

BIOFILMS SOBRE MATERIALES ESTRUCTURALES. EFECTO EN EL BIODETERIORO Y SU RELACION CON EL AMBIENTE

Patricia S. Guiamet^{1,2}, Juan Martín Fontana^{1,3}, Sandra G. Gómez de Saravia.^{1,3}

¹Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata- CONICET. C.C. 16, Suc.4 (1900), La Plata. Tel: 54-221-4257430, Fax: 54-221-4254642. pguiamet@nifta.unlp.edu.ar ²CONICET. ³CICBA.

INTRODUCCIÓN

El biodeterioro se puede definir como cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material, causado por la actividad vital de los organismos. Los factores que propician el biodeterioro son: humedad, temperatura, nutrientes, pH, oxígeno y luz. Los organismos que intervienen en los procesos de biodeterioro son bacterias, hongos, algas, líquenes, plantas vasculares, insectos, aves, roedores y murciélagos (Hueck, 1965). Los métodos empleados para prevenir el biodeterioro deben considerar la inhibición del crecimiento o de la actividad metabólica de los microorganismos y la modificación de las características del ambiente donde se desarrolla el proceso de deterioro. Los diferentes métodos tienden a eliminar del sustrato todos los elementos adheridos, debiéndose respetar en estas operaciones el aspecto original. Actualmente, existe una marcada tendencia la utilización de productos “amigables con el ambiente”, como extractos obtenidos de plantas, para la prevención del biodeterioro (Guiamet et al., 2006; Gómez de Saravia et al., 2008). El objetivo de este estudio fue analizar el grado de biodeterioro de tres tipos de materiales estructurales (material cementicio, mármol y ladrillo) por la formación de biofilms y su relación con el ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales muestreados fueron: material cementiceo y mármol (cementerio de La Plata) y ladrillo (catedral de La Plata). La toma de muestras se realizó en forma aséptica utilizando técnicas no destructivas (Videla et al., 2000). Todas las muestras fueron tomadas por raspado con bisturí de una superficie de 1 cm² y se colocaron en recipientes estériles. En algunas ocasiones se realizaron muestreos microbiológicos “*in situ*” con la utilización de lámino-cultivos obteniendo una evaluación cuantitativa de la carga microbiana por superficie. En el caso de la catedral de La Plata se tomaron 3 muestras en diferentes sitios. En el cementerio de La Plata se tomaron 6 muestras de diferentes monumentos. Se realizaron observaciones microscópicas en el microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido (MEB) y microscopía de fuerza atómica (AFM). Para caracterizar los productos derivados del deterioro del material estructural se utilizaron estudios de análisis de superficie por dispersión de rayos x (EDX).

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

Se sembraron diluciones adecuadas de cada muestra proveniente de los diferentes materiales en medios de cultivos diferenciales, selectivos, etc. (Guiamet, 2001) para realizar el recuento en placas de las colonias (Madigan et al 2004): recuentos de grupos fisiológicos de bacterias amilolíticas y proteolíticas. Se evaluaron sus porcentajes respecto a las bacterias aeróbicas totales. Se realizaron recuentos de bacterias

con actividad acidificante, BRS, sulfito reductores y hongos y levaduras.

Tipificación de microorganismos

Se tipificaron a través de API 20NE kits a 37 °C (API System, BioMérieux, S.A., Marcy l'Etoile, FR) y a través de técnicas moleculares.

Identificación de algas

La revisión de cada una de las muestras incluyó la descripción morfológica utilizando un microscopio óptico. La información obtenida se analizó consultando claves de sistemática y bibliografía especializada (Bourrelly, 1985).

RESULTADOS

Utilizando lamino cultivos, en los diferentes monumentos del cementerio de La Plata los recuentos de bacterias aeróbicas totales variaron de acuerdo al monumento entre valores de 17 UFC/cm² a 140 UFC/cm² y los recuentos de hongos y levaduras variaron entre valores de 2.3 UFC/cm² a 6 UFC/cm². La presencia de bacterias con actividad acidificante contribuyen a los procesos de acidólisis del material. En la Tabla 1 se observan algunos de los microorganismos aislados de las muestras tomadas en la catedral de La Plata y en la tabla II se observan los microorganismos identificados por técnicas moleculares en el cementerio de La Plata y catedral de La Plata (secuenciación del ADN, 16S). En la catedral de La Plata, se observó una gran diferencia entre los biofilms estudiados por la diferente composición de taxones algales; los biofilms verdes con una capa

