medio de caldo de soya tripticaseína (TSB) a una concentración de 300 mg/L sobre cupones limpios de 1 cm de diámetro. Se utilizó un reactor (ISBR600) en el cual se adicionó el inóculo, ajustando un volumen final de 1000 mL con medio TSB a 300 mg/L. Los cupones fueron colocados en el reactor en condiciones “Batch” a 75 rpm a temperatura ambiente. Después de un día el reactor paso a una fase continua haciendo pasar 11 mL de medio TSB por minuto a una concentración de 100 mg/L durante un tiempo de 24 h, además se verificó la fluorescencia de *P. aeruginosa*. Terminado el cultivo en fase continua, se retiraron los cupones y se enjuagaron con solución salina estéril de 0.85% para eliminar las células bacterianas suspendidas. Los cupones fueron colocados en tubo falcón de 15 mL y se adicionó solución salina hasta cubrir el material. Posteriormente se realizó un desprendimiento de las biopelículas con cinco ciclos de Vortex-sonicación por 30 s. La biopelícula suspendida se plaqueó por el método de vertido en placa para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) adheridas a los cupones, vertiendo las diluciones 10^{-3} a 10^{-5} para los cupones con un diámetro de 1.3 cm y las diluciones

10^{-2} a 10^{-4} para los cupones de 1 cm. El conteo de las CFU se realizó usando la ecuación 1.

$$\text{Log}_{10} (\text{CFU}/\text{cm}^2) = \text{Log}_{10} [(X/B)(V/A)(D)]$$

(1)

Donde,

X: Unidad formadora de colonias, CFU

B: Volumen plaqueado, cm^3

V: Volumen raspado, cm^3

A: Área superficial raspada, cm^2

D: Dilución

Resultados y discusión

Determinación del potencial de reducción por VC. Un criterio clave para la selección de un solvente para estudios electroquímicos es la estabilidad electroquímica de dicho solvente (Abbas y Binder, 2010) ya que en dicho intervalo el electrolito es electroquímicamente inerte. En la Figura 1 se observa que la ventana de potencial electroquímico para la etalina ($\text{HOC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}^-$) se encuentra aproximadamente entre 1.0 y -1.0 mV, lo que implica que la ventana de potencial del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitrocarburado es de alrededor de 2.0 V, a una temperatura ambiente de 25 °C y una velocidad de escaneo de 10 mVs^{-1} .

Dicho intervalo corresponde a lo observado para el mismo electrolito por Popescu y col., 2011.

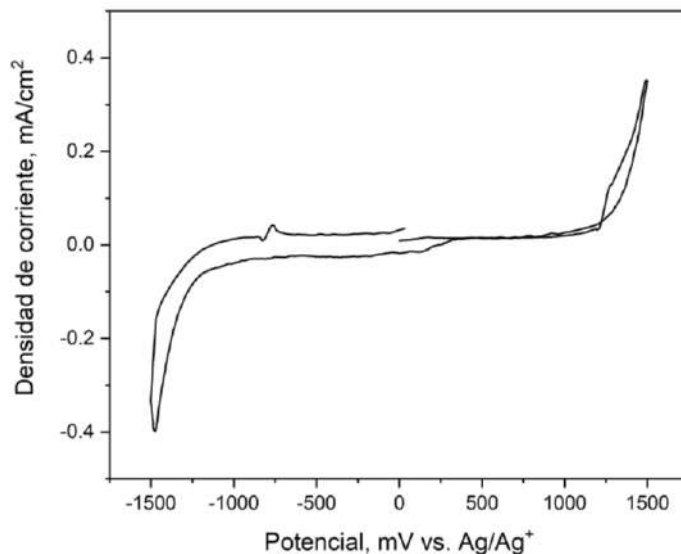


Figura 1. Voltamograma cíclico del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitrocarburado por pastas en electrolito de etalina (1 ChCl:2 EG).

En la Figura 2 se presentan los voltamperogramas cíclicos correspondientes a los electrolitos con cobre y con plata obtenidos a una velocidad de escaneo de 10 mVs^{-1} . En esta figura se observan los eventos de reducción del cobre a un potencial de -800.0 mV (Eq. 2) y de la plata a un potencial de -600 mV (Eq. 3).



