

## PINTURAS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA



### Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT)

**Expositor: Dr. ROMAGNOLI, Roberto**

Grupo de trabajo: Dra. C. I. Elsner, Dra. S. G. Gómez de Saravia, Dra. M. Viera, Dra. N. Bellotti, Dra. M. Deyá, Dr. G. Blustein, Dra. M. Pérez, Lic. M. García, Lic. A. Paola, Ing. M. Revuelta, Lic. S. Bogdan, Lic. S. Rastelli, Lic. E. J. Gámez Espinosa, Lic. L. Barbería Roque

direccion@cidepint.gov.ar  
www.cidepint.gov.ar/

## INTRODUCCIÓN

Las pinturas con actividad biológica se utilizan para la protección de distintos tipos de sustratos contra la colonización y/o invasión por diferentes organismos vivos. La variedad de organismos que pueden tomar contacto con un sustrato es muy variada: bacterias, hongos, algas, organismos incrustantes del plancton marino y dulceacuático, insectos, etc. La función de estas pinturas es matar o repeler a los distintos organismos. Para ello, su funcionalidad se logra mediante modificaciones en el polímero formador de película y/o por la incorporación de un biocida.

Los biocidas tradicionales tienen un impacto negativo sobre el medio ambiente y la salud humana. Actualmente, la búsqueda de biocidas se orienta hacia compuestos amigables con el medio ambiente y, en gran parte, éste es el objetivo de esta línea de investigación. Entre estos biocidas se pueden mencionar los tanninos, las cumarinas, los extractos vegetales, aceites esenciales, etc. Una vez seleccionado el biocida se lo somete a ensayos biológicos adecuados para determinar su eficiencia. Luego se lo incorpora en una pintura y se evalúa la actividad biológica de la pintura. El biocida se puede incorporar en forma libre, adsorbido sobre un soporte o encapsulado.

## ACTIVIDAD BACTERICIDA Y ALGUCIDA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL

Las plantas sintetizan metabolitos, los cuales tienen propiedades antimicrobianas, son ambientalmente amigables y podrían constituir una alternativa a los antimicrobianos tradicionalmente empleados, reduciendo los efectos adversos sobre el medioambiente y la salud. Por ejemplo, su uso ayudaría a controlar la contaminación de las aguas urbanas debido a la lixiviación de las pinturas. Por este motivo, se evaluó la actividad bactericida y alguicida de diferentes compuestos de origen vegetal, tales como: timol, anisol, guaiacol, eugenol, isoeugenol, ácido vainillínico y carvacrol, con el objetivo de incorporarlos en formulaciones de recubrimientos ecológicos antimicrobianos y antiincrustantes.

Para evaluar las propiedades bactericidas de las sustancias, se seleccionaron bacterias ambientales y otras de importancia clínica, tanto Gram positiva como negativa. Las cepas bacterianas ensayadas fueron: *Kocuria rhizophila*, *Bacillus cereus*, *Staphilococcus sp.*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La sensibilidad bacteriana se evaluó mediante: i) difusión en agar y ii) concentración

mínima inhibitoria (CMI). El ensayo de difusión se realizó en placas de Petri con agar MH; las placas se inocularon con una carga bacteriana de  $\approx 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>; en cada placa se colocaron discos de 6 mm de diámetro embebidos con 8  $\mu$ L de cada compuesto en una concentración 4M. Para la CMI se utilizaron placas de 48 pocillos, en cada pocillo se colocaron 1000  $\mu$ L de caldo MH con una carga microbiana de  $\approx 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> y se evaluaron concentraciones entre 0,001 y 10 Mm de cada compuesto. Las placas se incubaron durante 24 h a 30°C. En la difusión en placa se midieron los diámetros de los halos de inhibición considerando:  $\leq 6$  mm actividad negativa; 7-10 mm moderada;  $\geq 11$  mm positiva y en la CMI se consideró el crecimiento como: -, +, ++. La sensibilidad de las algas se evaluó mediante la técnica de microatmósfera, frente a una comunidad de algas (obtenida de una pared con signos de biodeterioro) y a las especies individuales *Leptolyngbia aff. L.compacta*; *Klebsormidium aff. K.fluitans* y *Clorococcum sp.* El ensayo se realizó en placas de Petri con agar BG11. Las placas se inocularon con 200  $\mu$ L de un cultivo conteniendo  $\approx 1.2 \cdot 10^5$  algas mL<sup>-1</sup>; en la tapa de la placa se colocó un disco de papel de filtro de 13 mm de diámetro con 50  $\mu$ L de los compuestos en diferentes concentraciones. Las placas se incubaron en condiciones de 16/8 h luz/oscuridad y a 25°C durante 28 días.

