

TRATAMIENTOS SUPERFICIALES CON POTENCIAL APLICACIÓN EN CONSTRUCCIONES DE HORMIGÓN DE IMPORTANCIA PATRIMONIAL

María Verónica Correa¹, Silvia Elena Rastelli², Anahí López³, Vilma Gabriela Rosato¹,
Sandra Gabriela Gómez de Saravia⁴

¹ Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (CICPBA),
Calle 52 S/N entre 121 y 122, La Plata, Argentina, mavecorrea@hotmail.com

² Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CICPBA- CONICET-UNLP),
FCNyM-UNLP, Calle 52 S/N entre 121 y 122, La Plata, Argentina,
e.rastelli@cidepint.ing.unlp.edu.ar

³ Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (CICPBA),
Calle 52 S/N entre 121 y 122, La Plata, Argentina, colores@lemit.gov.ar

⁴ Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CICPBA- CONICET-UNLP),
FCNyM-UNLP, Calle 52 S/N entre 121 y 122, La Plata, s.gomez@cidepint.ing.unlp.edu.ar

RESUMEN

Las microalgas pueden formar biopelículas sobre diferente tipo de construcciones, afectándolas estéticamente al provocar su deterioro superficial. En este trabajo se evaluó el efecto alguicida de diferentes tratamientos superficiales para prevenir la formación de biopelículas fototróficas. Las superficies fueron tratadas utilizando solución de base acuosa sólo con tensioactivos (papeta) y adicionada con timol al 1 % y al 2 %. El efecto alguicida se evaluó sobre papel de filtro y probetas de hormigón. Las muestras se rociaron con una suspensión de $\approx 4 \cdot 10^6$ algas mL⁻¹. Posteriormente, fueron incubadas bajo condiciones controladas de fotoperíodo y temperatura (16:8 h de luz:oscuridad, 25 °C) durante 28 días. Todos los tratamientos empleados inhibieron el crecimiento algal tanto en los ensayos de papel de filtro como en las probetas de hormigón. Los tratamientos con timol fueron los más eficientes. Estos tratamientos superficiales serían potencialmente útiles para realizar limpiezas que impidan la formación de biopelículas fototróficas sobre edificaciones históricas.

Palabras claves: hormigón, tratamiento superficial, timol, biopelículas fototróficas.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las construcciones del patrimonio arquitectónico está en riesgo, no sólo por los daños causados por el paso del tiempo y la exposición a distintas condiciones ambientales, sino también por las alteraciones producidas por la colonización microbiana (bacterias heterótrofas, cianobacterias, algas y hongos) sobre la superficie.

Los microorganismos se consideran agentes potenciales del biodeterioro [1] del patrimonio cultural, ya que sobre las paredes de muchos monumentos y obras de arte desarrollan biopelículas, que se definen como comunidades estructuradas de microorganismos protegidos por una matriz de exopolisacáridos [2, 3]. La colonización de las paredes por microorganismos se puede observar incluso poco tiempo después de

finalizada la construcción de un edificio [4]. La estética de la fachada suele verse alterada por la aparición de manchas de diferentes colores (verdes, rojas o negras), y el impacto visual generado por el cambio de color está relacionado a la cercanía de la observación realizada en la inspección visual [5]. Las observaciones microscópicas han demostrado que estas manchas antiestéticas están vinculadas principalmente con el desarrollo de microalgas en la superficie [6]. Por lo tanto, la limpieza es un importante recurso para la conservación de edificios y estructuras de piedra. Tradicionalmente, el control del biodeterioro se basa en la aplicación de productos químicos (biocidas). Sin embargo, estos productos tienen limitaciones debido a sus impactos negativos en el medio ambiente, salud humana y sustratos tratados. Aunque bien establecida en ciencias agrícolas, la búsqueda de alternativas ecológicas, como el uso de productos naturales de origen vegetal, en el área del biodeterioro de materiales aún es escasa [7]. Por este motivo, en este trabajo se utilizó timol, un compuesto fenólico que puede encontrarse en aceites esenciales aislados de hierbas y especias y que exhibe propiedades antibacterianas y antifúngicas [8-10].