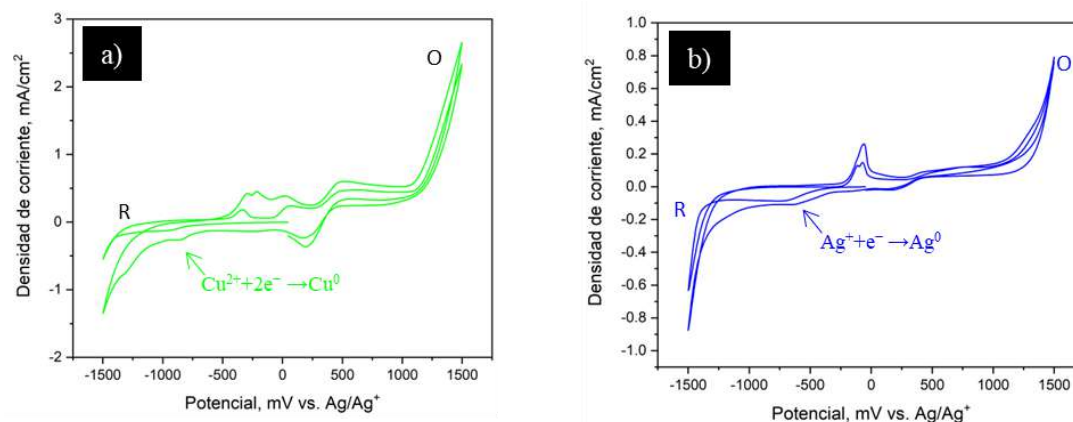


Figura 2. Voltamogramas cíclicos del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitrocarburado en electrolito de etalina (1 ChCl:2 EG) con sal precursora de: a) nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 10mM; b) nitrato de plata (AgNO_3 10mM

Electrodeposición metálica.

Una vez que se determinó la ventana de potencial y se determinó en que potencial ocurre la reducción de los iones metálicos se realizaron los electrodepositos por cronoamperometría para encontrar el tiempo máximo en el que la densidad de corriente es estable, ya que mediante el control del tiempo es posible fijar la cantidad de material depositado.

En la Figura 3a se observa la curva obtenida por cronoamperometría del acero inoxidable AISI 304 modificado usando el electrolito de etalina con sal de nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 10mM. En este caso, el tiempo de estabilización fue de 10 min. En el caso del electrolito formado por etalina con el nitrato de plata (AgNO_3 10mM (Figura 3b) se observa que el tiempo de estabilización fue de 7 min. Estos tiempos

corresponden a los tiempos máximos de deposición, ya que, como se mencionó anteriormente se busca limitar el crecimiento del recubrimiento sobre la superficie.

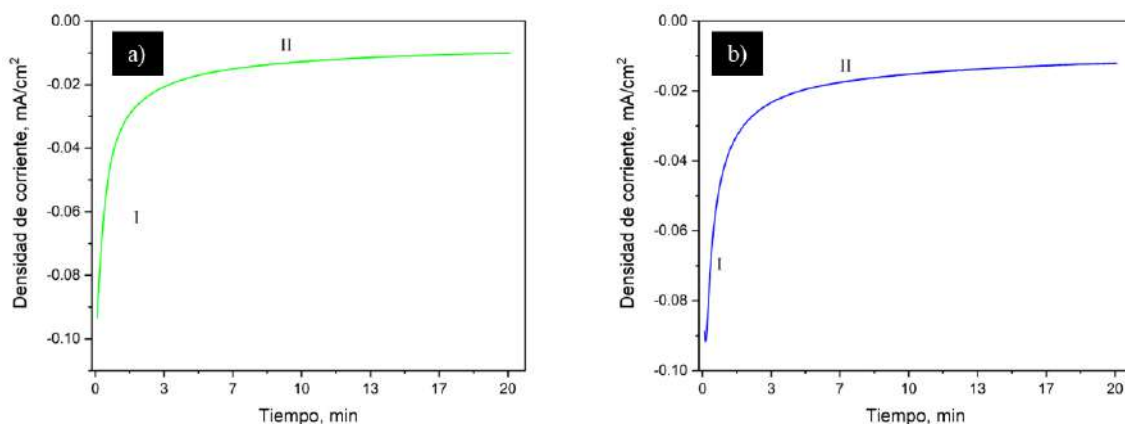


Figura 3. Cronoamperometría del AISI 304 oxi-nitrocarburado en electrolito de etalina (1 ChCl:2 EG) con sal precursora de: a) nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) 10mM y potencial de -800 mV; b) nitrato de plata (AgNO_3) 10mM y potencial de -600 mV.

Caracterización química y microestructural

La Figura 4a) muestra el mapeo elemental del depósito de cobre, en la cual se puede ver la morfología de las nanopartículas de cobre sobre la superficie del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitruado. Se observa la formación de un depósito disperso y homogéneo y bien distribuido sobre la superficie.

