

## **NUEVOS BIOCIDAS PARA EVITAR EL DETERIORO DE SUSTRATOS PINTADOS**

**Bellotti Natalia<sup>1</sup>, Salvatore Luciana, Deyá Cecilia<sup>2,3</sup>, Del Panno MaríaT.<sup>3</sup>,  
del Amo Beatriz<sup>2</sup>, Romagnoli Roberto<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Profesional CONICET, <sup>2</sup>Investigador CONICET, <sup>3</sup>Profesor UNLP  
CINDEFI- Instituto de Biotecnología Aplicada (UNLP-CCT-CONICET)  
CIDEPINT - Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas  
(CIC-CCT-CONICET)  
Calle 52 e/ 121 y 122 (B1900AYB) La Plata. Argentina. FAX: 54-221-427 1537  
E-mail: pinturashigienicas@cidepint.gov.ar

### **RESUMEN**

La colonización fúngica de pinturas es un problema que, en las últimas décadas, atrajo la atención, debido a los problemas estéticos que causa, a la degradación de la pintura y a los problemas de salud que puede provocar. Una forma de evitarla es mediante el empleo de pinturas higiénicas, capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos, y que permiten, además, la fácil limpieza de la superficie pintada.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de dos biocidas en pinturas. Los biocidas estudiados fueron: salicilato de cinc y benzoato de cinc. Se utilizaron *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternata*, aislados a partir de sustratos pintados contaminados con hongos, como especies indicadoras de la efectividad de las pinturas.

Los resultados mostraron que los compuestos ensayados actúan como inhibidores del desarrollo de *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternata* tanto puros como formando parte de pinturas acrílicas. La pintura con benzoato de cinc ejerció mayor inhibición que la pintura con salicilato de cinc sobre *Alternaria alternata*. En el caso de *Chaetomium globosum* el salicilato de cinc evidenció un mayor efecto inhibitor. Así mismo, los ensayos físicos demostraron que los inhibidores no difundieron de la pintura ni modificaron sus propiedades físicas o reológicas.

Tópico 2: Conservación y restauración de Pinturas, Cueros, Textiles, Papel y Metales. Técnicas de Limpieza y restauración.

### **1. INTRODUCCIÓN**

Los hongos son organismos heterótrofos, que comúnmente colonizan materiales de construcción los cuales constituyen sustratos ricos en compuestos orgánicos que logran ser metabolizados por estos. Así, la colonización fúngica de pinturas es un problema que ha atraído la atención, en las últimas décadas, debido no sólo a los problemas estéticos que causa (manchas, cambios de color, desprendimientos) sino también a la degradación de la pintura (tizado, pérdida de adhesión) y a los problemas de salud que puede provocar en personas con bajas defensas o con sistemas inmunológicos deprimidos (alergias, asma) [1-3].

El uso de pinturas higiénicas, capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos, es una herramienta más para evitar los problemas mencionados.

- 2do. Congreso Iberoamericano y X Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio"-

Estas pinturas no contienen altas concentraciones de compuestos inhibitorios, comúnmente nombrados como "biocidas" sino que funcionan en forma integrada a fin de minimizar los riesgos. Entre los biocidas usados actualmente se encuentran las siliconas recubiertas con sales de amonio, el hidróxido de calcio, los polímeros con carga positiva como resinas de intercambio iónico, de amonio cuaternario, algunos colorantes usados en la industria textil, la acción conjunta de peróxido de hidrógeno y radiación U.V., los compuestos de manganeso y el ácido benzoico [4-8].

Los látex son un blanco especial de ataque debido a que contienen como espesante compuestos celulósicos que pueden ser usados por los hongos como fuente de carbono. Esto debe tenerse en cuenta durante la restauración de sustratos pintados o el pintado de superficies nuevas ya que afectaría su conservación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de dos biocidas en pinturas de pared interior. Los biocidas estudiados fueron: benzoato de cinc y salicilato de cinc, usados en la industria alimentaria como conservantes [4]. Se utilizaron, como especies indicadoras de la efectividad de las pinturas, los hongos *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternate*, los cuales fueron aislados a partir de sustratos pintados, visiblemente contaminados [9].

