

# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIFÚNGICA DE PINTURAS DE BASE ACUOSA FORMULADAS CON ADITIVOS BIOCIDAS BASADOS EN CATIONES METÁLICOS ESTABILIZADOS EN MATRICES ZEOLÍTICAS

A. M. Pereyra<sup>a,b</sup>, G. E. Machado<sup>b</sup>, V. G. Rosato<sup>b</sup> y E. I. Basaldella<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas Dr. J.J. Ronco (CINDECA) (CONICET-CIC-UNLP), La Plata, Argentina.

<sup>b</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Materiales (CITEMA) Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional La Plata, Argentina.

[andreampereyra@yahoo.com](mailto:andreampereyra@yahoo.com)

**Palabras clave:** *Aspergillus niger*, zeolita NaA, biocidas catiónicos, pinturas base acuosa

## RESUMEN

En este trabajo se formularon pinturas de base acuosa para mampostería incorporando como aditivo biocida una zeolita tipo A intercambiada con  $\text{Ag}^{+1}$  y/o  $\text{Zn}^{+2}$ . La eficiencia biocida de los recubrimientos se evaluó frente a *A. niger*. En primera instancia, se realizó la síntesis de zeolita sódica tipo A (estructura LTA), la cual fue caracterizada a través de difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Los cationes biocidas  $\text{Ag}^{+1}$  y/o  $\text{Zn}^{+2}$  se incorporaron de manera controlada en las cavidades de la matriz aluminosilíceica por intercambio catiónico, obteniéndose muestras zeolíticas con contenido variable de estos cationes biocidas. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de las zeolitas intercambiadas frente a *A. niger* con el fin de hallar los valores de intercambio que provean actividad antifúngica eficiente a las pinturas de base acuosa diseñadas. Finalmente se realizó un ensayo de inhibición del crecimiento microbiológico sobre sustratos pintados. Los resultados indican que los cationes biocidas  $\text{Ag}^{+1}$  y  $\text{Zn}^{+2}$  incorporados en las cajas zeolíticas del tipo LTA podrían ser una herramienta beneficiosa para el desarrollo de recubrimientos de base acuosa ya que proporcionan una protección eficiente contra el ataque microbiológico en comparación con biocidas orgánicos tradicionales cuyos efectos contaminantes han sido altamente investigados y reconocidos.

## INTRODUCCIÓN

El deterioro de los materiales debido a la presencia de microorganismos se conoce como biodegradación. Su existencia genera una disminución de la vida útil y nivel de eficiencia de los procesos involucrados así como pérdidas energéticas asociadas. Un recurso para evitar tal deterioro es la utilización de recubrimientos que aislen el sustrato a proteger y más aún con la incorporación de sustancias denominadas biocidas.

Las pinturas de base acuosa para mampostería son normalmente susceptibles al deterioro producido por diferentes microorganismos (bacterias, hongos, etc.), por lo que la adición de aditivos biocidas en la formulación del recubrimiento resulta esencial para asegurar las propiedades en servicio que proveen una efectiva protección del sustrato. La presencia de microorganismos en la superficie del revestimiento está relacionada con la

degradación de la película (pérdida de propiedades mecánicas y estéticas), y también con la propagación de la contaminación microbiológica. Las sustancias habitualmente utilizadas basadas en isotiazolinonas o formaldehído presentan toxicidad y son objetables desde el punto de vista de la legislación vigente para protección del ambiente. Otros inconvenientes que presentan las mencionadas sustancias son la disminución a través del tiempo de la fuerza activa y la baja eficiencia, ya que el elevado peso molecular impide la reposición en la superficie del recubrimiento de manera efectiva [1-4].

Por su parte, las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos que se clasifican de acuerdo a las características comunes de sus estructuras. En particular, la zeolita A sódica empleada en este trabajo para alojar los cationes biocidas, se caracteriza por su estructura específica en la cual cada celda unidad contiene 24 tetraedros, 12  $\text{AlO}_4$  y 12  $\text{SiO}_4$ . Cuando está completamente hidratada, posee 27 moléculas de agua por celda unidad y se observa un catión sodio por cada aluminio presente. Estos iones sodio se mantienen débilmente unidos a la estructura, por lo que uno de los principales usos de este material se basa en sus propiedades de intercambio catiónico.