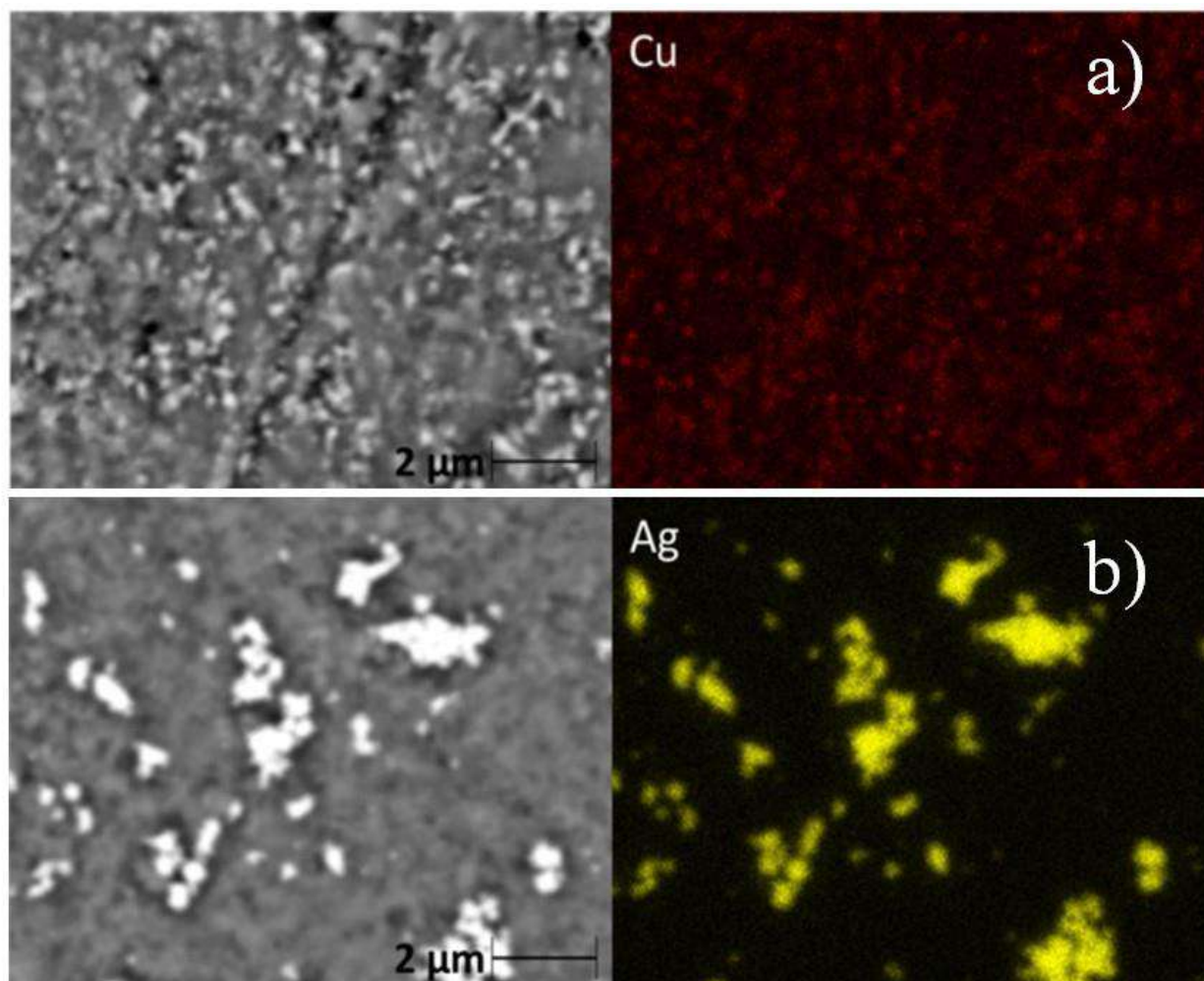


Figura 4. Análisis por mapeo elemental por rayos X del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitrocarburado, a) con depósito de Cu por 20 min a un potencial de -800 mV, b) con depósito de Ag por 20 min a un potencial de -600 mV.

Fuente: elaboración propia

La Figura 4b) muestra el mapeo elemental del depósito de plata sobre la superficie del acero inoxidable AISI 304 oxi-nitrurado. El recubrimiento resultante muestra formación de aglomerados, dejando partes del sustrato sin recubrir. Esta formación de aglomeraciones se atribuye al tiempo de electrodeposición, por lo que se buscará reducir el tiempo de depósito para obtener un depósito más homogéneo y disperso (Khodashenas y Ghorbani, 2019).