Carvacrol, guayacol, eugenol, timol e isoeugenol, presentaron propiedades alguicidas óptimas. El ácido vainillínico presentó baja actividad bactericida y alguicida. El anisol no mostró efecto alguicida ni bactericida. El crecimiento de *P. aeruginosa* fue inhibido solo por el timol (Figura 1).

Estos resultados muestran que sería posible emplear alguno de estos compuestos en formulaciones de pinturas y recubrimientos higiénicos ambientalmente amigables para controlar el desarrollo de biofilms bacterianos y fototróficos sobre sustratos pintados.

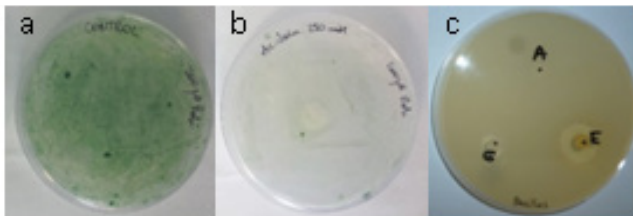


Figura 1. Ensayos de inhibición de crecimiento por sustancias de origen vegetal: (a) algas placa control; (b) algas placa con ácido vainillínico; (c) *B. cereus* con anisol, guayacol y eugenol

## RECUBRIMIENTOS ANTIMICROBIANOS

Las poblaciones urbanas transcurren la mayor parte del tiempo en interiores edilicios, por lo tanto, las condiciones ambientales en estos espacios reducidos, tiene gran impacto en la salud en general. Los materiales estructurales resultan sensibles a la colonización microbiológica y la constitución de biopelículas (Figura 2.a). Los microorganismos (mayormente hongos y bacterias) que conforman estas biopelículas deterioran los materiales, el ambiente circundante y se asocian con alergias, irritación de las vías aéreas, asma e infecciones. En la Argentina un 92% de la población se encuentra en zonas urbanas como producto de un proceso de migración desde zonas rurales, iniciado a mediados del siglo XX. Un porcentaje elevado de las viviendas construidas, producto de estos movimientos demográficos, no cuentan con las condiciones sanitarias básicas, lo cual deriva en casos graves de enfermedades relacionadas con el deterioro de la calidad ambiental. Esto se evidencia cuando se producen brotes infecciosos como el ocurrido en el año 2016 en la localidad de Berazategui (Buenos Aires) de origen bacteriano (género *Shigella*) que afectó a más de 400 personas.

Una de las estrategias para controlar la formación de las biopelículas incluye el desarrollo de recubrimientos funcionales antimicrobianos que prevengan la etapa inicial de colonización por parte de los microorganismos o impidan la viabilidad celular al entrar en contacto con los mismos. Para lograr este objetivo contienen, como se dijo, uno o más componentes bioactivos (biocidas) que en bajas concentraciones son responsables de su funcionalidad específica a nivel superficial. Entre los materiales estudiados se encuentran aquellos fotosensibles como el dióxido de titanio, las sales de amonio cuaternario, las nanopartículas metálicas, compuestos de origen natural como terpenos, polifenoles y péptidos, entre otros.

El procedimiento general consta, en una primera etapa, de la evaluación de potenciales biocidas mediante técnicas microbiológicas convencionales con cepas fúngicas y bacterianas de interés. Luego se seleccionan los más efectivos para formular e integrar los recubrimientos. Las películas obtenidas son evaluadas en cuanto a sus propiedades antimicrobianas, siguiendo una metodología similar a la de la norma ASTM D5590 y al concluir el ensayo se realizan observaciones mediante microscopio estereoscópico y microscopía electrónica de barrido (MEB), Figura 1b y c. Además, se evalúa la bio-resistencia de las películas luego de su envejecimiento natural o acelerado en cámara ambiental. Entre los aditivos antimicrobianos estudiados, hasta el momento, los más eficientes han sido aquellos formulados con nanopartículas de plata. Estos han probado inhibir el desarrollo de biopelículas bacterianas y fúngicas en bajas concentraciones (0,015% p/p).