En este trabajo se estudió la eficiencia antifúngica de pinturas de base acuosa para mampostería que fueron formuladas utilizando zeolita NaA intercambiada con  $\text{Ag}^{+1}$  y/o  $\text{Zn}^{+2}$  como aditivo en reemplazo de los biocidas comercialmente empleados basados en isotiazolinonas. Inicialmente se determinó la concentración mínima inhibitoria de las zeolitas intercambiadas frente a *A. niger* con el fin de estimar la cantidad mínima necesaria de zeolita a agregar en las formulaciones de pintura para generar la protección adecuada. Luego se evaluó la capacidad biocida de las películas de pintura a través de ensayos microbiológicos. Los resultados indican que los cationes biocidas  $\text{Ag}^{+1}$  y  $\text{Zn}^{+2}$  incorporados en las cajas zeolíticas del tipo LTA proveen una protección eficiente contra el ataque microbiológico en la película de pintura.

## MATERIALES Y METODOLOGÍA

### Obtención de las zeolitas biocidas

Se utilizó zeolita NaA del tipo LTA, sintetizada en nuestro laboratorio, con una capacidad teórica de intercambio catiónico de  $7,04 \text{ mEq.g}^{-1}$  (base no hidratada) y de  $5,48 \text{ mEq.g}^{-1}$  (base hidratada). La síntesis hidrotérmica se llevó a cabo en un reactor de polipropileno cerrado, a 365 K, sin agitación. Las materias primas utilizadas fueron NaOH (Carlo Erba, p.a.), aluminato de sodio comercial [ $\text{Al}_2\text{O}_3$  (36,5 %),  $\text{Na}_2\text{O}$  (29,6 %), y  $\text{H}_2\text{O}$  (33,9 %)], silicato de sodio con una relación  $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O} = 3,18$  p/p (densidad,  $1,36 \text{ g.mL}^{-1}$ ), y agua destilada. El producto fue caracterizado por difracción de rayos X (DRX). El patrón de difracción se obtuvo en un equipo Philips PW 1732/10 usando radiación Cu K alfa y un filtro de Ni a una velocidad de  $2^\circ/\text{min}$ . El diagrama de difracción obtenido se identificó por comparación con los detallados en la literatura [5]. El tamaño de partícula y la morfología de los sólidos obtenidos se observaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), por medio de un microscopio Philips 505, utilizando muestras recubiertas con una fina capa de Au.

Las soluciones para el intercambio catiónico se prepararon con  $\text{AgNO}_3$  (Carlo Erba, p.a.),  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  (Carlo Erba, p.a.) y, opcionalmente,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (Carlo Erba, p.a.), usando agua destilada como disolvente.

Los intercambios catiónicos se realizaron poniendo en contacto, bajo agitación, 1 g de la zeolita sintetizada con 1 litro de la solución de intercambio correspondiente. Después de un tiempo de contacto de 3 horas a  $25^\circ\text{C}$ , el sólido se separó del líquido por filtración. Las fases sólidas se secaron en un horno a  $60^\circ\text{C}$  y se estabilizaron a temperatura ambiente y

35% de humedad relativa. Las fases líquidas se analizaron por espectrometría de absorción atómica (AAs) con un espectrofotómetro Varian, de doble haz, modelo AA220. La composición química de los cuatro tipos productos obtenidos: zeolita intercambiada con  $\text{Ag}^+$  (AgA), zeolita intercambiada con  $\text{Zn}^{+2}$  (ZnA), zeolita intercambiada con  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Zn}^{+2}$  conjuntamente (AgZnA), y las soluciones correspondientes utilizadas para los estudios de intercambio se enumeran en Tabla 1.

Tabla 1: Concentraciones de  $\text{Ag}^{+1}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  en las zeolitas y en las soluciones de intercambio catiónico.