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayos biológicos

Las muestras de las comunidades microalgales fueron obtenidas de biopelículas de un monumento de importancia patrimonial ubicado en el cementerio municipal de la Ciudad de La Plata, Prov. de Buenos Aires (Figuras 1 A y B). Se colectaron 4 muestras de biopelículas con la ayuda de bisturíes estériles, raspando suavemente la superficie (Figura 1 C) [11]. Las muestras se colocaron en cajas de Petri estériles y fueron selladas con papel parafilm para su transporte al laboratorio. Cada muestra se sembró en un frasco con 50 mL de medio BG-11 líquido [12] (Figura 1 D) y se incubaron a $25\pm 1^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 16:8 h (luz:oscuridad), hasta que se observó crecimiento (Figura 1 E).

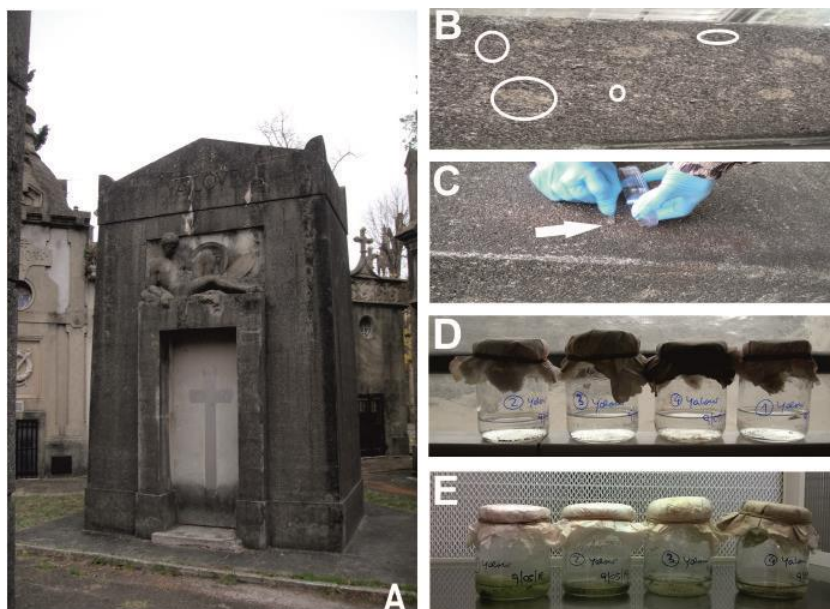


Figura 1: Recolección de biopelícula. A: Monumento seleccionado. B: Paredes del monumento donde se aprecia el cambio de coloración de la superficie (círculos). C: Toma de muestra mediante raspado. D: Siembra de muestras en medio BG11 líquido. E: Crecimiento algal luego de 28 días de incubación.

Tratamientos superficiales

Las superficies fueron tratadas utilizando “papeta” (solución de base acuosa compuesta por bicarbonato de amonio 0,38 M; bicarbonato de sodio 0,6 M; EDTA sal bisódica 0,085 M; 20-PolioxietilensorbitanoMonolauratoPolisorbato, 1 % y carboximetilcelulosa 6 % disueltos en agua destilada) [13] sólo con tensioactivos (PS) y adicionada con timol al 1 % (T1%) y al 2 % (T2%). En trabajos previos hemos observado la eficiencia de la “papeta” como método de limpieza [14]. El timol* se encuentra entre los compuestos incluidos como aditivos alimentarios para el consumo humano aceptado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA). Se lo considera como parte de las sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS). La Oficina de Programas de Plaguicidas de EE. UU. establece que el timol tiene una toxicidad potencial mínima y presenta un riesgo mínimo, ya que se encuentra clasificado como Grado III. Esta decisión se basó en los resultados de estudios de laboratorio en animales que indican la baja toxicidad del timol, la presencia de timol en la dieta humana normal, en otros productos de consumo no pesticidas y en la extensa historia de uso de timol sin efectos adversos conocidos para la salud humana o el medio ambiente, lo posiciona como un compuesto seguro para el tratamiento y la prevención del biodeterioro de materiales [15-17].

