

## TEXTURIZADO LÁSER DE ACEROS INOXIDABLES FERRÍTICOS PARA LA BÚSQUEDA DE NUEVAS PROPIEDADES: DISMINUCIÓN DE LA ADHERENCIA BACTERIANA

J. Outón a,b, V. Matres c, M. Carbú d,e, D. Acosta a y E. Blanco a,b

a Departamento de Física de la Materia Condensada, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz

b Instituto de Investigación en Microscopía Electrónica y Materiales, IMEYMAT

c Acerinox Europa S.A.

d Área de Microbiología, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Universidad de Cádiz

e Instituto de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria, IVAGRO

Las bacterias son microorganismos que presentan una enorme ubicuidad y gran capacidad de adherencia a superficies, lo que hace que sean una importante fuente de contaminación en industrias, como la alimentaria, y en entornos sanitarios. El problema se agrava cuando forman biopelículas o biofilms, que son capas formadas por microorganismos embebidos en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares, principalmente polisacáridos, que se unen de manera irreversible a las superficies. La formación de estas biopelículas confiere a las bacterias nuevas características, tales como una mayor resistencia al estrés y a los antibióticos. Por este motivo, su difícil eliminación, la cual no se llega a conseguir en determinados casos, supone un gran gasto de tiempo y dinero.

Por ello, sería ideal evitar la formación de biopelículas. En el proceso de adhesión influyen las condiciones ambientales, las características bacterianas y las propiedades superficiales. Así, el diseño de superficies que eviten o, al menos, reduzcan el biofouling, por sus características físico-químicas, es un área de investigación de gran interés. Dentro de las técnicas para producir acabados superficiales de gran precisión, ha emergido con fuerza la tecnología láser, ya que permite obtener texturas superficiales en un solo paso, de manera simple, repetitiva y sin etapas de limpieza, al no generar residuos.

En la industria alimentaria y en equipos médicos, el material más empleado en las superficies de trabajo es el acero inoxidable por su resistencia a la corrosión y excelentes propiedades mecánicas, además de poseer un muy buen aspecto visual. Además, es importante tener en cuenta que la capacidad de formación de biopelículas sobre aceros inoxidables es muy pequeña, especialmente en el caso de los aceros con acabado superficial brillante, ya que presentan una rugosidad muy baja que dificulta en gran medida, por su estructura física, la adherencia bacteriana. No obstante, aunque el margen de mejora sea pequeño, es importante reducir al mínimo la capacidad de adherencia ya que, como se ha comentado, es el material más empleado, y en muchos casos con un acabado brillante, en instrumental hospitalario y alimentario.

Con estos antecedentes, surge una nueva línea de investigación en el Dpto. Física de la Materia Condensada de la UCA partiendo de la siguiente hipótesis: “Mediante tratamientos consistentes en pulsos láser ultracortos aplicados a un acero inoxidable ferrítico se pueden conseguir materiales estables con buenos resultados en la inhibición de la adherencia de microorganismos cuando se usan en la industria alimentaria y en el entorno sanitario”.

## Mediante tratamientos consistentes en pulsos láser ultracortos aplicados a un acero inoxidable ferrítico se pueden conseguir materiales estables con buenos resultados en la inhibición de la adherencia de microorganismos cuando se usan en la industria alimentaria y en el entorno sanitario

Por ello se ha estudiado la capacidad de adherencia de *Escherichia coli*, microorganismo Gram negativo modelo ampliamente utilizado, sobre probetas de acero inoxidable ferrítico, el cual es más económico que el austenítico. En primer lugar, se ha comprobado que la cantidad de bacterias que se adhieren a las superficies sin tratar es muy similar en las probetas ensayadas en un mismo día. Sin embargo, se ha verificado que a pesar de que el cultivo bacteriano utilizado siempre tiene una densidad óptica entre 0.25-0.3 y se encuentra en fase exponencial, las pequeñas diferencias en su estado metabólico y la concentración influyen en la capacidad de adhesión y formación de biofilms, provocando diferencias en los resultados en días distintos. Por ese hecho, las probetas que han sido tratadas con láser, son comparadas con probetas sin tratar, a modo de control, a las que se les ha hecho el test de adherencia el mismo día.