Muestra	Sólido		Solución de intercambio		
	$[\text{Ag}^{+1}]$ (%p/p)	$\text{Zn}^{+2}$ (%p/p)	$[\text{Ag}^{+1}]$ (mol.L <sup>-1</sup> )	$[\text{Zn}^{+2}]$ (mol.L <sup>-1</sup> )	$[\text{NH}_4^+]$ (mol.L <sup>-1</sup> )
NaA	-	-	-	-	-
AgA	17,3	-	25	0,1	-
ZnA	-	5,6	25	-	0,05
AgZnA	7,95	7,16	60	0,36	1,66

### Ensayos microbiológicos

Para evaluar el comportamiento de las muestras AgA, ZnA y AgZnA frente a *A. niger*, se utilizó el método de concentración mínima inhibitoria (MIC). Ésta se define como la concentración mínima de biocida para la cual la velocidad de multiplicación del microorganismo es cero. Este valor se determinó por el método de dilución en agar [6]. La cepa de *A. niger* utilizada para estos estudios fue aislada de una pared pintada de la iglesia de San Francisco Asís de La Plata, Argentina [7]. La cepa de *A. niger* se ha registrado bajo el N° LPSC 1153 en el Instituto Spegazzini, Argentina.

El medio de agar (AGM) fue constituido por  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Anedra) 0,7 g.L<sup>-1</sup>,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Anedra) 0,7 g.L<sup>-1</sup>,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (Anedra) 1 g, NaCl (Anedra) 0,005 g.L<sup>-1</sup>,  $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Mallinckrodt Chemical Work) 0,002 g.L<sup>-1</sup>,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Mallinckrodt Chemical Work) 0,001 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Anedra) 0,7 g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck) 0,002 g. En todos los casos, se agitó para garantizar una distribución homogénea de los componentes.

Para evaluar la MIC de las zeolitas, se aumentó la concentración de los cationes en el medio de agar agregando cantidades crecientes en peso de zeolita. Los rangos de valores seleccionados corresponden a concentraciones de biocidas eficaces como se describe en la bibliografía [8].

Las cajas de Petri con AGM, suplementado con polvo de zeolita en cantidades crecientes, se inocularon con 1 ml de la suspensión de esporas de *A. niger* con el fin de mantener una concentración inicial de  $2,51 \times 10^6$  esporas.mL<sup>-1</sup> y después se incubaron durante 10 días a 30 °C. Finalmente, se midió el diámetro de las colonias. También se prepararon cajas de Petri de control con cultivo de *A. niger* en AGM y en AGM con la adición de maltosa (AGMM, 1-hidrato de maltosa pura, Biopack, 0,3 g en 10 ml). Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado. Los resultados de este ensayo permitieron obtener las concentraciones de  $\text{Ag}^{+1}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  y  $\text{Ag}^{+1}$ - $\text{Zn}^{+2}$  soportados en las matrices zeolíticas requeridas para inhibir el crecimiento microbiológico.

### Evaluación de la capacidad antifúngica de los recubrimientos para mampostería

Se formuló y elaboró un recubrimiento de color blanco tipo látex para mampostería. La adecuada dispersión se obtuvo utilizando un dispersor de alta velocidad, modelo Combimill. El peso específico final del recubrimiento fue de  $1,4 \text{ g.cm}^{-3}$ .

Para evaluar la actividad antifúngica, se incorporó a la pintura la zeolita A intercambiada con cationes (tipo AgA y AgZnA, muestras P1-P10). Además se elaboraron dos recubrimientos de control: 1) revestimiento P11, que contiene biocida comercial basado en isotiazolinonas, 2) pintura P12, recubrimiento sin biocida, Tabla 2.

Tabla 2. Concentración del biocida catiónico en las pinturas.