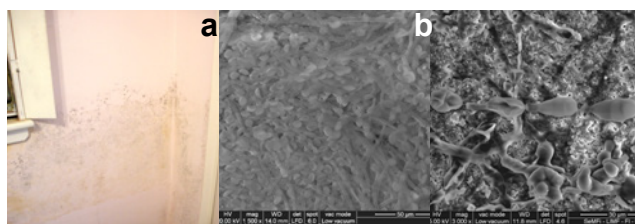


Figura 2. a) pared biodeteriorada; b y c) micrografías MEB de películas de pintura inoculadas con distintas cepas fúngicas luego de cuatro semanas de incubación a 28°C

## PINTURAS ANTIINCRUSTANTES

Se denomina *biofouling* o incrustaciones biológicas, a la comunidad de organismos tales como algas, mejillones, cirripedios, gusanos tubícolas y ascidias que se asientan sobre cualquier sustrato duro sumergido, natural o construido por el hombre. El crecimiento y desarrollo de la comunidad puede ocasionar graves perjuicios económicos sobre los distintos sustratos, como por ejemplo, impedir el movimiento de los barcos, desestabilizar estructuras oceánicas sumergidas, disminuir el intercambio de calor en torres de enfriamiento, obstruir cañerías, bloquear redes de granjas marinas de cultivo de peces o bivalvos, propiciar fenómenos de corrosión, entre otros.

El modo más efectivo para controlar el *biofouling* es aplicando pinturas antiincrustantes a base de tóxicos que son lentamente lixiviados al agua y que generan una interfase altamente concentrada que evita la fijación de organismos. Sin embargo, los pigmentos antiincrustantes corrientemente incluidos, son a base de cobre y/o compuestos organoestánicos que son contaminantes del agua y de los sedimentos. Por ello, se plantea como objetivo hallar pigmentos antiincrustantes que sean efectivos, de bajo costo y que se degraden incorporándose naturalmente a los ciclos biogeoquímicos, esto es “amigables con el medio ambiente”.

En este sentido se ha evaluado el comportamiento antiincrustante de diversos biocidas en laboratorio y en el puerto de Mar del Plata. Los biocidas estudiados fueron compuestos de origen natural (extractos de esponjas, taninos y plantas terrestres) y de origen sintético (cumarinas, benzoatos y sorbatos).

Los ensayos de laboratorio apuntan a establecer la actividad “*antifouling*” de los compuestos seleccionados con respecto a los principales organismos incrustantes. Los ensayos clásicos de laboratorio incluyen Test de toxicidad, Test de asentamiento y Test de recuperación. El Test de toxicidad es uno de los índices más utilizados para ensayos de exposición a determinados compuestos. Consiste en la determinación de la concentración letal que afecta al 50% o al 100% de la población analizada ( $LC_{50}/LC_{100}$ ). Por otra parte, el Test de asentamiento se realiza para estimar la concentración que inhibe la fijación del 50% o 100% de los organismos en ensayo ( $EC_{50}/EC_{100}$ ). Finalmente, el Test de recuperación permite estimar si el efecto del compuesto fue temporario o permanente.

Aquellos compuestos que fueron efectivos en los ensayos de laboratorio se incorporan a formulaciones de pinturas antiincrustantes preparadas en el CIDEPINT, las cuales se ensayan en el puerto de Mar del Plata. Hasta el presente, se han obtenido resultados muy satisfactorios durante períodos prolongados de exposición (Figura 3).

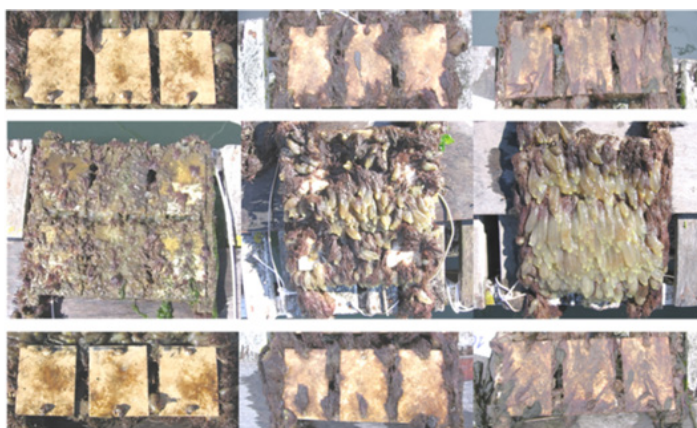


Figura 3. Pinturas antiincrustantes con sorbato férrico (arriba) y sorbato de aluminio (abajo), en el centro se muestra el control. La figura muestra paneles sumergidos en el puerto de Mar del Plata por períodos de 3, 6 y 9 meses (de derecha a izquierda)

## PINTURAS INSECTICIDAS

Las pinturas insecticidas repelen o matan insectos que se aproximen o caminen sobre los muros pintados con ellas. Según el tipo de insecto, los biocidas que han resultado satisfactorios son algunos aceites esenciales y biocidas sintéticos de baja toxicidad para el ser humano.

## AGRADECIMIENTOS

Las autoridades del CIDEPINT y los investigadores y becarios participantes agradecen a las entidades patrocinantes: CICPBA, CONICET y UNLP por el apoyo brindado para llevar adelante esta línea de investigación.