El efecto alguicida de la “papeta” sola y con timol se evaluó sobre cuadrados de papel de filtro (2,5 cm de lado) y probetas cilíndricas de hormigón producto de desecho (5 cm de diámetro y 5,5 cm de alto). El acondicionamiento de la superficie consistió en la aplicación, con pincel, de tres capas del tratamiento a evaluar sobre el papel de filtro y sobre las probetas de hormigón, una en sentido vertical, una en sentido horizontal y otra en sentido oblicuo, dejando secar entre cada aplicación. Las muestras así tratadas se dejaron secar durante 7 días, se esterilizaron con luz UV (30 min) y posteriormente, se inocularon en forma de rociado con una solución de la comunidad de algas en una concentración de $\approx 4 \cdot 10^6$ algas mL⁻¹. Se colocaron tres papeles de filtro por cada tratamiento en cápsulas de Petri con agar BG11 [12]. Las probetas de hormigón se colocaron en frascos de vidrio y se cerraron con papel film. Todos los tratamientos fueron realizados por duplicado, un set de muestras sin tratamiento fue utilizado como control del crecimiento algal. Todas las muestras se incubaron bajo condiciones controladas de fotoperíodo y temperatura (16:8 h de luz:oscuridad, 25±1 °C) durante 28 días, registrándose semanalmente resultados parciales de los ensayos. Las muestras se observaron bajo microscopio óptico (MO) (Olympus BX51), microscopio electrónico de barrido (MEB) y barrido ambiental (MEBA) (FEI Quanta 200).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Tratamiento superficial en el papel

Inicialmente, se probó el efecto de los tratamientos sobre el papel de filtro. En las muestras control de papel se observó crecimiento de la comunidad algal en un 100 % de la superficie inoculada (Figuras 2 A y B). Las muestras cuya superficies fueron tratadas con PS mostraron pequeños focos de crecimiento algal (Figuras 2 C y D). Las muestras cuyas superficies fueron tratadas con T1% y T2% mostraron una muy marcada inhibición del crecimiento algal (Figuras 2 E-H).

* En nuestro país no se encuentra incluido en libro sobre *Químicos prohibidos y restringidos en Argentina*, editado por el Ministerio de Salud de la Nación, 2013. ISBN 978-950-38-0159-8.

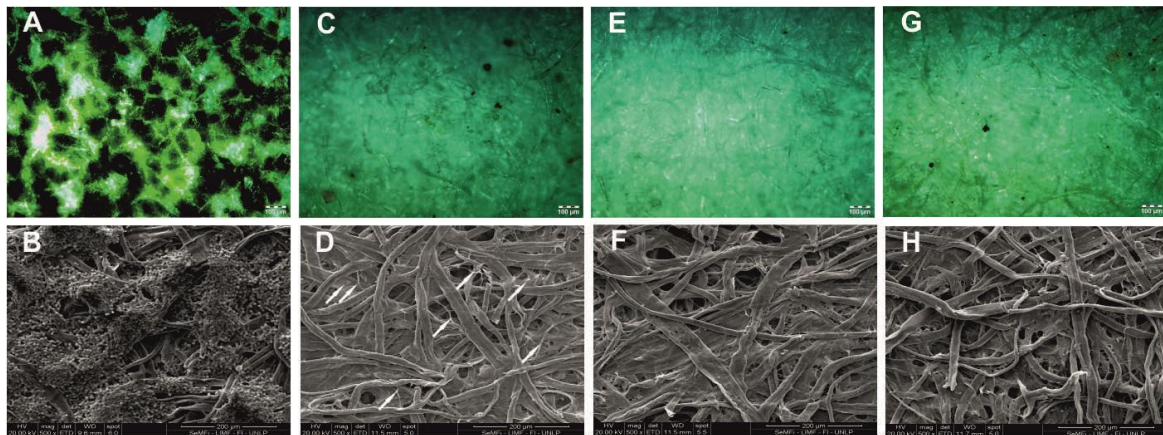


Figura 2: Fotomicrografías de los tratamientos superficiales en papel. A: Superficie de papel sin tratamiento que muestra estar totalmente colonizada por algas (MO), al igual que en B (MEB). C: Superficie de papel tratada con PS, muestra pequeños focos de colonización algal (MO) al igual que en D (flechas blancas, MEB). E: Superficie tratada con T1%, se observa inhibición del crecimiento (MO) al igual que en F (MEB). G: Superficie tratadas con T2% se observa inhibición del crecimiento (MO) al igual que en H (MEB).