Se han realizado experimentos utilizando un láser de femtosegundos de 1030 nm de longitud de onda en los que se varía la velocidad de escaneo, la cual controla el solapamiento entre pulsos en el eje X, y el interlineado, que controla el solapamiento en el eje Y, de manera que el solapamiento es constante en ambos ejes; manteniendo constantes la frecuencia y la potencia. Es importante tener en cuenta que siempre ha de existir solapamiento entre pulsos ya que la superficie ha de verse afectada al completo. Además, la superficie ha de ser modificada en un grado en el que puede conseguirse una disminución de la adherencia bacteriana, pero sin alterar sus propiedades mecánicas ni su resistencia a la corrosión y conservando un aspecto visual similar.

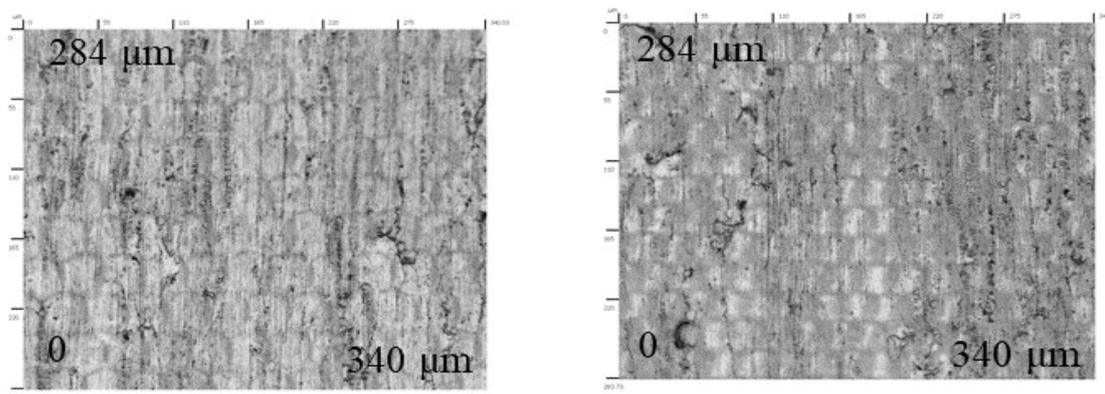


Figura 1. Imágenes de Microscopía confocal de la superficie texturizada donde se observa el solapamiento entre pulsos

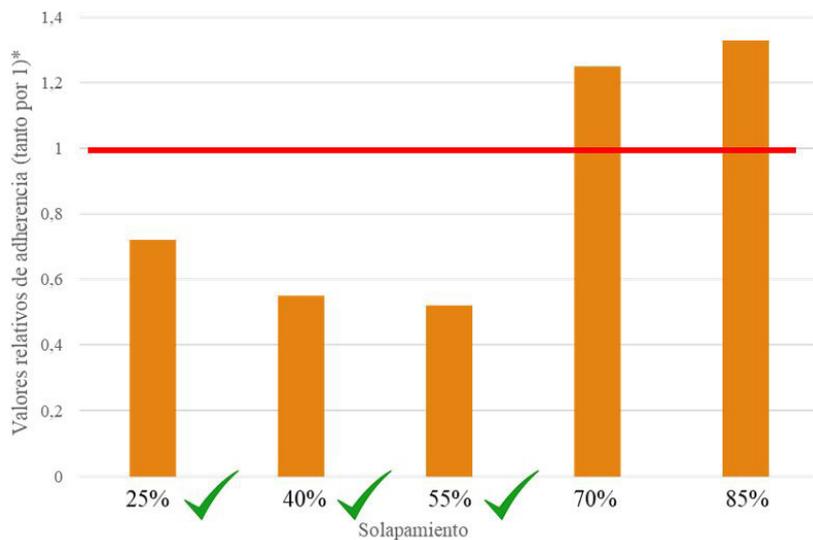


Figura 2. Resultados de los ensayos de adherencia

Al representar los valores relativos de adherencia (adherencia en una probeta tratada / adherencia en la probeta sin tratar), se observa que los tratamientos con solapamientos más bajos, presentan una disminución en la cantidad de bacterias adheridas, logrando disminuciones de hasta, aproximadamente, un 50%. Además, es muy positivo el hecho de que sea en los tratamientos con menor solapamiento y, por tanto, menos agresivos. De esta manera, se modifica menos la superficie de los aceros inoxidables y, por tanto, de sus propiedades.