La Figura 5 muestra los difractogramas de rayos X de la superficie de un acero inoxidable sin tratamiento, del acero inoxidable oxi-nitrocarburado y de la superficie del acero inoxidable oxi-nitrocarburado con depósitos de plata y de cobre.

El análisis confirma la presencia de austenita Fe- γ (FCC) en la superficie del acero sin tratamiento al igual que en la muestra oxi-nitrocarburada. Después del tratamiento de oxi-nitruración, se detectó nitruro de hierro (Fe_4N), magnetita (Fe_3O_4) y austenita expandida [γN (111)]. Esta austenita expandida proporciona elevada resistencia al desgaste y a la corrosión (López y Vargas, 2022). En los patrones de difracción de la superficie de acero inoxidable oxi-nitrocarburada y con el depósito de iones de Ag y Cu se confirmó la presencia adicional de las señales de Ag (111) en 38.1° y Cu (200) en 50.37° , lo que corrobora que si se está realizando el depósito.

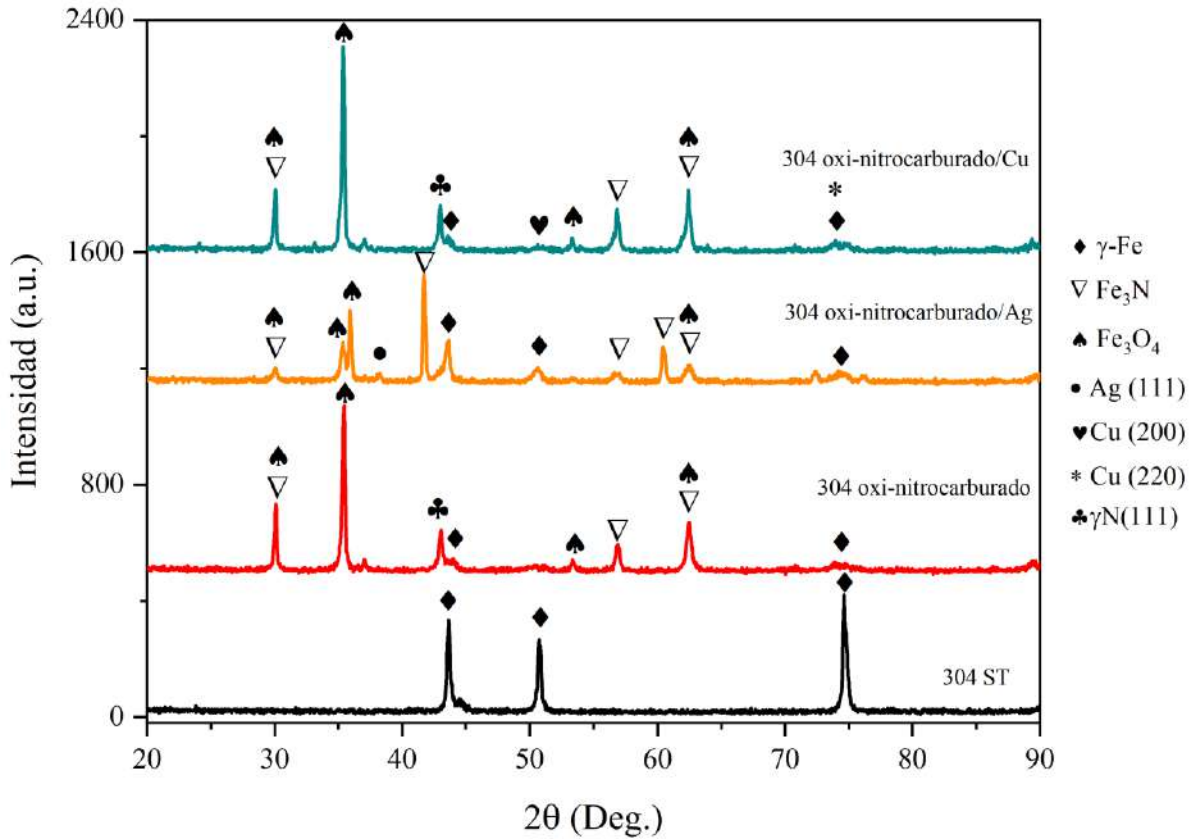


Figura 5. Difractogramas de rayos X del acero inoxidable AISI 304 sin tratamiento y después del tratamiento de oxi-nitrocarburation de los depósitos de plata y cobre.