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. Ensayos de inhibición con biocidas**

Para llevar a cabo estos ensayos, se inocularon placas conteniendo 15 mL de una solución 0,03% p/v de biocida en el medio de cultivo con 20  $\mu$ L de una suspensión de esporas ( $0.3-0.5 \cdot 10^6$  esporas/mL). El medio de cultivo utilizado RB contenía 10 g de glucosa, 5 g de peptona, 1 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y 15 g de agar, disueltos en hasta 1000 mL de agua destilada. El procedimiento se realizó también con un control sin biocida y, en todos los casos, por duplicado. El inóculo se obtuvo a partir del cultivo en medio sólido RB de los hongos *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternate*, aislados de superficies pintadas contaminadas. Estos hongos fueron incubados a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  por 20-25 días. Las esporas se suspendieron en solución 0,85% p/v de NaCl y 0,005% p/v de Tween 20) y su concentración se ajustó empleando una cámara de Neubauer. Las placas inoculadas fueron incubadas a  $25^\circ\text{C}$  y, semanalmente, durante un mes, se midió el crecimiento fúngico, frente a cada biocida, como el diámetro promedio de la colonia [4, 10, 11].

### **2.2. Biorresistencia**

Se prepararon pinturas higiénicas usando una pintura comercial (Borgolatex®, látex acrílico para interiores y exteriores) a la cual se agregó 0,57% p/p de biocida, sobre el total de pintura, mediante una dispersora de alta velocidad. Se pintaron paneles de vidrio de  $7,5 \times 2,5 \text{ cm}^2$ , con pincel, se dejaron secar 24 horas y se pintaron una segunda vez. Los paneles pintados se dejaron secar 15 días antes de realizar el ensayo de biorresistencia con las especies de hongos indicadoras de la efectividad (*Chaetomium globosum* y *Alternaria alternate*). Los inóculos fueron preparados del mismo modo que en los ensayos de inhibición con biocidas.

Antes del ensayo, los paneles fueron cortados en piezas de  $2,5 \times 2,5 \text{ cm}^2$  e irradiados con una lámpara germicida UV Philips de 20 Watts, durante 40 minutos de cada lado, para eliminar cualquier contaminación que pudiera existir. Luego las piezas

- 2do. Congreso Iberoamericano y X Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio"- de vidrio pintadas y sus respectivos controles, sin biocidas, fueron colocados en placas con medio mineral agarizado (5g NaCl, 1g  $\text{HK}_2\text{PO}_4$ , 1g  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ , 1g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,2g  $\text{MgSO}_4$ , 3g  $\text{KNO}_3$ , 15g de agar y agua destilada hasta completar 1000 mL). El medio mineral fue seleccionado dadas las pobres condiciones de crecimiento que brinda a fin de evidenciar el desarrollo fúngico a expensas de la pintura como fuente de carbono y de energía.

### 2.3. Ensayos físicos

La pintura empleada en esta investigación fue caracterizada de la siguiente manera: La viscosidad se determinó según el método de Stormer y, el poder cubriente y la resistencia a la abrasión (lavabilidad) según la norma IRAM (Instituto Argentino de Normalización y Certificación) 1070 para pinturas látex de interior.

La absorción de humedad es un requisito importante en pinturas de interior ya que es una de sus funciones. La absorción de humedad de las pinturas se determinó sobre paneles de acrílico ( $10 \times 2\text{cm}^2$ ) pintados en forma similar a los paneles de vidrio. Los paneles se dejaron secar en ambiente de laboratorio durante 15 días antes de realizar el ensayo. Transcurrido ese lapso, los paneles fueron inmersos en una cámara cerrada con solución de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturada a  $20^\circ\text{C}$  en equilibrio con aire con 79,5% de humedad relativa [12]. La absorción de humedad se evaluó por diferencia de peso entre los paneles antes de colocarlos en la cámara y luego de determinados períodos de tiempo utilizando una balanza analítica. Una vez lograda la saturación de los paneles, se ubicaron en una cámara similar con solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de densidad  $1,6\text{g}/\text{cm}^3$  que estaba en equilibrio con aire con 8,5% de humedad relativa a  $20^\circ\text{C}$  [12]. Transcurridas 48 horas en ambiente de baja humedad, los paneles fueron removidos y colocados en un ambiente de alta humedad para comprobar si su capacidad de absorción de agua no había sido modificada.

Los ensayos de lixiviación del biocida se llevaron a cabo sobre paneles de acrílico ( $8 \times 8\text{cm}^2$ ) pintados y secados como fuera mencionado e inmersos en agua destilada. La lixiviación se siguió a través del tiempo cuantificando mediante absorción atómicos los iones  $\text{Zn}^{2+}$  liberados por las pinturas. Estos ensayos se realizaron también sobre paneles pintados con la pintura control, que no contenía biocida.