Pintura	Tipo de zeolita	[Ag <sup>+1</sup> ], mg.L <sup>-1</sup>	[Zn <sup>+2</sup> ], mg.L <sup>-1</sup>	Biocida comercial*, mg.L <sup>-1</sup>
P1	AgA	500	----	----
P2	AgA	600	----	----
P3	AgA	800	----	----
P4	AgA	1000	----	----
P5	AgA	1200	----	----
P6	AgZnA	65	50	----
P7	AgZnA	97.5	75	----
P8	AgZnA	130	100	----
P9	AgZnA	260	200	----
P10	AgZnA	520	400	----
P11*	----	----	----	2000
P12	Control sin biocida			

\*5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona/2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CIT/MIT) and 2-octil-4-isotiazolin-3-ona (OIT)

CIT/MIT: 4/1 en volumen

CIT/MIT/OIT: 3/2 in peso

CIT/MIT-OIT: 0,15% sobre el peso de la formulación

Con el fin de obtener muestras de la película seca, los recubrimientos elaborados se aplicaron en una superficie de vidrio (76,2 mm x 25,4 mm) usando un extendedor (espesor de la película: 150  $\mu\text{m}$ ). Los sustratos pintados permanecieron a 30 °C durante 7 días, para asegurar el curado de la película y posteriormente 180 días en ambiente de laboratorio. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La actividad biocida de las pinturas con zeolita en su composición se comparó con la que presentó el recubrimiento formulado con el biocida comercial aplicando un ensayo de inhibición del crecimiento microbiológico [9]. Cada vidrio pintado se colocó en una placa de Petri AGM y se inoculó *A. niger*. Se observó el crecimiento del hongo después de la incubación durante 20 días en una estufa a 30 °C. Se estimó por microscopía óptica, para cada muestra, el avance de las hifas en una fracción seleccionada de la superficie recubierta (60 mm x 25,4 mm). El porcentaje de superficie colonizada se cuantificó como  $[\text{superficie cubierta por las hifas (mm}^2) / 1,524 \text{ mm}^2] \times 100$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del material zeolítico

Los difractogramas del sólido obtenido al final de la síntesis hidrotérmica muestran picos que se correlacionan con los de una zeolita NaA pura (Fig. 1a). El tamaño y la morfología cristalina del sólido obtenidos por SEM se pueden observar en la Fig. 1b. Allí se muestra la morfología típica de una zeolita NaA, compuesta en este caso por cristales cúbicos de alrededor de 0,5  $\mu\text{m}$  de arista.

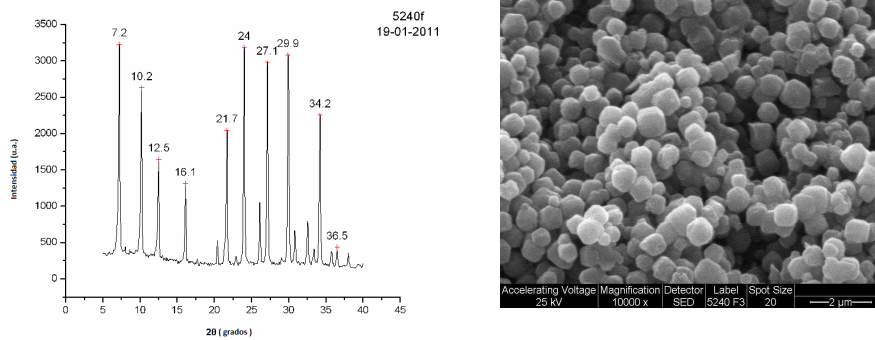


Figura 1. Caracterización del material sintetizado: a) Espectro de difracción de rayos X, b) Microscopía electrónica de barrido.

### Actividad antifúngica de zeolitas intercambiadas. Valores de MIC.

El crecimiento de *A. niger* para los sólidos AgA, ZnA y AgZnA en función del tiempo de cultivo se muestran en la Fig. 2a, 2b y 2c.