Tratamiento superficial en el hormigón

En la Figura 3 se muestran las superficies de las probetas de hormigón observadas en el MEBA. En las probetas cuyas superficies no recibieron ningún tratamiento se observó el crecimiento de la comunidad algal inoculada (Figuras 3 A y B). Respecto de lo observado sobre los papeles de filtro, en las probetas cuyas superficies se trataron con PS también se detectó crecimiento algal (Figuras 3 C y D). En cambio, las probetas cuyas superficies fueron tratadas con T1% y T2% mostraron muy marcada inhibición del crecimiento algal (Figuras 3 E-H), indicando una buena efectividad biocida del timol.

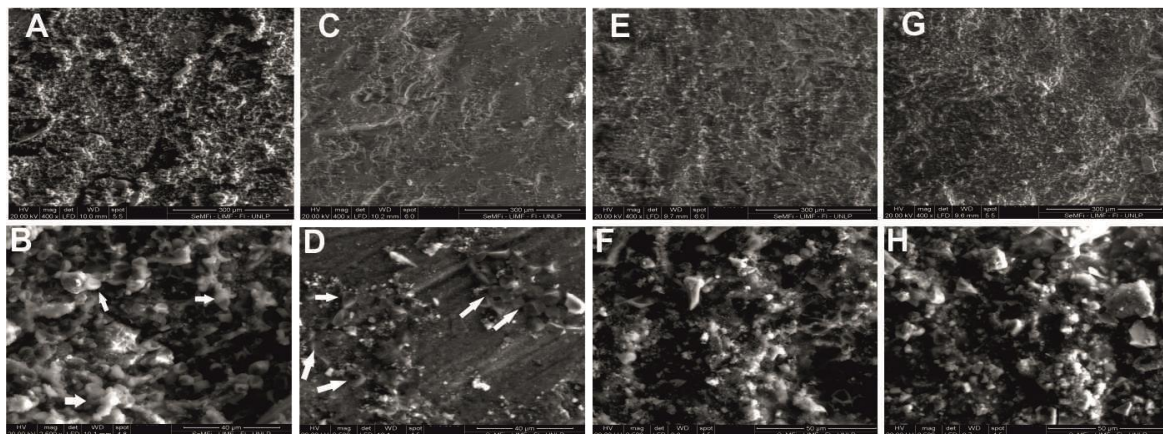


Figura 3: Fotomicrografías de MEBA de los tratamientos superficiales en probetas de hormigón. A: Superficie sin tratar colonizada por algas. B: Detalle de la fotomicrografía A, se observan microorganismos (señalados con flechas blancas). C: Superficie de las probetas tratadas con PS, se observa el crecimiento de microalgas. D: Detalle de la microfotografía C, se destaca la presencia de crecimiento de microalgas señalados con flechas blancas. E: Superficie de las probetas de hormigón tratadas con T1%. F: Detalle de microfotografía E, no se observa crecimiento algal. G: Superficie de las probetas de hormigón tratadas con T2%. H: detalle de la microfotografía G, no se observa crecimiento algal.