Una manera de cuantificar cómo varía el aspecto visual es mediante el LRV (Light Reflectance Value), un indicador de la cantidad de luz que recibe una persona al ser reflejada por una superficie (definido por la norma CIE 15:2004 sobre colorimetría). Dicho parámetro ha sido calculado respecto de la radiación reflejada de manera difusa y respecto de la total, siendo sus valores los siguientes:

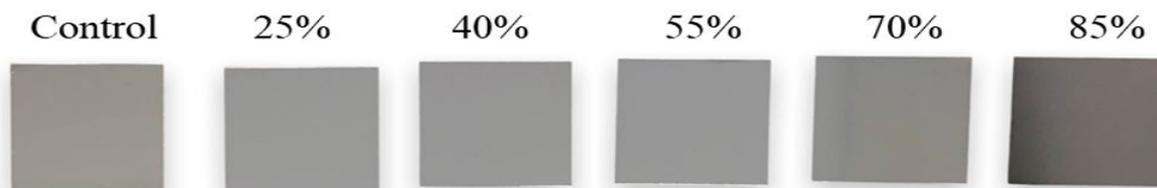
		Solapamiento				
	Control	25%	40%	55%	70%	85%
LRV difuso (%)	8.0	11.7	13.1	14.6	20.1	19.1
LRV total (%)	57.2	51.3	49.6	46.7	49.4	20.7

Tabla 1. Valores de LRV difuso y total

Se comprueba que, según aumenta el solapamiento, el LRV correspondiente a la difusa va aumentando lentamente mientras que el total va disminuyendo, aunque siempre con valores cercanos al de la muestra control. Esta tendencia deja de observarse para solapamientos superiores al 55%, ya

que un grado de solapamiento tan alto modifica demasiado la superficie, por lo que el aspecto empieza a ser muy distinto al de las muestras sin tratar. Hay que destacar que en los tratamientos que han conseguido disminuir la adherencia, los valores de LRV son similares a los de la muestra sin tratar, garantizando que el aspecto visual no varía en demasía.

**Se observa que los tratamientos con solapamientos más bajos, presentan una disminución en la cantidad de bacterias adheridas, logrando disminuciones de hasta, aproximadamente, un 50%**



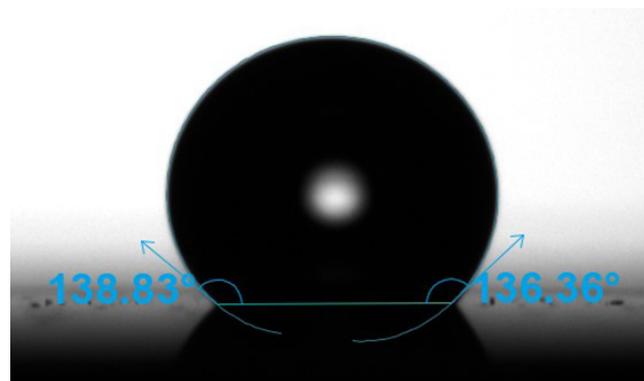
**Figura 3.** Fotografía del aspecto visual de las probetas tras el tratamiento y de la muestra control

Además, en el proceso de búsqueda se superficies que reduzcan la adherencia bacteriana se han logrado preparar muestras con elevado carácter hidrofóbico, por un lado, y, por otro, superficies con una muy elevada iridiscencia, es decir, que presentan distintos colores en función de la iluminación

y del ángulo con el que el observador mire la muestra. De este modo, se abren nuevas líneas de investigación en el proceso de preparación de superficies con nuevas propiedades y aplicaciones.



**Figura 4.** Muestra que presenta iridiscencia



**Figura 5.** Superficie texturizada que presenta un elevado ángulo de contacto



Javier Outón Porras se graduó en Biotecnología e Ingeniería Química en 2019 por la Universidad de Cádiz. Tras ello, realizó el Máster Nanociencia y Tecnología de Materiales, también, en la Universidad de Cádiz. Durante sus estudios, fue alumno colaborador en el Dpto. Física de la Materia Condensada y obtuvo una beca Erasmus en el curso 2018-2019, cursando sus estudios en la University of Chemistry and Technology, en Praga. Al finalizar sus estudios, obtuvo una beca FPU del Ministerio para la realización de la tesis doctoral, enrolándose en el grupo de investigación de Magnetismo y Óptica Aplicados y siendo miembro del Dpto. Física de la Materia Condensada.