

## Desarrollo de una pintura al látex con propiedades bactericidas

Pinto, M. <sup>(1)</sup>; Vorobey, A. <sup>(1)</sup>; Moina, C. <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>INTI-Procesos Superficiales

### Introducción

El desarrollo de pinturas para usos en ambientes donde la actividad bacteriostática es imprescindible, representa un desafío para la industria de la pintura. Por ejemplo en ambientes hospitalarios, el objetivo es que toda superficie pintada actúe como barrera para la formación de colonias de bacterias. Estas pinturas deben presentar un alto poder bactericida, toxicidad muy baja o nula para el ser humano y un bajo impacto ambiental. Asimismo deben mantener un costo razonable, dentro del rango de las pinturas industriales.

Se han seguido diversas estrategias para alcanzar los objetivos descriptos. Por ejemplo se han desarrollado agentes bacteriostáticos modificados para ser incluidos en la red del polímero. Esta aproximación al problema presenta varios inconvenientes. Por una parte es difícil formular antibacterianos de amplio espectro compatibles con un proceso industrial como es la fabricación de una pintura. Además estos agentes tienden a degradarse rápidamente limitando severamente la vida útil del producto. Otra estrategia ha sido la utilización de sales de metales como la plata encapsulados en arcillas naturales tipo zeolitas (ver por ej. [1]). En este caso se deben procesar las arcillas para compatibilizarlas con los componentes de la pintura.

En los últimos años se ha experimentado con éxito el uso de nanopartículas (NP) de  $\text{TiO}_2$  para la antibiosis de amplio espectro [2-4]. En particular, sistemas combinados de NP  $\text{TiO}_2/\text{M}^+$  ( $\text{M} = \text{Cu}, \text{Au}, \text{Ag}$ ) se han usado como cargas con propiedades bacteriostáticas en plásticos, recubrimientos vidriados, fibras y material de uso médico [5-7] y existen numerosas patentes para este tipo de compuestos (ver por ej. [8-9]). En estos sistemas compuestos el metal monovalente juega un papel fundamental al reaccionar con determinados aminoácidos esenciales de las bacterias. Sin embargo, las NP de  $\text{TiO}_2 < 100 \text{ nm}$  ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) son extremadamente reactivas comprometiendo la vida útil de los polímeros y al no dispersar la luz, carecen de opacidad.

En el presente trabajo se presenta el desarrollo de un látex con características bactericidas fabricado totalmente a partir de insumos industriales. La idea central del desarrollo es la modificación superficial del pigmento de  $\text{TiO}_2$  o las cargas inorgánicas mediante NP metálicas el cual, al ser incorporado a una pintura, le otorga a la misma, propiedades bactericidas permanentes.

### Metodología / Descripción Experimental

En el presente desarrollo se modificaron superficialmente cargas y/o pigmentos inorgánicos comerciales con partículas metálicas de capacidad bactericida [10].

Luego del proceso de deposición la superficie de las partículas de carga y/ o pigmento quedan recubiertas por núcleos o partículas discretas de metal y/o sal de metal bactericidas. El tamaño de los núcleos o partículas está en el rango 50 – 300 nm ( $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ m}$ ).

Se preparó pintura tipo látex con pigmentos y/o cargas comerciales modificadas utilizando una formulación correspondiente a un látex con 18 % de resina y 8 % de dióxido de titanio peso en peso. La preparación se realizó en una dispersora de alta velocidad (HSD) marca VORTEX.

Una vez formado el gel con el agua amoniacal y el espesante celulósico, se incorporó el humectante, el dispersante y el antiespumante, agitando hasta controlar el aspecto físico (molienda). Se agregó el dióxido de titanio dispersando esta pasta hasta una cuña entre 5  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$  y luego se agregó agua dispersando durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se incorporaron las cargas modificadas, la emulsión y agua para estabilizar. Finalmente, se adicionaron los cosolventes, fungicida y agua para ajuste de constantes.

Se fabricó otra pintura tipo látex siguiendo el procedimiento anterior pero utilizando dióxido de titanio modificado.

Las pinturas se caracterizaron siguiendo los lineamientos de la norma IRAM 1070.