## 4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

### 4.1. Ensayos de inhibición con biocidas

Los ensayos de inhibición mostraron que, transcurrida la primera semana, el crecimiento de *Chaetomium globosum* (Figuras 1 y 2) en la placa control fue de 66,0mm mientras que en las placas con biocidas fue aproximadamente la mitad. Luego de diez días de ensayo y hasta el mes en la placa control se mantuvo constante el diámetro de la colonia en 76,0mm mientras que en las placas con biocidas el crecimiento fue continuo alcanzando un valor de 67,5mm al final del ensayo.

En las placas inoculadas con *Alternaria alternate*, Figuras 3 y 4, en la primera semana, el crecimiento en la placa control fue de 77,2mm mientras que en las placas con biocidas fue de aproximadamente 52,0mm. Trascorridas dos semanas, el crecimiento en todas las placas fue similar (95,0mm), indicando una menor actividad, a largo plazo, de los biocidas sobre este hongo.

La velocidad de crecimiento de los hongos puede verse en la Tabla 1.

#### 4.2. Biorresistencia

De acuerdo a los ensayos de biorresistencia de las pinturas, el crecimiento de *Chaetomium globosum* se vio más afectado por la presencia de los biocidas que el de *Alternaria*, siendo mayor el efecto en el caso de la pintura que contenía salicilato de cinc. Frente a *Alternaria alternata*, la pintura con benzoato de cinc mostró una mayor actividad. Estos resultados se muestran en la Tabla 2 y en la Figura 5 y se correspondieron con los observados en los ensayos de inhibición.

#### 4.3. Ensayos físicos

Los ensayos físicos demostraron que la incorporación de biocida no modifica las propiedades de la pintura (Tabla 3). El agregado de biocida tampoco modifica la capacidad de absorción y liberación de agua de la pintura (Tabla 4).

El ensayo de lixiviación no mostró valores de iones  $Zn^{+2}$  mayores a 0,3ppm, siendo este el valor límite del equipo.

Durante los ensayos de lixiviación fue apreciado a ojo desnudo el desarrollo de algas verde azuladas identificándose, mediante microscopía óptica, a la especie mayoritaria como *Leptolyngbya subtilis* [13]. Los paneles con la pintura control fueron los que presentaban una mayor área cubierta por estas algas. La mayor inhibición fue observada en los paneles con benzoato de cinc donde las algas cubrían sólo una pequeña área. Además, se pudo observar que en el caso de los paneles pintados con salicilato de cinc, la tendencia al crecimiento de las algas era mayor en el sentido perpendicular a la superficie. Estos resultados muestran la conveniencia de estudiar, en un futuro, la acción alguicida del benzoato y del salicilato de cinc.

### 5. CONCLUSIONES

- ❖ El benzoato de cinc y el salicilato de cinc demostraron ser efectivos como inhibidores del crecimiento de *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternate* tanto puros como formando parte de pinturas acrílicas.
- ❖ La pintura con benzoato de cinc ejerció un mayor efecto inhibitor sobre el crecimiento de *Alternaria alternate* que la pintura con salicilato de cinc. En el caso de *Chaetomium globosum* la formulación con salicilato de cinc fue la más efectiva.
- ❖ Los biocidas empleados permanecen en la película de pintura.
- ❖ La adición de los biocidas ensayados no modifica las propiedades físicas ni reológicas de la pintura acrílica empleada.

### REFERENCIAS

- [1] Shirakawa M. A., Gaylarde C., Gaylarde P., John V., Gambale W. (2002), "Fungal colonization and succession on newly painted buildings and the effect of biocide", FEMS Microbiology Ecology 39, 165-173.
- [2] Cooley J. D., Wong W. C., Jumper C. A., Straus D. C. (2004), "Fungi and the Indoor Environment: Their Impact on Human Health", Advances in Applied Microbiology, 55, 3-30.

- 2do. Congreso Iberoamericano y X Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio"-

