

## Inactivación de *Aspergillus niger* utilizando pinturas fotocatalíticas irradiadas con luz visible

Rocío Schumacher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL), Ruta Nacional 168, Paraje "El Pozo", Santa Fe, Argentina.

Área y sub-área: Ingeniería. Ambiental.

### INTRODUCCIÓN

La calidad del aire en ambientes interiores juega un papel muy importante sobre la salud y condiciones de vida humana debido a que estos ambientes son los más frecuentados por las personas y un lugar propicio para el desarrollo de diversos microorganismos. Entre las problemáticas más importantes se encuentra la exposición a mohos ambientales, ligada al desarrollo de asma y alergias, entre otras enfermedades respiratorias, volviéndose crítico en hospitales y clínicas donde se encuentran en tratamiento personas de alto riesgo. Una de las tecnologías emergentes para el tratamiento biológico de la contaminación aérea en ambientes interiores es la fotocatalisis heterogénea. Esta técnica emplea dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) como catalizador (Muranyi y col., 2010), el cual es activado con radiación ultravioleta para llevar a cabo reacciones de óxido-reducción que actúen sobre la superficie del hongo logrando la inactivación del mismo. Sin embargo, en los últimos tiempos se han investigado nuevos fotocatalizadores de TiO<sub>2</sub> modificado que pueden utilizar luz visible como activadora, extendiéndose de este modo la aplicabilidad de esta tecnología (Ballari y col., 2015).

### OBJETIVOS

En el presente trabajo se propone estudiar la capacidad de inactivación de mohos ambientales mediante la aplicación de una pintura fotocatalítica formuladas con TiO<sub>2</sub> modificado depositada en un soporte y su posterior activación por luz visible.

### METODOLOGÍA

**Pinturas utilizadas:** Se elaboró una pintura fotocatalítica compuesta por agua (30%), TiO<sub>2</sub> Kronos vlp 7000 (18%), CaCO<sub>3</sub> (18%), resina (33%) y dispersante (1%). Además, se analizó una pintura tipo latex "antihongo" disponible comercialmente.

**Microorganismo modelo:** Se utilizó como microorganismo modelo conidios de *Aspergillus niger* (cepa ATCC 16404).

**Inmovilización de las pinturas:** Como soporte, se emplearon placas de vidrio de borosilicato de 2 cm × 2 cm, las cuales fueron recubiertas con dichas pinturas mediante la técnica de "dip-coating" (3 cm min<sup>-1</sup>, 25 °C).

**Dispositivo experimental** (Zacarías y col., 2012): Consta de tres partes (**Figura 1**):

1) Un sistema emisor de radiación visible, el cual está conformado por siete lámparas fluorescentes T5 de 8 W cada una, ubicadas en forma paralela y horizontal.

2) El compartimento de irradiación, el cual está separado del sistema emisor por un vidrio de borosilicato. Dentro de este compartimento se colocó una placa de petri que contiene una sal que regula la humedad relativa

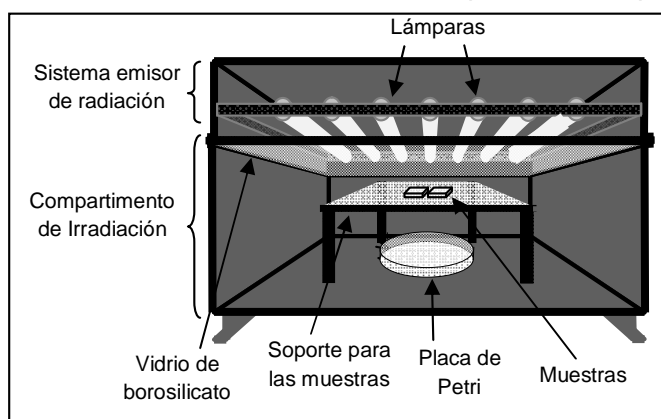


Figura 1. Esquema del dispositivo experimental

dentro del mismo ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

3) Un soporte para colocar las placas fotocatalíticas, que se ubica en la zona central del compartimento de irradiación.