Se tomaron los espectros infrarrojos del dióxido de titanio grado comercial y grado analítico mediante la técnica de reflectancia difusa, empleando para ello un espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier marca Nicolet, modelo Magna 550 Series II.

Se identificó cualitativamente la presencia metálicas sobre la superficie del dióxido de titanio modificado por fluorescencia de Rayos X, empleando para ello un equipo marca FISCHERSCOPE de Rayos X, modelo XUVM.

Se obtuvieron imágenes topográficas del dióxido de titanio grado comercial, grado analítico y del modificado con nanopartículas metálicas mediante el empleo de un microscopio de fuerza atómica marca SIS, modelo UltraObjective, en modo contacto intermitente (tapping mode).

Se determinó la inhibición del desarrollo de microorganismos testigos, por difusión del principio activo en medio sólido. Se tomaron los siguientes microorganismos como testigos para evaluar la actividad inhibitoria de las pinturas: *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (CCM-29-305).

Se determinó si las pinturas con pigmento/ cargas modificados con nanopartículas metálicas producen la pérdida de la viabilidad de microorganismos depositados sobre las piezas pintadas. Se tomaron como testigos los mismos microorganismos que para evaluar la actividad inhibitoria de las pinturas.

## Resultados

### Identificación por espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier

Los pigmentos de dióxido de titanio grado comercial reciben tratamientos superficiales de deposición de capas de átomos de bajo espesor, sobre pigmentos crudos, en suspensión acuosa. Generalmente se trata de oxihidratos de aluminio y/o silicio acompañados de zirconio, estaño, cinc, cerio, boro, etc. Luego de este tratamiento inorgánico se aplican tratamientos orgánicos para mejorar la dispersabilidad, utilizando polioles y alcanolaminas, y algunos dispersantes.

Se tomaron espectros de dióxido de titanio grado analítico y grado comercial para detectar las diferentes estructuras. (Fig.1). Del análisis de ambos espectros se puede observar que en el caso del pigmento grado comercial existen bandas a 1564 nm, 1462

nm y 1410 nm correspondientes a poliacrilatos utilizados como dispersantes.

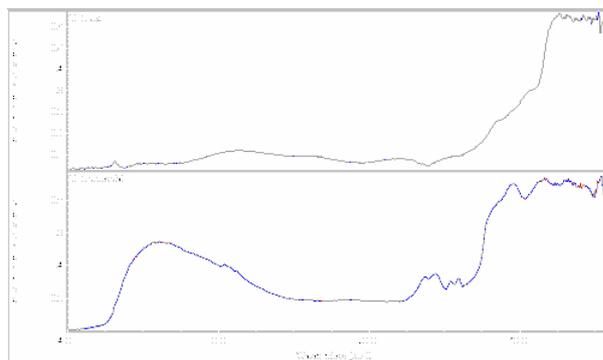


Fig. 1. Espectros de dióxido de titanio grado comercial y grado analítico (p.a.)

### Identificación cualitativa metálicas por fluorescencia de Rayos X

Para verificar la presencia metálicas sobre la superficie de ambos dióxidos de titanio (grado comercial y analítico), luego de su modificación con la solución acuosa de nitrato metálicas al 2 % P/V, se midió por la técnica de fluorescencia de rayos X, detectándose la presencia de este metal en el producto obtenido.

### Imágenes topográficas de dióxido de titanio

Se obtuvieron imágenes topográficas de dióxido de titanio grado analítico, Fig. 2, dióxido de titanio comercial, Fig. 3, y dióxido de titanio modificado con nanopartículas metálicas, Fig. 4. Comparando las tres figuras se pueden observar las diferentes morfologías de los tres pigmentos, el dióxido de titanio grado analítico muestra las partículas individuales, el dióxido de titanio grado comercial muestra aglomerados de partículas y el dióxido de titanio modificado permite observar las partículas metálicas depositadas sobre la superficie del pigmento.