- [3] Borlando L.A. (1965), "Procedimiento para el ensayo biológico de pinturas al agua tipo emulsión", Anales de 2º Congreso Latinoamericano de Ingeniería Química, serie II, N° 185.
- [4] Guynot M.E., Ramos A.J., Sanchis V., Marín S. (2005), "Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5)", International Journal of Food Microbiology 101, 161-168.
- [5] Johns K. (2003), "Hygienic coatings: The next generation", Surface Coatings International Part B: Coatings Transactions, Vol. 86, B2, June 101–110.
- [6] Kenawy E., Abdel-Haya F., El-Shanshouryb A., El-Newehy M. H., (1998) "Biologically active polymers: synthesis and antimicrobial activity of modified glycidyl methacrylate polymers having a quaternary ammonium and phosphonium groups", Journal of Controlled Release 50 145–152.
- [7] Bilyk A., Li S., Murphy J., Petinakis S., Zerding K., Scully A. (2008), "Photoactive nanocoating for controlling microbial proliferation on polymeric surfaces", Progress in Organic Coating 62, 40-48.
- [8] Lueck E., in: Springer-Verlag (Ed.), Antimicrobial food additives: characteristics, uses and effects, Berlin, Heidelberg, New York, 1980, pp. 210-217.
- [9] Salvatore L., Romagnoli R., del Amo B., Bellotti N., Del Panno M. T., (2010), "Evaluación de la resistencia de pinturas frente a aislamientos fúngicos", Anales del 3er. Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia y Tecnología de Materiales, SAM, trabajo N° 11-12.
- [10] Marín S., Ramos A. J., Sanchis V. (2005), "Comparison of methods for the assessment of growth of food spoilage moulds in solid substrates", International Journal of Food Microbiology 99, 329– 341.
- [11] Marín S., Cuevas D., Ramos A. J., Sanchos V., (2008) "Fitting of colony diameter and ergosterol as indicators of food borne mould growth to known growth models in solid medium", International Journal of Food Microbiology 121, 139–149.
- [12] Handbook of Chemistry and Physics 28<sup>a</sup> Edición, 1946
- [13] J. Komárek, K. Anagnostidis, Cyanoprokaryota -2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales. In: Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds), Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2, Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 2005.

Tabla 1  
Velocidad de crecimiento de los hongos (mm/día)

Biocidas	<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Alternaria alternata</i>
Benzoato de cinc	4,7	6,8
Salicilato de cinc	4,9	7,1
Control	10,0	11,4

Tabla 2

Velocidad de crecimiento de los hongos a partir de los ensayos de biorresistencia\*

Pinturas	Crecimiento para cada semana de ensayo (%)							
	<i>Chaetomium globosum</i>				<i>Alternaria alternata</i>			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Benzoato de cinc	2	2	3	3	3	3	3	3
Salicilato de cinc	1	1	1	1	3	4	4	4
Control	3	3	3	4	4	4	4	4

\*Escala de referencia para el crecimiento de hongos  
(ASTM D5590-00)

Crecimiento	Escala
Ningún	0
Escaso (<10%)	1
Leve (10-30%)	2
Moderado (30-60%)	3
Abundante (60-100%)	4

Tabla 3  
Características de las pinturas

Pinturas	Viscosidad ( $\mu$ krebs)	Lavabilidad (ciclos)	Poder cubriente (%)
Benzoato de cinc	121	7	100
Salicilato de cinc	100	10	100
Control	86	10	100

Tabla 4  
Ensayo de absorción de humedad (%)

Pinturas	Tiempo (horas)						
	79,5 % de humedad				8,5 % de humedad		79,5 % de humedad
	3	24	48	96	3	24	24
Benzoato de cinc	0,3	0,9	1,0	1,8	- 0,7	- 1,8	0,9
Salicilato de cinc	0,4	1,2	1,4	2,3	- 1,0	- 2,3	1,1
Control	0,4	1,3	1,5	2,6	- 1,0	- 2,6	1,2

Figura 1. Diámetro medio del crecimiento de *Chaetomium globosum*

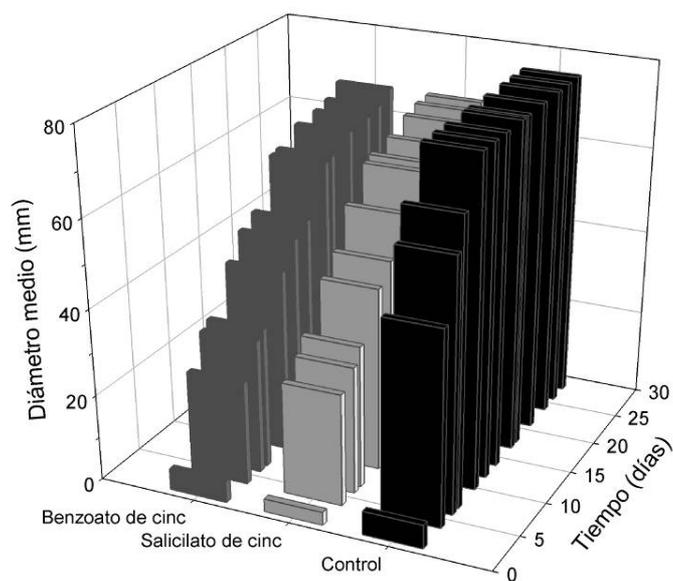


Figure 2. Crecimiento de *Chaetomium globosum* en placas luego de una semana de incubación