externa de musgos del genero *Hennedilla sp* (Familia Pottiaceae), fueron los que presentaron más desarrollo y en ellos se encontró una gran cantidad de Chlorophytas Chlorococcales, cianobacterias Chroococcales (*Chlorococcum sp*, *Chlorella sp* y *Synechocystis sp.*). En los biofilms negros la microflora algal predominante estuvo representada por algas filamentosas (*Klebsormidium cf. flaccidium*) y cianobacterias filamentosas (*Oscillatoria sp.* y *Pseudoanabaena sp.*), aquí, las formas cocales estuvieron presentes pero en menor cantidad. El tercer tipo de biofilm estuvo asociado a una gran cantidad de material fangoso proveniente de una canaleta, presentó formas filamentosas del orden Trentepohliales (*Trentepohlia sp.* y *Printzina sp.*) fijadas a ese material junto con unas pocas cianobacterias coloniales que también se hallaron unidas a material fangoso. Fue notoria la gran cantidad y diversidad de diatomeas presentes en todos los biofilms. Todas las diatomeas encontradas pertenecen al orden Pennales con rafe, estructura que está asociada a la síntesis de mucopolisacáridos para la sujeción y movimiento y es material que contribuye a la formación de biofilms por su capacidad de atrapar material en suspensión y en consecuencia deteriorar el sustrato. Se identificaron también en estos muestreos, plantas vasculares de las especies *Pteris longifolia*, *Adiantum raddianum* y *Cymbalaria muralis*.

DISCUSIÓN

- Estos estudios permitieron determinar la presencia de una flora microbiana con actividad enzimática de acuerdo a las características del sustrato investiga-

Tabla I. Bacterias y hongos aislados de la catedral de La Plata

Microorganismos tipificados	Catedral
Bacterias	<i>Burkholderia cepacea</i> <i>Aeromonas sp.</i>
Hongos	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem

Tabla II. Se presentan los microorganismos secuenciados, con los porcentajes de homología de los más próximos depositados en el NCBI y su número de acceso correspondiente.

Microorganismo	Longitud secuencia (pb)	Microorganismo más próximo (Nº acceso NCBI)	Alineamiento, % Homología
Cementerio-02	352	<i>Pseudomonas putida</i> (EU196391)	345/352, 98
Cementerio-06	277	<i>Pseudomonas</i> sp (AY269246)	268/279, 96
Cementerio-L	357	<i>Bacillus cereus</i> (EF152358)	345/356, 96
Catedral-X	340	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (AM779068)	338/340, 99
Catedral-C1	423	<i>Leclercia adecarboxylata</i> (AB273740)	422/423, 99
Catedral-C2	450	<i>Bacillus thuringiensis</i> (EU240371)	450/450, 100

do, la que fue registrada en los diferentes medios de cultivo utilizados. La presencia de *Clostridium* sp estaría propiciando la formación de nichos anaeróbicos para el desarrollo de BRS.

- Los biofilms de cianobacterias y algas participan en los procesos de biodeterioro sirviendo de soporte a la población bacteriana y a través de la degradación directa del sustrato.

- La presencia de bacterias, cianobacterias y hongos contribuyó marcadamente en los mecanismos de biodeterioro involucrando la producción de metabolitos ácidos, que pueden potenciar los efectos agresivos de las condiciones climáticas y juegan un rol muy importante en el mecanismo de biodeterioro conocido como mecanismo biogeoquímico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la UNLP (Proyectos 11N 458 y 11X 506, a la CIC (Subsidio Res. 578/08), al Departamento de Ingeniería y Ciencia de los Materiales (Proyecto Semilla) Universidad Politécnica de Madrid por los estudios moleculares.

BIBLIOGRAFÍA

- Bourrelly, P. 1985. Les Algues d'eau Douce. Societe Nouvelle Des Editions. Paris, pp. 1-572.
- Gómez de Saravia S., de la Paz Naranjo, J., Guiamet, P., Arenas, P., Borrego, S. 2008. BACPMA 7: 25-29,
- Guiamet P. S. 2001. Efectos de los contaminantes fúngicos y bacterianos en el biodeterioro de materiales estructurales en jornadas científicas tecnológicas sobre prevención y protección del patrimonio cultural Iberoamericano de los efectos del biodeterioro ambiental. Memorias. EDS. H. A. Videla, C. A. Giúdice. CYTED. Pp. 49-56.
- Guiamet P.S. Gómez de Saravia, S.G. Arenas P. Pérez, M.L., de la Paz, J., Borrego, D. F. 2006. Pharmacologyonline 3:537-544.
- Hueck, H. J. (1965). Materials and organism 1, 5-34.
- Madigan M.T., Martinko J.M. Parker J. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. 10ª edición. Pearson Education S.A., Madrid. 1011 pp.
- Postgate J. R. 1984. The Sulphate-Reducing Bacteria. Cambridge, England, University Press, UK. p 24-40.
- Videla H.A., Guiamet, P. S., Gómez de Saravia, S. G. 2000. International Biodeterioration & Biodegradation 46, 335-341.