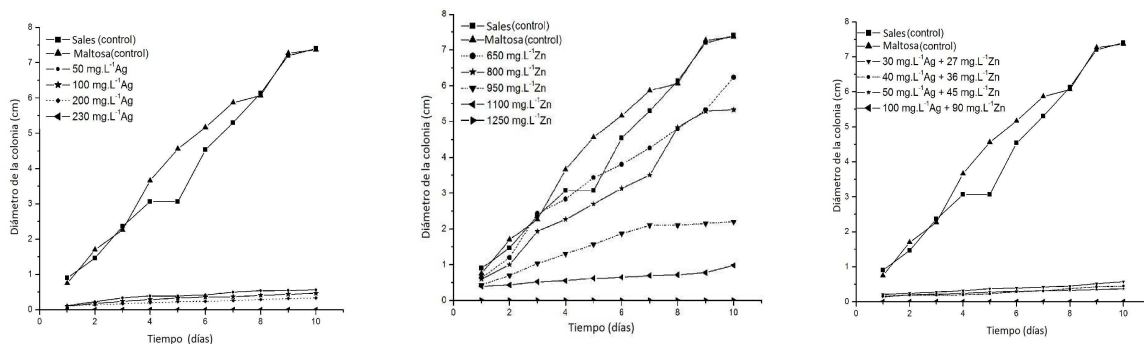


Figura 2: Valor promedio<sup>1</sup> del crecimiento de las colonias de *A. niger* en AGM para diferentes concentraciones de zeolita intercambiada (cm).<sup>1</sup> Tres cápsulas de Petri (10 mL).

En el caso de la adición de AgA a AGM, el crecimiento de las colonias de *A. niger* disminuye con el incremento de la concentración de  $\text{Ag}^{+1}$  hasta  $200 \text{ mg L}^{-1}$ . Se observaron reducciones en el crecimiento de colonias de 92,26% para  $[\text{Ag}^{+1}] = 50 \text{ mg.L}^{-1}$ , 93,62% para  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  y el 95,52% para  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , con respecto a la cultura AGMM (hongo en maltosa sin biocida). Debido a estos resultados, se realizaron pruebas utilizando  $[\text{Ag}^{+1}]$  a valores de 210, 220, 230 y 240  $\text{mg.L}^{-1}$ , no obteniendo ningún crecimiento para  $[\text{Ag}^{+1}] \geq 230 \text{ mg L}^{-1}$ . En consecuencia este valor se define como MIC. De hecho, valores mayores que  $230 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Ag}^{+1}$  inhibieron la producción de micelio y esporas. Estos resultados están de acuerdo con estudios similares que muestran la actividad biocida del catión  $\text{Ag}^{+1}$  [10]. Para ZnA, el aumento de la  $[\text{Zn}^{+2}]$  también produce un menor crecimiento de la colonia (Fig. 2). No se observó el crecimiento de *A. niger* para  $[\text{Zn}^{+2}] \geq 1250 \text{ mg L}^{-1}$  (MIC).

Estos resultados concuerdan con estudios previos en los cuales se han reportado valores más altos de MIC para el zinc en comparación con los encontrados para la plata [11]. En efecto, nanopartículas de metales estudiadas para inhibir el crecimiento del *Streptococcus mutan* mostraron una MIC promedio de  $4,86 \pm 2,71 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para la plata y  $500 \pm 306,18 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para el zinc, es decir, cien veces mayores para el ion divalente [12].

En el ensayo microbiológico para ZnAgA, el valor de MIC se obtuvo con la muestra que contiene  $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ag}^{+1} - 90 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Zn}^{+2}$  (Fig. 2 y Fig. 3). Este resultado sugiere un

efecto sinérgico debido a la presencia de los dos cationes. Comparando el valor de la MIC obtenido usando AgA con el correspondiente para AgZnA, los efectos inhibidores más altos se consiguen a menores valores de  $[Ag^{+1}]$  cuando se incluye  $Zn^{+2}$ . La muestra que tiene  $[Ag^{+1}] = 100 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $[Zn^{+2}] = 90 \text{ mg.L}^{-1}$  produce una inhibición del crecimiento comparable al conseguido con  $230 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $Ag^{+1}$ . Estos resultados son similares a los valores reportados previamente por Kawahara et al. [8]. Estos autores midieron el efecto antibacteriano de un producto comercial a base de zeolita con plata y otros cationes, encontrándose una MIC en el intervalo  $4,8\text{-}38,4 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$  de  $Ag^{+1}$  para las bacterias en condiciones anaeróbicas.