La presencia de biopelículas fototróficas es común en materiales de construcción expuestos a condiciones de elevada humedad e iluminación. La porosidad, rugosidad y composición mineral del material, son características que también influyen en la formación de estas biopelículas [18]. La rugosidad aumenta la adherencia, la retención y, por lo tanto, el crecimiento de microorganismos. La porosidad alta promueve la retención de agua después de cualquier forma de humidificación. Finalmente, la composición mineral del material de la superficie juega un papel importante en la bioreceptividad, ya que puede favorecer la colonización, proporcionando una fuente de nutrientes (calcita y sílice componentes del sustrato cementíceo), evitando la colonización debido, por ejemplo, a su alto valor de pH (pH de materiales cementíceos antes de su carbonatación) o a la presencia de iones metálicos [19, 20]. El tratamiento de las superficies de hormigón con la papeta adicionada con timol 1 % logró inhibir completamente el crecimiento de la biopelícula fototrófica. La actividad biocida del timol es atribuida principalmente a la acción de su estructura fenólica. Este compuesto actúa sobre la membrana citoplasmática produciendo su desorganización estructural, lo que conduce a una falla en la permeabilidad celular [21]. Las sustancias utilizadas durante mucho tiempo como antisépticos naturales, como los aceites esenciales o los derivados de plantas, tienen un poder de conservación natural para los alimentos y se utilizan también en el campo del tratamiento y prevención del biodeterioro, sus dosis de aplicación son más seguras en comparación con muchos biocidas químicos tradicionales [22, 23]. Uno de los componentes de estos aceites esenciales derivados de plantas es el timol que forma parte naturalmente de frutas cítricas y hierbas usadas como condimentos, también se encuentra entre los compuestos incluidos como aditivos alimentarios para el consumo humano [24-26]. Recientemente, Bruno et al. [27] evaluaron la eficacia de dos aceites esenciales de diferentes herbáceas que contienen timol, que fueron utilizados para inhibir el desarrollo en tres cepas de microorganismos que comúnmente forman biopelículas.

CONCLUSIONES

Los tratamientos superficiales propuestos, la solución de base acuosa con tensioactivos solamente o adicionada con timol al 1 % o con timol al 2 %, cumplen con uno de los principios de la intervención en la conservación del patrimonio que es la reversibilidad, ya que todos sus componentes son solubles en agua y por ende fácilmente removibles. Los resultados demostraron que los tratamientos que tuvieron timol (1 % y 2 %) fueron más eficientes para inhibir el desarrollo de las biopelículas fotosintéticas sobre las superficies tratadas que la solución de base acuosa con tensioactivos.

En virtud de los resultados obtenidos, estos tratamientos serían de gran utilidad para prevenir la formación de biopelículas fotosintéticas en edificios de importancia arquitectónica o patrimonial fabricados con hormigón, independientemente de las propiedades de dicho material.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de la Plata (Proyecto de Incentivos 11/201) y CONICET (PUE 2018) por los subsidios recibidos para financiar las investigaciones.

REFERENCIAS

- [1] Galindo-Alcázar O, Medina-Jaritz NB, Garduño-Solórzano G, Olvera-Ramírez R, "Cyanobacteria and microalgae from surface biofilm from Malinalco, Mexico, an archaeological site", *Polibotánica*, Vol. 45, (2018), 131-146.
- [2] Gorbushina AA, "Life on the rocks", *Environmental Microbiology*, Vol. 9, (2007), 1613-1631.