**Irradiación de las muestras:** Sobre las placas recubiertas con la pintura fotocatalítica se depositaron 10  $\mu\text{L}$  de una suspensión de conidios esparcidos en una superficie de 2,25  $\text{cm}^2$ . Luego, las placas se colocaron sobre el soporte del dispositivo experimental. Fueron irradiados durante siete días tomando muestras cada 24 h. La temperatura y humedad relativa dentro del compartimento de irradiación fue aproximadamente constante durante todo el ensayo (30 °C y 50% HR). El mismo procedimiento se realizó para las muestras que se mantuvieron durante siete días sin radiación (en oscuridad a 30 °C y 50% HR).

**Recuento de los conidios viables:** Luego del correspondiente tiempo de irradiación, cada placa fotocatalítica se sumergió en tubos con 10 mL de solución de peptona al 0,1% y se agitaron en vortex durante 5 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo el recuento en placa en superficie con medio Agar Papa Dextrosa (Merck Chemicals), incubando durante 48 horas a 28 °C, con el fin de contar las unidades formadoras de colonias (UFC). Cada muestra fue analizada por duplicado. Las muestras del ensayo en oscuridad se procesaron de la misma forma.

**Ajuste de los datos:** Los resultados experimentales se ajustaron los datos mediante una ecuación de inactivación exponencial considerando una cinética de primer orden:  $N = N_0 \exp(-kt)$ , donde N es la concentración de conidios viables [UFC/mL],  $N_0$  es la concentración inicial de conidios [UFC/mL], t es el tiempo de irradiación [días], y k es la constante aparente de inactivación [ $\text{días}^{-1}$ ].

## RESULTADOS

**Pintura depositada:** La masa de pintura fotocatalítica por unidad de área depositada sobre las placas se determinó por diferencia de pesada de un número significativo de placas. Se obtuvo un promedio de 2,29  $\text{mg}/\text{cm}^2$ .

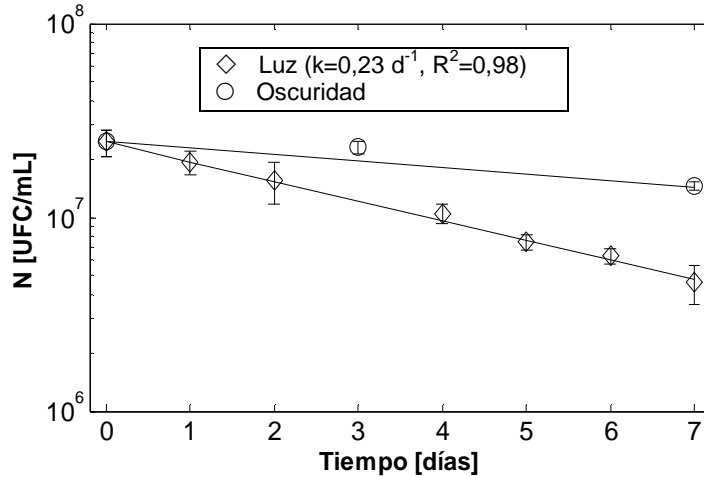
Cuando se utilizó la pintura comercial de interior “antihongo”, la masa por unidad de área obtenida con la misma técnica de recubrimiento fue de 8,5  $\text{mg}/\text{cm}^2$ .

**Flujo de radiación:** Utilizando un radiómetro (ILT 1700, International Light Technologies) equipado con un sensor de radiación visible entre 400-1064 nm (SED033/F/W), se realizaron mediciones del flujo incidente de radiación en diferentes posiciones dentro del compartimento de irradiación. Solo se utilizó para los ensayos experimentales la zona central del compartimento, donde el flujo de radiación medido fue uniforme. Se obtuvo un valor de 6,91  $\text{mW}/\text{cm}^2$ .