Figura 3. Izquierda: Crecimiento de *A. niger* con  $100 \text{ mg.L}^{-1} Ag^{+1}$ - $90 \text{ mg.L}^{-1} Zn^{+2}$  (10 días,  $30^{\circ}\text{C}$ ). Derecha: Crecimiento de *A. niger* con  $30 \text{ mg.L}^{-1} Ag^{+1}$ - $27 \text{ mg.L}^{-1} Zn^{+2}$  (10 días,  $30^{\circ}\text{C}$ ).

Por otra parte, en trabajos anteriores se observó que la MIC de una zeolita A comercial que contiene un porcentaje de Ag cercano a su máxima capacidad de intercambio ( $[Ag^{+1}] = 38\% \text{ p/p}$ ) fue de  $125 \text{ mg.L}^{-1}$  [13]. En esta zeolita comercial, los iones plata ocupan casi todas las posiciones de intercambio y la plata está completamente disponible en su forma iónica. Por el contrario, en la AgA preparada en este trabajo, el nivel de intercambio es de aproximadamente  $50\%$  ( $[Ag^{+1}] = 17,5\% \text{ p/p}$ ), presentando correspondientemente un valor de MIC inferior. Además, los iones plata en la zeolita AgZnA están compartiendo las posiciones de intercambio con el  $Zn^{+2}$  y los cationes  $NH_4^{+}$ , lo que resulta en una actividad antifúngica diferente.

Se sabe también que la inhibición es dependiente de la naturaleza y concentración de las especies de microorganismos probados [14]. Se estima que la eficiencia de los iones plata para ejercer una acción biocida eficaz se determina por la complejidad del organismo a ser tratado. Los hongos, organismos que tienen las células eucariotas, exhiben aumento de la resistencia a sustancias tóxicas en comparación con las bacterias (células procariotas) [15]. El presente estudio demuestra que los valores de concentración de cationes biocidas necesarios para la inhibición completa del crecimiento de *A. niger* son ligeramente más altos que los encontrados para las bacterias. Nuestros resultados pueden explicarse basándose en el hecho de que *A. niger* pertenece a un grupo de organismos más complejos.

Los estudios sobre la capacidad biocida de los iones  $Ag^{+1}$  han propuesto varios mecanismos de acción para explicar el efecto inhibitorio. Algunos investigadores han informado de que la carga positiva del ion de plata es fundamental para la actividad antimicrobiana. La atracción electrostática entre la membrana de la célula de carga negativa y la carga positiva de  $Ag^{+1}$  interfiere con la permeabilidad de la membrana [16-18]. Por otra parte, se determinó que el mecanismo de acción de los iones  $Zn^{+2}$  era el mismo que el descrito para  $Ag^{+1}$ . La actividad antibacteriana se basa en la liberación de iones  $Zn^{+2}$  que pueden dañar la membrana celular e interactuar con el contenido intracelular. Como se ha mencionado para los cationes de plata, la actividad antimicrobiana mejoraba con un contenido cada vez mayor de iones de zinc [19, 20].

Además, la actividad antibacteriana de los cationes alojados en las estructuras de la zeolita podría depender de su ubicación dentro de las cajas zeolíticas. Los iones metálicos que ocupan las posiciones de intercambio podrían ser atraídos electrostáticamente por la

célula y posteriormente liberados de la estructura aluminosilíceas. Entonces, los iones metálicos interactuarían con la célula, alterando la actividad bioquímica y causando la muerte celular. Por otra parte, los presentes resultados muestran que es posible alcanzar efectos inhibitorios similares para *A. niger* en los más bajos niveles de intercambio catiónico cuando una fracción de plata se sustituye parcialmente por zinc ( $[Ag^{+1}] + [Zn^{+2}] < [Ag^{+1}]$ ).

### Actividad biocida en las pinturas de base acuosa.

La Fig. 4 muestra los porcentajes de crecimiento de *A. niger* para las películas secas de las pinturas para mampostería formuladas. La Fig. 5 muestra los sustratos pintados P11, P2 y P9 en cultivo de *A. niger*.