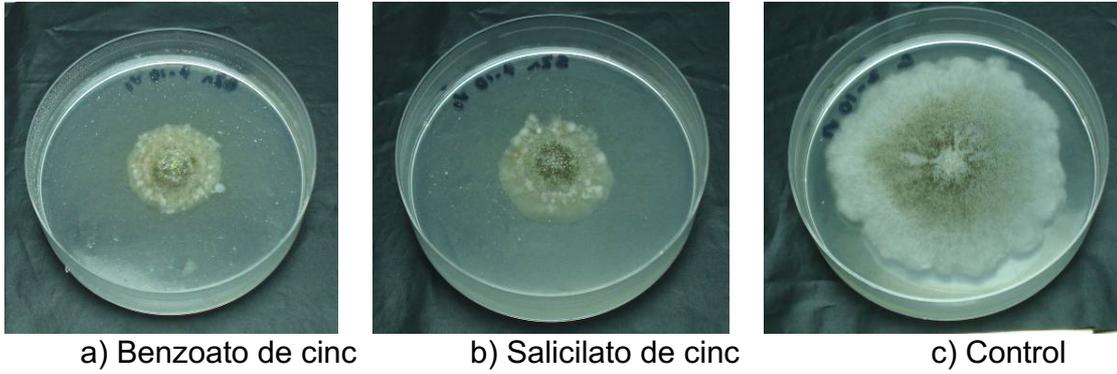


Figura 3. Diámetro medio del crecimiento de *Alternaria Alternata*

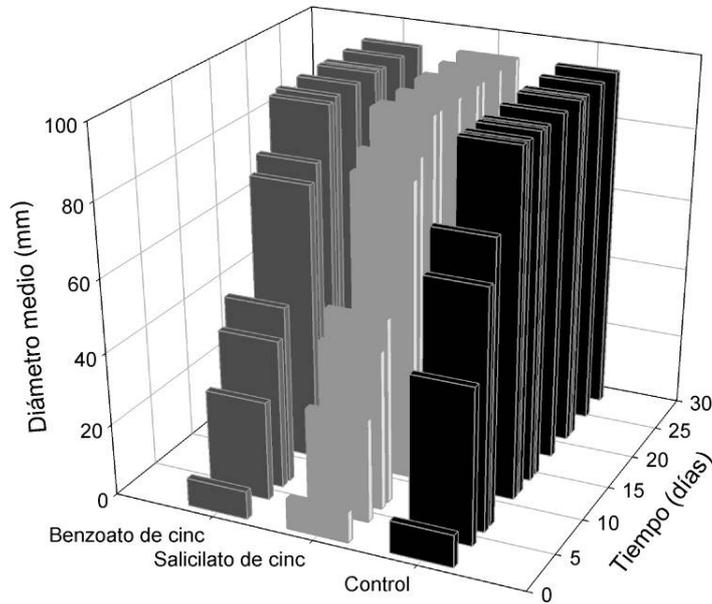


Figura 4. Crecimiento de *Alternaria alternata* en placas luego de una semana de incubación

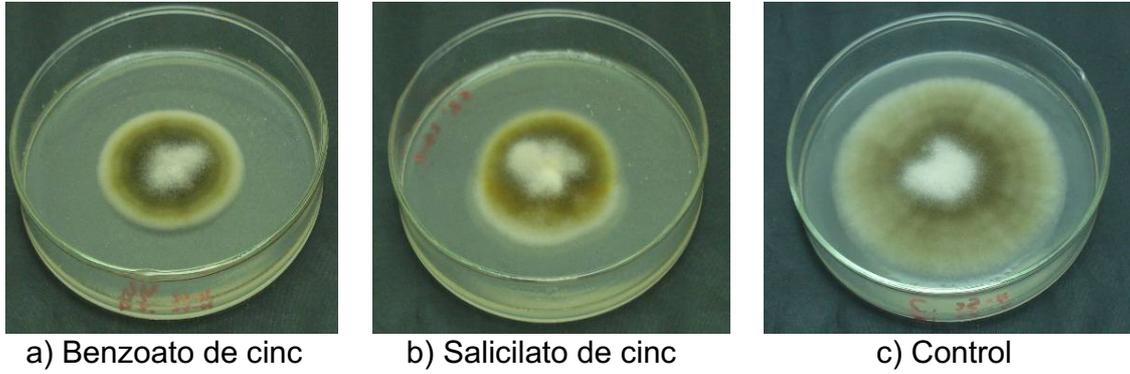


Figura 5. Ensayos de biorresistencia luego de la cuarta semana  
a) *Chaetomium globosum*, b) *Alternaria alternata*.