Fuente: elaboración propia

La rugosidad superficial se refiere a las variaciones en altura con respecto a un plano de referencia (Bhu shan, 2013). En la Figura 6 se muestran los valores de rugosidad media para los diferentes tratamientos estudiados, donde se observa que

la superficie del acero oxi-nitrocarburado con el depósito de plata presenta el mayor valor de rugosidad ($0.316 \pm 0.5 \mu\text{m}$), probablemente esto se atribuya a los aglomerados que se forman en la superficie. Posteriormente le sigue la superficie oxi-nitrocarburada con una rugosidad de $0.279 \pm 0.01 \mu\text{m}$, la superficie con el depósito de cobre con una rugosidad de $0.252 \pm 0.12 \mu\text{m}$ y por último el acero inoxidable sin tratamiento con un valor de rugosidad de $0.220 \pm 0.2 \mu\text{m}$. La rugosidad de la superficie modificada con el tratamiento de oxi-nitrocarburation con respecto al acero inoxidable sin tratamiento se puede atribuir a la alta tasa de carbonización además que probablemente esté asociado con la microsegregación de granos debido a la formación de precipitados. En la figura SEM del acero AISI 304 nitrurado a $580 \text{ }^\circ\text{C}$ con mayor aumento, (consulte la Fig. 4), revela que los precipitados de tamaño micrométrico se encuentran principalmente en los límites de grano y, al mismo tiempo, también están presentes algunos precipitados intragranulares. La geometría y la textura superficial en este tipo de superficies es de gran importancia, ya que gran parte de su capacidad antibacteriana depende de estos parámetros.