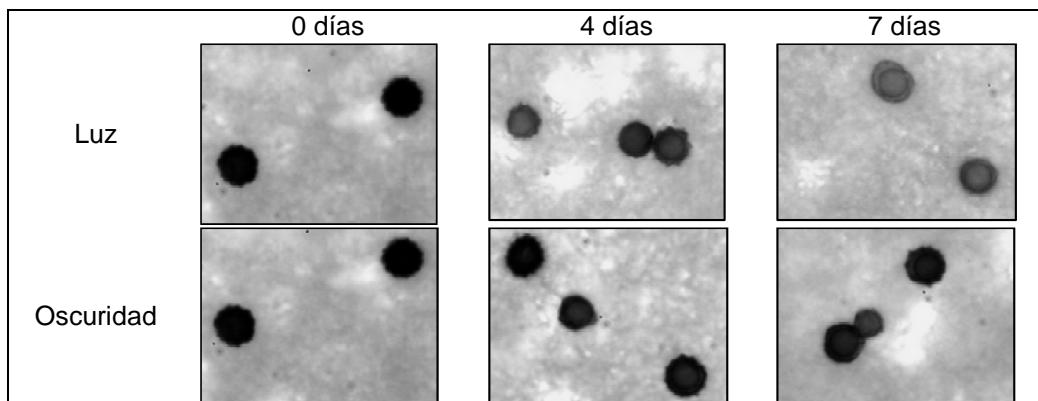
Para los ensayos de inactivación del hongo pero con luz ultravioleta se reemplazaron las lámparas fluorescentes de luz visibles por unas de luz negra de iguales características. Se obtuvo un valor de 1,78  $\text{mW}/\text{cm}^2$  para el flujo de radiación entre 300-400 nm.

**Resultados de inactivación:** Luego de siete días de ensayo, se obtuvo una disminución de más del 80% del contenido de conidios depositados inicialmente en las muestras de pinturas fotocatalíticas irradiadas con luz visible. Se muestran en la **Figura 2** los resultados experimentales y el ajuste obtenido con la ecuación exponencial ( $k=0,23 \text{ d}^{-1}$ ). Las barras de error representan el intervalo de confianza del 99%. Así mismo, se obtuvo un 40% de inactivación de los conidios mantenidos en oscuridad durante el mismo período (**Figura 2**). Estos resultados confirman la capacidad de inactivación de mohos ambientales de las pinturas elaboradas, ya sea por su elevada inactivación fotocatalítica como por su actividad antifúngica en oscuridad. Cabe aclarar que el ajuste con la ecuación exponencial solo se realizó para el ensayo en luz, ya que se desconoce que tipo de cinética de inactivación estaría ocurriendo en oscuridad. Para esta última condición experimental solo se trazó una línea de tendencia en la **Figura 2**.

También se tomaron imágenes de microscopía óptica de los conidios a diferentes tiempos del ensayo (**Figura 3**), donde se puede observar como los conidios van perdiendo su pigmentación característica a medida que aumenta la exposición a la radiación. Se observa además una pérdida en la forma esférica característica de los conidios. En cambio, los conidios sometidos a oscuridad presentan solamente una leve pérdida en su pigmentación.



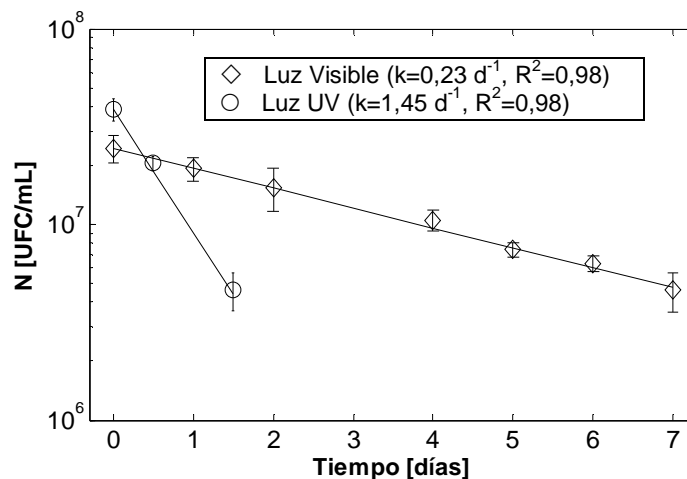
**Figura 2.** Resultados experimentales de la inactivación de los conidios de *A. niger* sobre la pintura fotocatalítica en condiciones de luz visible y oscuridad.