- [3] Guiamet P, Battistoni P, Gómez de Saravia S, "Biodeterioro, ¿dónde estás?", Desde la Patagonia difundiendo saberes, Vol. 5, (2008), 34-38.
- [4] Wee YC, Lee KB, "Proliferation of algae on surfaces of buildings in Singapore", International Biodeterioration Bulletin, Vol.16, (1980), 113-117.
- [5] López A, "Patrimonio moderno: Evaluación de los aspectos estéticos que modifican la apariencia del hormigón", Jornada de Técnicas de Reparación y Conservación del Patrimonio, Vol. 11, (2013), 20-29.
- [6] Gaylarde CC, Gaylarde PM, "A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America", International Biodeterioration and Biodegradation, Vol. 55, N°2, (2005), 131-139.
- [7] Salvadori, O, "The control of biodeterioration", Coalition, Vol. 6, (2003), 16-20.
- [8] Bollmann U, Vollertsen J, Carmeliet J, Bester K, "Dynamics of biocide emissions from buildings in a suburban stormwater catchment—concentrations, mass loads and emission processes", Water Research, Vol. 56, (2014), 66-76.
- [9] Veneranda M, Blanco-Zubiaguirre L, Roselli G, Di Girolami G, Castro K, Madariaga JM, "Evaluating the exploitability of several essential oils constituents as a novel biological treatment against cultural heritage biocolonization", Microchemical Journal, Vol. 138, (2018), 1-6.
- [10] Gómez de Saravia, SG, Rastelli SE, Viera MR, "Natural compounds as potential algacides for waterborne paints", Journal of Coating Technologies, Vol. 15, (2018), 1191-1200.
- [11] Rindi F, Guiry L, "Diversity, life history, and ecology of Trentepohlia and rinzina (Trentepohliales, chlorophyta) in urban habitats in Western Ireland", Journal Phycology, Vol. 38, (2002), 39-54.
- [12] Bischoff HW, Bold HC, "Some soil algae from enchanted rock and related algal species", University of Texas, Austin, Texas, E.E.U.U., (1963), 268 p.
- [13] Mora P, Mora L, "Metodo per la rimozione di incrostazioni su pietrecalcaree e dipintimurali", in Problemi di Conservazione Urbani, ed. Compositori, Bologna, Italia, (1974), 339-344.
- [14] Rosato VG, Gómez de Saravia SG, Rastelli SE, Lofeudo R, "Estudio de la Pátina Biológica en el Mausoleo Yalour, Cementerio de La Plata", Memorias V Congreso Iberoamericano y XIII Jornada Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio, (2017), 284-293.
- [15] United States Environmental Protection Agency, <https://www.epa.gov/pesticides> (Consultada el 10 de junio de 2020).
- [16] Kachur K, Suntres Z, "The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Vol. 59, (2019), 1-12.
- [17] Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Lorenzo AD, Nabavi SF, Gortzi O, Izadi M, Nabavi SM, "Antibacterial and antifungal activities of thymol: a brief review of the literature", Food Chemistry, Vol. 210, (2016), 402-414.
- [18] Tran TH, Govin A, Guyonnet R, Grosseau P, Lors C, Damidot D, Deves O, Ruot B, "Influence of the intrinsic characteristics of mortars on their biofouling by pigmented organisms: comparison between laboratory and field-scale experiments", International Biodeterioration and Biodegradation, Vol. 86, (2014), 334-342.
- [19] Ribas Silva M, "L'aide du programme Minéraux à l'étude de la biodétérioration du béton", First International RILEM Workshop on Microbial Impact on Building Materials, São Paulo, (2000), RILEM Publications SARL, Paris, 6p.
- [20] Wessel D, "Case study: field observations on the effectiveness of zinc strips". En: Charola AE, McNamara C, Koestler RJ (Eds.), "Biocolonization of stone: control and preventive methods: Proceedings from the MCI Workshop Series", Vol. 2, Smithsonian Institution Scholarly Press, Washington, DC, (2011), 109-112.
- [21] Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C, Saija A, Mazzanti G, Bisignano G, "Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes", Antimicrobial Agents Chemotherapy, Vol. 49, (2005), 2474-2478.
- [22] Donsì F, Ferrari G, "Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food", Journal of Biotechnology, Vol. 233, (2016), 106-120.
- [23] Fidanza MR, Caneva G, "Natural biocides for the conservation of stone cultural heritage: a review", Journal of Cultural Heritage, Vol. 38, (2019), 271-286.
- [24] Hudaib M, Speroni E, Di Pietra AM, Cavrini V, "GC/MS evaluation of thyme (L.) oil composition and variations during the vegetative cycle", Journal of Pharmacology and Biomedical Analysis, Vol. 29, (2002), 691-700.
- [25] Santos IC, Simoes MM, Pereira MM, Martin RR, Neves MG, Silvestre AJ, Cavaleiro JA, Cavaleiro AM, "Oxidation of monoterpenes with hydrogen peroxide catalysed by Keggin type tungstoborates", Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, Vol. 195, (2003), 253-262.

- [26] Naghdi Badi H, Abdollahi M, Mehrafarin A, Ghorbanpour M, Tolyat M, Qaderi A, "An overview on two valuable natural and bioactive compounds, thymol and carvacrol, in medicinal plants, *Journal of Medicinal Plants*, Vol. 16, N° 63, (2017), 1-32.
- [27] Bruno L, Rugnini L, Spizzichino V, Caneve L, Canini A, Ellwood NT, "Biodeterioration of Roman hypogea: the case study of the Catacombs of SS. Marcellino and Pietro (Rome, Italy)", *Annals of. Microbiology*, Vol.69, (2019), 1023-1032.