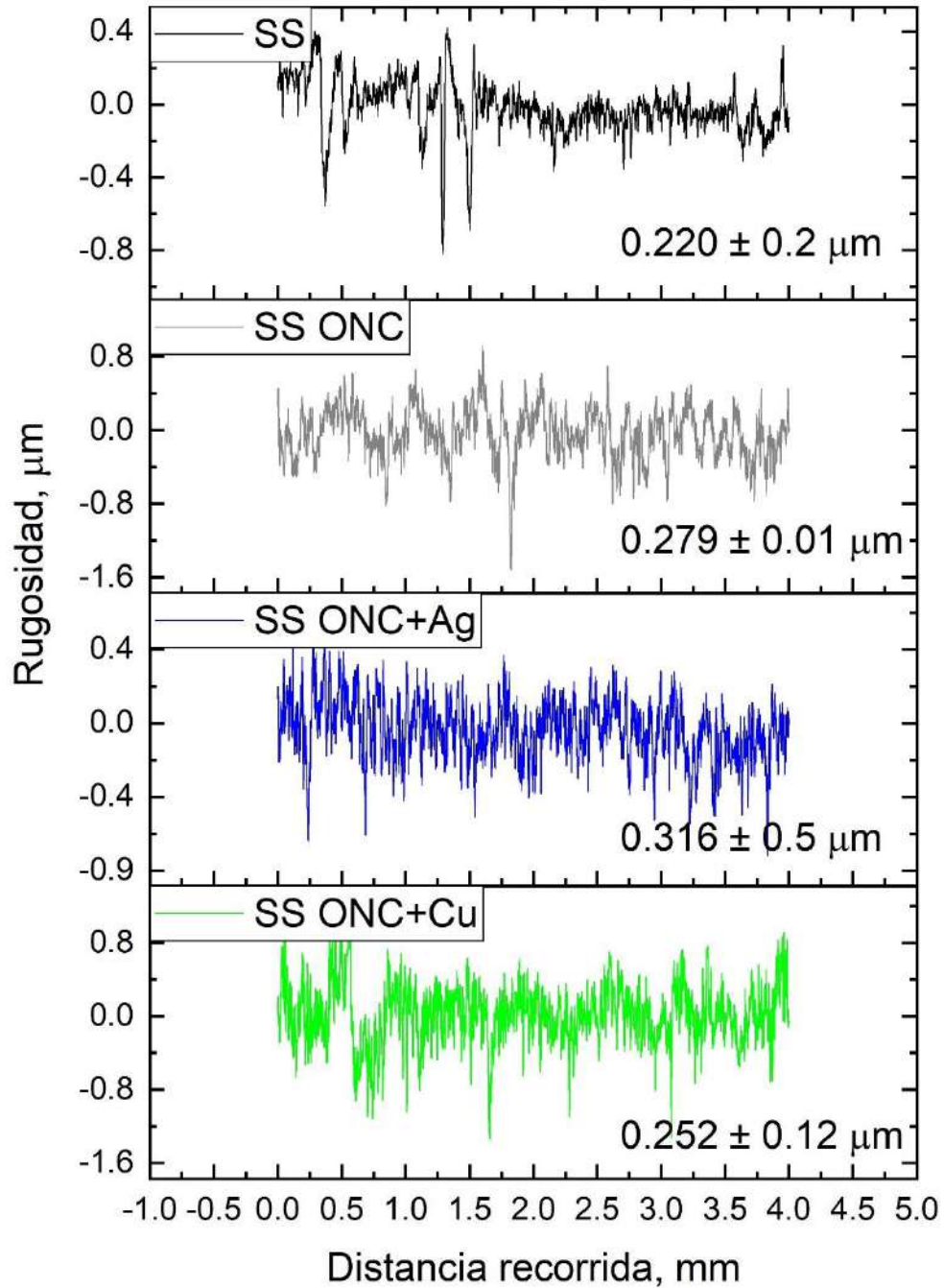


Figura 6. Rugosidad media del acero inoxidable sin tratamiento, oxi-nitrocarburado (ONC) y ONC más depósitos de Ag y Cu.

Fuente: elaboración propia

Caracterización de la actividad microbiana

Para analizar el efecto antibacteriano de la superficie del acero inoxidable AISI 304, se comparó el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la sepa de *P. aeruginosa* en diferentes superficies tratadas en comparación con la superficie del acero sin tratamiento. En la Figura 7 se observa un conteo de 1.40×10^7 UFC/mL para la muestra de acero inoxidable sin tratamiento, en cuanto a las superficies oxi-nitrocarbурadas se observa un aumento significativo en el conteo esto debido al aumento en la rugosidad de estas superficies, lo que beneficia la adherencia de los microorganismos a esta superficie, esto corresponde con el comportamiento de la rugosidad en ambas superficies, teniendo un aumento significativo en la superficie oxi-nitrocarbурadas. Este resultado muestra que el proceso de oxi-nitrocarbурación no mejoró el desempeño antimicrobiano.

Las superficies con el depósito de plata en un sustrato oxi-nitrocarbурado mostraron un descenso en la actividad antimicrobiana, esto debido a que la plata interfiere en el metabolismo celular ya sea rompiendo la pared celular o causando alteraciones genéticas en la bacteria que llevan a su muerte (Sim y col., 2018). La superficie con depósito de cobre mostró el menor conteo de unidades formadoras de colonias

debido a la generación de especies reactivas de oxígeno que dañan irreversiblemente las membranas de la pared celular (Salah y col. 2021). En las condiciones estudiadas, el recubrimiento del cobre mostró el mejor desempeño antimicrobiano. Esto debido a la dispersión más homogénea y libre de aglomerados que se observaron en las micrografías.

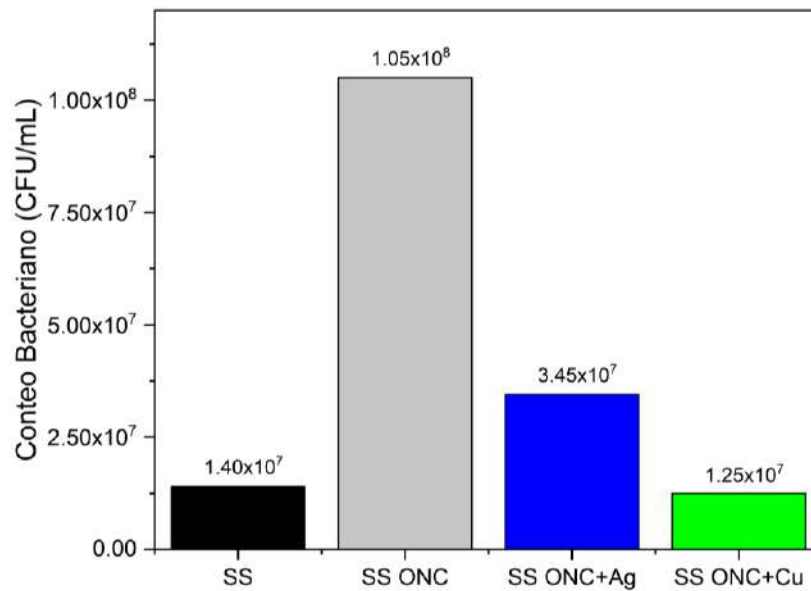


Figura 7. Representación gráfica de la actividad antibacteriana de las superficies de acero inoxidable sin tratamiento, con tratamiento de oxi-nitrocarburation y con tratamiento de oxi-nitrocarburation + electrodeposits of silver and copper.