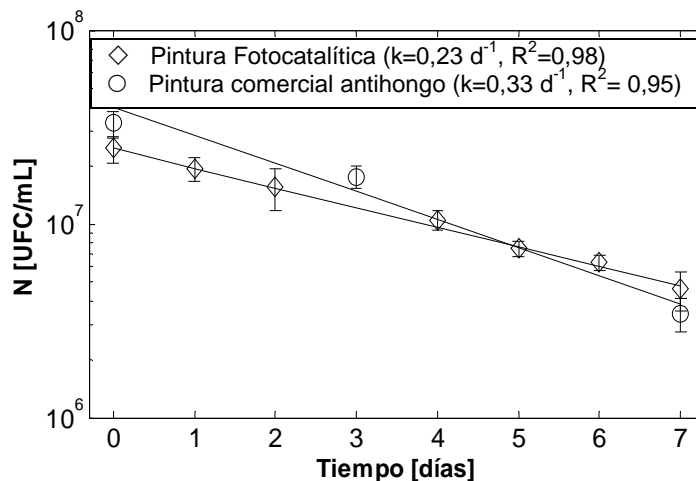
**Figura 3.** Imágenes de microscopía óptica de los conidios bajo luz visible y oscuridad.

Por otro lado, se realizaron ensayos de inactivación del hongo en estudio irradiando el mismo sobre las pinturas fotocatalíticas pero con luz ultravioleta. Se observan en la **Figura 4** una comparación de los resultados experimentales y el ajuste con la ecuación cinética mencionada de los conidios irradiados con luz visible y con luz ultravioleta. Se obtuvo una muy elevada velocidad de inactivación del microorganismo bajo radiación ultravioleta, generando aproximadamente el mismo porcentaje de inactivación que con la pintura irradiada con luz visible en siete días, pero en apenas 1,5 días. La constante cinética estimada es más de seis veces mayor con radiación ultravioleta que con luz visible.

Finalmente, se estudio la actividad antifúngica de una pintura comercial de interiores "antihongo" (**Figura 5**). Se observa que luego de siete días, la velocidad de inactivación es muy similar para ambas pinturas. Aunque se desconocen los componentes químicos por los cuales la pintura comercial tiene actividad antifúngica, la pintura fotocatalítica diseñada y estudiada en este trabajo iguala la inactivación del moho y contiene componentes totalmente inocuos para las personas y los animales.



**Figura 4.** Resultados experimentales de la inactivación de los conidios de *A. niger* sobre la pintura fotocatalítica irradiados con luz visible y luz ultravioleta.



**Figura 5.** Resultados experimentales de la inactivación de los conidios de *A. niger* sobre la pintura fotocatalítica y la pintura comercial "antihongo" irradiados con luz visible.

## CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió la capacidad de inactivación de mohos ambientales, utilizando superficies recubiertas con pinturas formuladas con  $\text{TiO}_2$  modificado e irradiadas con luz visible. Se obtuvo una elevada inactivación del hongo en estudio, comprobando la alta efectividad de la actividad fotocatalítica de la pintura diseñada, así mismo como el efecto fungicida que posee la misma ya que actúa también en condiciones de oscuridad. Este es un resultado muy positivo, ya que la pintura sería efectiva para eliminar contaminantes biológicos tanto en condiciones de luz visible como en oscuridad, sin la necesidad de utilizar radiación de mayor energía como la ultravioleta, ni fungicidas muchas veces tóxicos y nocivos.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Ballari M.M., Carballada J., Minen R., Salvadores F., Brouwers H.J.H., Alfano O.M., Cassano A.E.**, 2015. Visible light  $\text{TiO}_2$  photocatalysts assessment for air decontamination, *Process Saf. Environ. Prot.*, en prensa.
- Muranyi P., Schraml C., Wunderlich J.**, 2010. Antimicrobial efficiency of titanium dioxide-coated surfaces, *J. Appl. Microbiol.*, 108, 1966-1973.
- Zacarias S.M., Satuf M.L., Vaccari M.C., Alfano O.M.**, 2012. Efficiency evaluation of different  $\text{TiO}_2$  coatings on the photocatalytic inactivation of airborne bacterial spores, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51, 13599-13608.