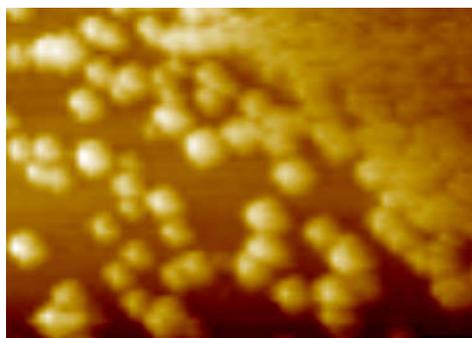


Fig. 2. Imagen de AFM topográfica de dióxido de titanio grado analítico

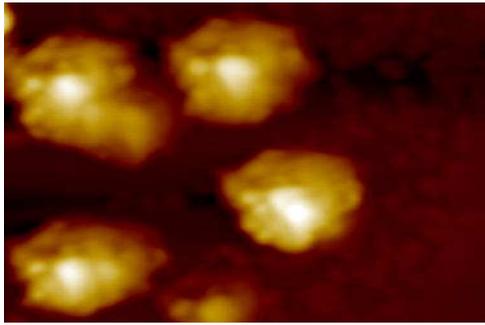


Fig. 3. Imagen de AFM topográfica de dióxido de titanio grado comercial

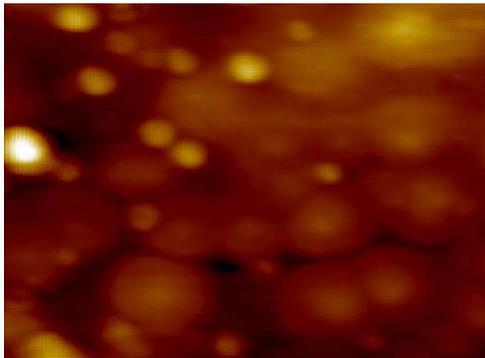


Fig. 4. Imagen de AFM topográfica de dióxido de titanio modificado con nanopartículas metálicas.

#### Determinación de la actividad inhibitoria de las pinturas con y sin TiO<sub>2</sub> modificado sobre cultivos microbianos.

A partir de cultivos puros de 24 horas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (CCM-29-305). se prepararon suspensiones equivalentes a la turbidez del tubo 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente  $10^8$  cel/ml), en caldo Luria-Bertani (LB).

Se hisoparon placas conteniendo 20 ml de LB agar con las suspensiones preparadas, de manera de obtener crecimiento confluyente de las colonias.

Luego de permitir la absorción total del inóculo aplicado (aprox. 5 minutos), se colocaron, con pinza estéril, fragmentos de aproximadamente 1,5 cm x 1 cm del soporte conteniendo ambas pinturas (con y sin tratamiento).

Las placas fueron incubadas a 37 °C, durante 24 horas.

La pintura con el pigmento modificado demostró poseer actividad inhibitoria sobre el desarrollo de ambos microorganismos, no existiendo actividad inhibitoria en las pinturas con pigmento sin modificar, Fig. 5.

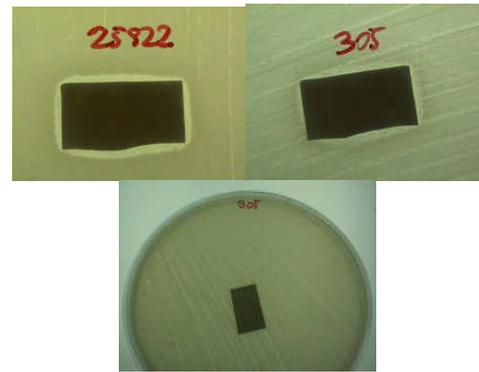


Fig. 5: Izquierda: pintura con pigmento modificado frente a *E. coli* ATCC 25922; derecha: pintura con pigmento modificado frente a *S. aureus* 305 (ATCC 6538P); Centro abajo: control de pintura sin modificar frente a *S. aureus*.

#### Determinación de la actividad bactericida de pinturas con pigmento modificado sobre cultivos bacterianos en crecimiento.

A partir de cultivos puros de 24 horas de los mismos microorganismos utilizados para la determinación de la actividad inhibitoria, se prepararon suspensiones equivalentes a la turbidez del tubo 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente  $10^8$  cel/ml), en solución fisiológica estéril.

Se gotearon 10  $\mu$ l de las suspensiones sobre las piezas pintadas con ambas pinturas, dejando absorber completamente (aprox. 2 minutos).