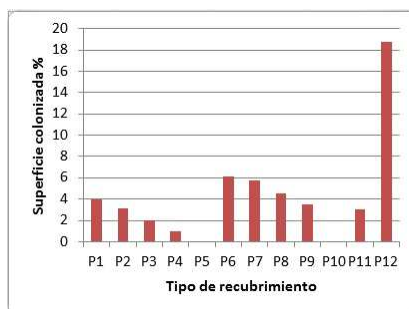


Figura 4. Crecimiento de *A. niger* en las películas de pintura.

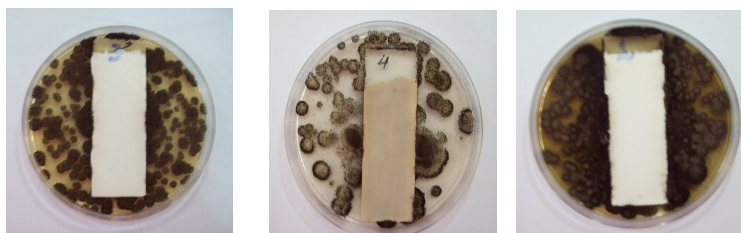


Figura 5. Izquierda: Pintura de base acuosa con isotiazolinona como biocida en cultivo de *A. niger*. Centro: Pintura con AgA en cultivo de *A. niger* ( $600 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Ag}^{+1}$ ). Derecha: Pintura con AgZnA en cultivo de *A. niger* ( $260 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Ag}^{+1} + 200 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Zn}^{+2}$ ).

Los análisis microbiológicos realizados sobre los recubrimientos formulados con diferentes concentraciones de  $[Ag^{+1}]$  permiten confirmar que las pinturas que contienen una concentración más alta de plata muestran actividades biocidas más altas. Para los niveles de  $[Ag^{+1}]$  en el recubrimiento de  $600 \text{ mg.L}^{-1}$  (P2), se puede observar que el rendimiento fue similar al obtenido con el biocida comercial (P11,  $2000 \text{ mg.L}^{-1}$ ). La cantidad biocida incorporada en P2 es casi suficiente para inhibir el crecimiento de *A. niger* (alrededor de 3 % de área colonizada). Por otra parte, para el recubrimiento de P2, que contiene  $[Ag^{+1}] = 600 \text{ mg.L}^{-1}$ , la inhibición microbiológica obtenida fue similar a la de P9, donde  $[Ag^{+1}] + [Zn^{+2}]$  eran  $260 \text{ mg.L}^{-1}$  y  $200 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. Para P5 ( $[Ag^{+1}] = 1200 \text{ mg.L}^{-1}$ ) y P10 ( $[Ag^{+1}] + [Zn^{+2}] = 520 \text{ mg.L}^{-1}$  y  $400 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente), no se observó el crecimiento de *A. niger*. Estas concentraciones impidieron el avance de las hifas del hongo en la superficie recubierta. Estos resultados confirman el efecto sinérgico producido por la adición de ambos cationes.

Por otro lado, la incorporación de  $Zn^{+2}$  mejora la apariencia visual de las películas del revestimiento. Para las formulaciones que contienen solamente plata se observó que las altas concentraciones de cationes de plata genera un oscurecimiento de la película del revestimiento debido a la foto-oxidación de la plata, (Fig. 5, centro). Por consiguiente, la adición de zinc permite disminuir la cantidad de plata en la película en un 57%, proporcionando el mismo efecto inhibitorio. En este caso, no se observaron defectos de

coloración; el color y el poder cubriente son similares a los obtenidos utilizando el biocida comercial.

Es importante mencionar que el nivel incorporado en la formulación de revestimiento de CIT/MIT-OIT fue de 2.000 mg.L<sup>-1</sup> (MIC = 5 mg.L<sup>-1</sup> de *A. niger*), mientras que el nivel recomendado para el CIT/MIT es aproximadamente 10-30 mg.L<sup>-1</sup>, teniendo en cuenta su potencial de sensibilización a la piel [3, 21].