Fuente: elaboración propia

Esta investigación tiene como aportación obtener una superficie con propiedades multifuncionales. Los electrodepósitos en superficies que previamente fueron modificadas y tuvieron una mejoría en la resistencia a la corrosión y el desgaste gracias a la oxi-nitrocarburation, la adición de nanopartículas, las cuales garantizan las propiedades antimicrobianas, lo que sumado a la etapa anterior deja cubierto los tres fenómenos relacionados con la bioincrustación (corrosión electroquímica, desgaste y corrosión inducida microbiológicamente).

Conclusiones

Las superficies con el depósito de Cu resultaron en una morfología dispersa y homogénea, esto se puede confirmar en las micrografías y el mapeo elemental; mientras que en los depósitos de Ag se forman aglomerados, por lo cual es necesario hacer uso de un dispersante catiónico para mejorar la distribución homogénea de las NPs de Ag.

La adición de nanopartículas de plata y cobre redujeron el conteo de unidades formadoras de colonias siendo el cobre el que menor actividad microbiana presentó, esto debido a la dispersión más homogénea y libre de aglomerados que se observaron en las micrografías.

Posteriormente a la evaluación antimicrobiana realizada a nivel laboratorio, se pretende realizar la selección de muestras del acero inoxidable AISI 304 con las NPs depositadas (cupones) con mejor comportamiento, para ser evaluadas en

ambientes marinos y corroborar su eficiencia frente a los micro y macroorganismos presentes en el mar.

Agradecimientos

A CONACYT por su apoyo financiero a través del Proyecto Ciencia Frontera # 2019-845101, “Descubrimiento Acelerado de Materiales Antiincrustantes (DAMA)”.

Referencias bibliográficas

Abbas, Q. & Binder, L. (2010). Synthesis and Characterization of Choline Chloride Based Binary Mixtures. *ECS Transactions*. **33** (7): 49-59.

Aldhameer, A. (2020). Synthesizing and characterizations of one-dimensional Cu-based antibiofilm surface protective coating. *J Nanopart Res*. 22: 120. <https://doi.org/10.1007/s11051-020-04870-2>

Amara, I., Miled, W., Slama, R.B., Ladhari, N. (2018). Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review. *Environ Toxicol Pharmacol*. 57: 115-130. doi: 10.1016/j.etap.2017.12.001.

Anjum, M. J., Ali, H., Khan, W. Q., Zhao, J., & Yasin, G. (2020). Metal/metal oxide nanoparticles as corrosion inhibitors. In *Corrosion Protection at the Nanoscale* (pp. 181–201). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819359-4.00011-8>

ASTM. (2017). Standard Test Method for Quantification of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Grown with High Shear and Continuous Flow using CDC Biofilm Reactor (E2562-12).

Banach, M., & Pulit-Prociak, J. (2016). Synthesis, characteristics, and biocidal activity of silver nanoparticles. In *Fabrication and Self-Assembly of Nanobiomaterials: Applications of Nanobiomaterials* (pp. 367–399). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-41533-0.00012-X>

Becerra, J., Ortiz, P., Zaderenko, A. P., & Karapanagiotis, I. (2020) Assessment of nanoparticles/nanocomposites to inhibit micro-algal fouling on limestone façades, *Building Research & Information*. 48 (2): 180-190. 10.1080/09613218.2019.1609233

Bhu shan, B. (2013). *Principles and Applications of Tribology*. (Second Edition). John Wiley & Sons, Ltd. 993 Pp.

Bixler, G. D. & Bhushan, B. (2012). Biofouling: lessons from nature. *Phil. Trans. R. Soc. A*. 370: 2381–2417. <http://doi.org/10.1098/rsta.2011.0502>

Byron, F. (2020). Corrosion Impact of Offshore Platforms, Structures, and Vessels. *Materials Performance*. [Online]. Available online: <https://www.materialsperformance.com/articles/corrosion-basics/2020/12/corrosion-impact-of-offshore-platforms-structures-and-vessels> (accessed on 26 January 2023).

Calabrese, C. La Parola, V. Testa, M. L. & Liotta, L. F. (2022). Antifouling and antimicrobial activity of Ag, Cu and Fe nanoparticles supported on silica and titania. *Inorganica Chimica Acta*. 529: 120636. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120636>.

Dhanak, M.R., & Xiros, N.I. (2016). *Springer Handbook of Ocean Engineering*. (First edition). Germany. Springer International Publishing. 1345 Pp.