A distintos tiempos, arbitrariamente fijados en 0, 1, 5, y 24 horas, se tomaron las piezas inoculadas y se resuspendieron en 2 ml de solución fisiológica, utilizando agitación vigorosa (vortex).

Para cada tiempo, se realizó un recuento de microorganismos viables, por duplicado: se prepararon diluciones seriadas al 1/10, y de cada dilución se inocularon 100  $\mu$ l sobre placas conteniendo LB agar, utilizando espátulas de Drigalsky para esparcir el inóculo.

Luego de permitir la absorción total del inóculo aplicado (aprox. 5 minutos), se incubaron las placas a 37°C, durante 24 horas.

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos, tomando los siguientes parámetros: el porcentaje de recuperación indica la fracción de los microorganismos que pueden ser recuperados a cada tiempo desde las placas conteniendo la pintura sin modificar, que debe ser tenido en cuenta para evaluar cuál es el "efecto real" de la pintura modificada; el porcentaje de actividad bactericida señala el efecto directo o real de esta última pintura.

El porcentaje de recuperación fue calculado en relación al tiempo inicial ( $t_0$ ), mientras que el porcentaje de actividad bactericida fue determinado a partir del porcentaje de células recuperadas (% recuperación).

**Tabla 1:** Efecto bactericida de pinturas con pigmento modificado con nanopartículas metálicas sobre cultivos de microorganismos testigos

Tiempo (hs)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	
	% recupero (control)	% actividad bactericida	% recupero (control)	% actividad bactericida
0*	100	0	100	0
1	77	99.3	0.97	> 99.99
5	1.2	≥ 99.8	ND	ND
24	ND	ND	ND	ND

\*Inóculos iniciales ( $t_0$ ): *E. coli*:  $1.8 \times 10^6$  UFC/ml; *S. aureus*:  $3.6 \times 10^4$  UFC/ml.  
ND: no determinado

### Conclusiones

Se preparó una pintura tipo látex interior empleando como pigmento dióxido de titanio modificado superficialmente con nanopartículas bactericidas y se analizó por varios métodos, obteniéndose las siguientes conclusiones:

- A través del análisis cualitativo del pigmento por fluorescencia de Rayos X con equipo XUVM se observó que es posible obtener dióxido de titanio modificado superficialmente con nanopartículas metálicas.
- Por espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier se pudo detectar la presencia de compuestos orgánicos depositados sobre dióxido de titanio grado comercial
- De las imágenes topográficas obtenidas por microscopia de fuerza atómica se observó la deposición de las partículas metálicas sobre las capas de los compuestos orgánicos presentes en el dióxido de titanio grado comercial utilizado como materia prima en la fabricación de pinturas.
- La pintura formulada con dióxido de titanio modificado superficialmente con nanopartículas metálicas demostró poseer actividad inhibitoria sobre el desarrollo de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (CCM-29-305), mientras que la pintura con dióxido de titanio

tradicional no presentó dicha actividad.

- La pintura formulada con dióxido de titanio modificado presentó mayor actividad bactericida al *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (CCM-29-305) que a la *Escherichia coli* ATCC 25922, luego de una hora de su inoculación.

### Referencias

- [1] European Patent Application EP 0 116 865 (1984).
- [2] R. Wang, K. Kashimoto, A. Fujishima, et al; *Nature* **388** (1997) 431.
- [3] A. Hagfeldt, M. Gratzel; *Chem. Rev.* **95** (1995) 49.
- [4] A.J. Williams, C.M. Pin; *Environ. Sci. Tech.* **32** (1998) 2650.
- [5] A. Oloffs et al; *Biomaterials* **15** (1994) 753.
- [6] M. Kawashita, S. Tsuneyama et al; *Biomaterials* **21** (2000) 393.
- [7] Q. Cheng, Ch. Li et al; *Appl. Surf. Sci.* (2005).
- [8] European Patent Application EP 0 251 783 A2 (1987).
- [9] Patente USA WO2006061367 y sus antecedentes.
- [10] M. Pinto, A. Vorobey, C.A. Moina; Patente en trámite.

Para mayor información contactarse con:  
Mónica Pinto- mopinto@inti.gov.ar