## CONCLUSIONES

Los cationes biocidas tales como Ag<sup>+1</sup> y Zn<sup>+2</sup> soportados en matrices zeolíticas pueden ser una herramienta beneficiosa para el desarrollo de recubrimientos con una protección eficiente frente al ataque microbiológico. La sustitución de una fracción de plata por cationes de zinc en el material zeolítico ofrece dos ventajas: en primer lugar, diseñar formulaciones de recubrimiento acuosas con prestaciones idénticas, y un costo más bajo que los que se obtienen cuando se emplean sólo cationes de plata monovalentes; en segundo lugar, se podrían mantener las propiedades estéticas. También es importante mencionar que los materiales preparados podrían ser considerados para la sustitución de muchos de los biocidas orgánicos utilizados tradicionalmente, que de acuerdo a las regulaciones ambientales deberían ser sustituidos por otros de baja toxicidad y alternativas ambientalmente amigables.

## REFERENCIAS

- [1] R. Brown, in: Gerry Davison and Bruce Lane (Eds.), Additives in water-borne coatings. Additives in coatings-A necessary evil?, RS.C. UK, 2003, pp. 1-6.
- [2] T.K. Sontakke, R.N. Jagtap, Singh Arvind, D.C. Kothari, Prog. Org. Coat. 74 (2012) 582-588.
- [3] S.Betts, in: Gerry Davison and Bruce Lane (Eds.), Additives in water-borne coatings. Biocide review, RS.C. UK, 2003, pp. 7-14.
- [4] K. Johns, Coatings International Part B: Coatings Transactions. 86 (2003) 101-110.
- [5] W. D. Breck, Zeolite Molecular Sieves, Wiley, New York, 1974.
- [6] J. Hindler, Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology, Washington DC, USA, 2004.
- [7] V.G. Rosato, R., Lofeudo, Patologías en muros de construcciones históricas ocasionadas por vegetación invasiva. CINPAR 2010-VI Congreso Internacional sobre Patología y Recuperación de Estructuras, Córdoba, Argentina, 2010.
- [8] K. Kawahara, K. Tsuruda, M. Morishita, M. Uchida, Dent. Mater. 16 (2000) 452-455.
- [9] M. Edge, N.S. Allen, D. Turner, J. Robinson, K. Seal, Prog. Org. Coat. 43 (2001) 10-17.
- [10] L. Ferreira, A. Fonseca, G. Botelho, C. Almeida- Aguiar, I. Neves, Microporous Mesoporous Mat. 160 (2012) 126-132.
- [11] J. Liedtke, W. Vahjen, Vet. Microbiol. 160 (2012) 251-255.
- [12] J.F. Hernández-Sierra et al., Nanomed. Nanotechnol. 4 (2008) 237-240.
- [13] S. Egger, R.P. Lehmann, M.J. Height, M.J. Loessner, M. Schuppler, Applied and Environmental Microbiology, 75 (2009) 2973-2976.
- [14] J.P. Ruparelia, A.K. Chatterjee, S.P. Dutttaguptab, S. Mukherji, Acta Biomater. 4 (2008) 707-716.
- [15] A. Panáček, M. Kolář, R. Večeřová, R. Pucek, J. Soukupová, V. Kryštof, P. Hamal, R. Zbořil, L. Kvítek, Biomaterials 30 (2009) 6333-6340.
- [16] T. Hamouda, A. Myc, B. Donovan, A. Shih, J. Reuter, J.R. Baker, Microbiol. Res. 156 (2000) 1-7.
- [17] P. Dibrov, J. Dzioba, K.K. Gosink, C. Häse, Antimicrob. Agents Ch. 46 (2002) 2668-2670.
- [18] J. Kim et al., Nanomed. Nanotechnol. 3 (2007) 95-101.
- [19] X. Wang, Y. Du, H. Liu, Carbohydr. Polym. 56 (2004) 21-26.
- [20] R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M.F. Benedetti, F. Fievet, Nano Lett. 6 (2006) 866-870.
- [21] B.R. Alexander, Contact Dermatitis 46 (2002) 191-196.