Guerrero Correa, M., Martínez, F. B., Vidal, C. P., Streitt, C., Escrig, J., & de Dicastillo, C. L. (2020). Antimicrobial metal-based nanoparticles: a review on their synthesis, types and antimicrobial action. *Beilstein journal of nanotechnology*. 11: 1450–1469. <https://doi.org/10.3762/bjnano.11.129>

Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2019). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. 12(8):1823-1838. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.12.014>

Little, B.J. & Lee, J.S. (2009). Microbiologically Influenced Corrosion. In Kirk-Othmer *Encyclopedia of Chemical Technology*. USA. John Willey & Sons, Inc., Wiley Online Library, Hoboken. doi:10.1002/0471238961.micrlitt.a01

López, L., & Vargas, G. (2022). High wear resistance and better pitting corrosion resistance of AISI 316L stainless steel by a self-protective oxy-nitrocarburizing paste. *Journal of Materials Research and Technology*. 16: 1803–1813. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.12.118>

Loxton, J., Macleod, A., Nall, C.R., McCollin, T., Machado, I., Simas, T., Vance, T., Kenny, C., Want, A. & Miller, R. (2017). Setting an agenda for biofouling research for the marine renewable energy industry. *Int J Mar Energy*. 19: 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijome.2017.08.006>

Mařátková, O., Michailidu, J., Miřkovská, A., Kolouchová, I., Masák, J. & Āejková, A. (2022). Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods, *Biotechnology Advances*. 58: 107905. [10.1016/j.biotechadv.2022.107905](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107905).

Nowicka-Krawczyk, P., Źelazna-Wieczorek, J., Koziróg, A., Otlewska, A., Katarzyna, R., Piotrowska, M., Gutarowska, B. & Brycki, B. (2019). Multistep approach to control microbial fouling of historic building materials by aerial phototrophs. *Biofouling*. 35(3): 284-298. [10.1080/08927014.2019.1598396](https://doi.org/10.1080/08927014.2019.1598396)

Omran, B.A. & Abdel-Salam, M.O. (2020). The Catastrophic Battle of Biofouling in Oil and Gas Facilities: Impacts, History, Involved Microorganisms, Biocides and Polymer Coatings to Combat Biofouling. In: *A New Era for Microbial Corrosion Mitigation Using Nanotechnology*. Advances in Material Research and Technology. (1st edition). Springer International. 201 Pp. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49532-9_2

Pérez, H., Vargas, G. & Silva, R. (2022). Use of Nanotechnology to Mitigate Biofouling in Stainless Steel Devices Used in Food Processing, Healthcare, and Marine Environments. *Toxics*. 10 (1):35. <https://doi.org/10.3390/toxics10010035>

Popescu, A.M., Constantin, V., Cojocaru, A., & Olteanu, M. (2011). Electrochemical Behaviour of Copper (II) Chloride in Choline Chloride-urea Deep Eutectic Solvent. *Rev. Chim.* 62 (2): 206-211.

Salah, I., Parkin, I.P. & Allan, E. (2021). Copper as an antimicrobial agent: recent advances. *RSC Advances*, 11(30), 18179-18186.

Sánchez, M., Mahmoud, H. & Alonso, C. (2012). Electrochemical response of natural and induced passivation of high strength duplex stainless steels in alkaline media. *J Solid State Electrochem.* 16: 1193–1202. [10.1007/s10008-011-1498-1](https://doi.org/10.1007/s10008-011-1498-1)

Sim, W., Barnard R.T., Blaskovich M.A.T., & Ziora, Z.M. (2018). Antimicrobial Silver in Medicinal and Consumer Applications: A Patent Review of the Past Decade (2007-2017). *Antibiotics (Basel)*. 7(4): 93. [10.3390/antibiotics7040093](https://doi.org/10.3390/antibiotics7040093).

Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P. M., Shivalkar, S. & Samanta, S. K. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. *Biotechnology Reports*. 25, e00427. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00427>

Trepos, R., Pinori, E., Jonsson, P., Berglin, M., Svenson, J. & Coutinho, R. (2014). Innovative approaches for the development of new copper-free marine antifouling paints. *J Ship Ocean Technol.* 9:7–18.

Vimbela, G. V., Ngo, S. M., Frazee, C., Yang, L., & Stout, D. A. (2017). Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International journal of nanomedicine.* 12: 3941–3965. <https://doi.org/10.2147/IJN.S134526>

Vinagre, P. A., Lindén, J. B., Mardaras, E., Pinori, E., & J. Svenson. (2022). Probing the correlation between corrosion resistance and biofouling of thermally sprayed metallic substrata in the field. *Biofouling.* 38 (2): 147-161. [10.1080/08927014.2022.2033736](https://doi.org/10.1080/08927014.2022.2033736)

Ytreberg, E., Lagerström, M., Nöu, S., & Wiklund A. E. (2021). Environmental risk assessment of using antifouling paints on pleasure crafts in European Union waters, *Journal of Environmental Management.* 281, 111846. doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111846.