

Abstract

Biofilm formation is a strategy that bacteria use in order to survive in hostile environments, causing serious problems in the food industry, cooling water systems, medical equipment, etc. The control and destruction of undesirable biofilms often include the use of chemical products with antimicrobial properties such as biocides and surfactants. However, these substances can be harmful to the environment and consequently they should be used in small quantities as possible.

The goal of this work was to develop microparticles with biocidal properties for biofilm control. In this study, the efficacy of biocide carriers against suspended cells of *Pseudomonas fluorescens* was assessed by quantitative cell-plating viability studies. The biocide benzyldimethyldodecylammonium chloride (BDMDAC), a benzalkonium chloride surfactant, was adsorbed on polystyrene (PS) particles of 4 μm diameter, pre-coated with a single layer of polyethyleneimine (PEI) and of sodium polystyrene sulfonate (PSS) by layer-by-layer self-assembly (LBL) technique.

The evaluation of biocide carrier activity was carried out through the determination of the survival ratio (CFU's/CFU's in saline solution) of the microbial population after different periods of exposure to BDMDAC coated particles. The assays were performed with a cell suspension in sterile saline solution (0.85% NaCl) containing 1.1×10^3 CFU/mL. After exposure to BDMDAC coated particles, the quantification of viable cells was done by spreading bacteria on Plate Count Agar, and incubation at 30 °C for 24 h. A cell suspension without coated microparticles was used as control. An efficient biocidal effect (survival ratio = 0) was found at a coated particle concentration of 1.73×10^8 particles/mL after incubation for 30 minutes and 1.21×10^8 particles/mL after 60 minutes. The possibility of reusing BDMDAC coated particles to increase their life time and save biocide was also studied in order to optimize the industrial cleaning procedures. It is possible to conclude that the particles can be reutilized.

Keywords: microparticles, biocides, microorganism and biofilms

Resumo

A formação de biofilmes é uma estratégia que as bactérias utilizam para sobreviver em ambientes hostis. Estes biofilmes podem causar graves problemas na indústria alimentar, sistemas de refrigeração de água, equipamento médico, etc. O seu controlo e eliminação muitas vezes inclui o uso de produtos químicos com propriedades antimicrobianas como por exemplo, biocidas e surfactantes. No entanto, estas substâncias podem ser nocivas para o meio ambiente e consequentemente devem ser utilizados em quantidades tão pequenas quanto possível.

O objectivo deste trabalho foi desenvolver micropartículas com propriedades biocidas para controlo de biofilmes. A eficácia das micropartículas (diâmetro: 4 µm) foi testada numa suspensão de bactérias de *Pseudomonas fluorescens*. O biocida escolhido para ser transportado na superfície das partículas foi o cloreto benzildimetildodecilamónio (BDMDAC). Este biocida é um surfactante que pertence a família dos cloretos de benzalcónio. As micropartículas foram preparadas através da adsorção de polielectrólitos de cargas opostas à superfície de partículas de poliestireno, na seguinte ordem: polielectrólito PEI (Polietilenoimina) em seguida PSS (poli(4-estirenosulfonato de sódio)) e por último o biocida BDMDAC.

A avaliação da eficácia das micropartículas revestidas com biocida foi realizada através da determinação da razão de sobrevivência dos microorganismos (UFC's/UFC's na solução salina) após diferentes períodos de exposição às partículas revestidas. Utilizou-se uma suspensão de *Pseudomonas fluorescens* em solução salina (0.85% NaCl) contendo 1.10×10^3 UFC/ml. Após os diferentes tempos de exposição, a quantificação de células viáveis foi feita através de espalhamento em meio de cultura PCA e incubação a 30 °C durante 24 h. Para controlo foi utilizado uma suspensão de bactérias sem as partículas. A eficiência das partículas revestidas com BDMDAC, razão de sobrevivência=0, foi registada para uma concentração de partículas de 1.73×10^8 partículas/mL após incubação durante 30 minutos e 1.21×10^8 partículas/mL após 60 minutos. A possibilidade de reutilização das partículas revestidas foi ainda estudada a fim de aumentar o seu tempo de vida e assim poupar biocida. Os resultados mostram que é possível reutilizar as partículas revestidas com biocida.

Palavras-chave: micropartículas, biocidas, microorganismos, biofilmes