

DETERIORO CAUSADO POR MICROORGANISMOS EN TEXTIL ARQUEOLÓGICO Y LIENZOS

Nelson J. Ramos Estrada,^a ^b Guido M. Valverde Garnica,^b Maria T. Alvarez Aliaga,^b Enrique Terrazas Siles(†),^b Alberto Giménez Turba^b

^aInstituto de Investigaciones en Productos Naturales (IIPN), Carrera de Ciencias Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, Calle Andrés Bello y Calle 27 Cota Cota, Edificio FCPN, 2° piso, La Paz-Bolivia, ^bInstituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra, frente al Hospital General, La Paz-Bolivia

Accepted: 01/08/12

Published: 09/12/12

Keywords: biodeterioro, biocidas, arqueología, microorganismos, lienzo.

ABSTRACT

In this paper we identified the organisms that cause deterioration of paintings and a textile fragment from the colonial era, provided by the Ministry of Culture Restoration Area - Bolivia and the National Museum of Archaeology - Bolivia consequently tested different essential oils and chemicals to prevent the growth of fungi isolated.

*Corresponding author: lenivaj@hotmail.com

RESUMEN

En el presente trabajo se identificaron los microorganismos causantes del deterioro de lienzos y del fragmento de una pieza textil de la época colonial, proporcionados por el Área de Restauración del Ministerio de Cultura – Bolivia y el Museo Nacional de Arqueología - Bolivia, Consiguientemente se probaron diferentes aceites esenciales y agroquímicos para evitar el desarrollo de los hongos aislados.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los objetos que presentan una relativa antigüedad tienden a sufrir un daño que puede parecer inevitable. Así como monumentos, archivos, trabajos artísticos (cuadros, pinturas, cerámicas, textiles, tallados, banderas y otros) están expuestos a los efectos de factores físicos, químicos y biológicos, de los cuales, aquellos que presentan mayor dificultad para su control son los últimos, debido a que también están comprendidos los microorganismos; pequeña fauna acompañante de los restos orgánicos y hasta incluso de tipo inorgánico. En éste hábitat "no ideal", pueden, adaptarse, alimentarse y reproducirse, consumiendo el espacio donde han invadido. [1,2] En tal sentido la identificación de bacterias y hongos involucrados en estos procesos, es necesaria para el entendimiento de los efectos sobre el material cultural. De igual manera, es importante elucidar las propiedades funcionales de estos microorganismos y su rol en los procesos de biodeterioro [3]. Finalmente es preciso el diseño de estrategias eficientes para la conservación y protección de estos bienes. En general, la estabilidad de cualquier material museológico depende de dos elementos fundamentales: del material que está compuesto, pudiendo variar considerablemente, y de las condiciones a las que ha estado sometido a lo largo del tiempo.[4, 5] Es así que tenemos a los lienzos, que en su elaboración se utilizan una diversidad de materiales y sustancias que favorecen el desarrollo de microorganismos. El soporte que en la mayoría de los casos es una tela compuesta de lino o cáñamo a la que se aplica una capa de cola (a base de gelatina, de pieles o de caseína) a la vez puede o no añadirse amoníaco y glicerina con el fin de evitar la putrefacción de la tela y la rigidez. Posteriormente está la imprimación que consiste en aplicar una mezcla fina de cola dulce, óxido de cinc y carbonato de calcio. También se utilizan aglutinantes para la disolución de los colores, los aceites grasos (por ejemplo: aceite de linaza), y de resinas (que facilitan el secado de los aceites). Finalmente está la aplicación de los colores los cuales pueden contener carbonatos, sulfatos, óxidos, entre otros mezclados con sustancias aceitosas. Sin embargo existen variaciones en función a la técnica y requerimientos artísticos [6, 7]. Otro grupo importante está conformado por las piezas textiles, las cuales están compuestas por fibras de lana animal o vegetal, además de los tintes correspondientes. Empero, es posible evidenciar

la presencia de restos orgánicos como manchas de grasas, sangre y otros que son sustrato adecuado para el desarrollo de agentes causantes del biodeterioro. [8] Todos estos objetos, y muchos más, se encuentran en salas de exposición o en almacenes ubicados en museos y afines, siendo su manipulación en la mayoría de los casos, una forma de contaminación entre piezas, sumado a la temperatura y humedad, favorecen la desintegración física, química y biológica, ya que aceleran el desarrollo del proceso de degradación, y son determinantes para la pérdida de las piezas, y al crecimiento de bacterias, hongos, insectos, algas, musgos y líquenes. Estos mismos, una vez que logran colonizar un determinado espacio, sintetizan enzimas o liberan metabolitos ocasionando coloraciones diversas y la pérdida material de la pieza cultural. [9, 10, 11, 12] La aplicación de biocidas([13], existentes en el mercado resulta efectiva, sin embargo existe la probabilidad del desarrollo de especies microbianas resistentes a los mismos, por otro lado los costos son bastante elevados. Por tal motivo, es necesaria la elaboración de proyectos sobre control integrado de plagas, incluyendo la recopilación de especies procedentes de materiales de archivos, bibliotecas y museos expuestos a climas mediterráneos, secos y tropicales, siendo el objetivo principal desarrollar estudios relacionados con la biodegradación y el correspondiente control.[14, 15] Otra alternativa es el uso de aceites esenciales [16, 17], los mismos podrían ser incorporados en los procesos de restauración o elaboración de lienzos así como tratamientos posteriores. En general, las colecciones de los museos de la ciudad de La Paz y otros departamentos de Bolivia, están conformadas por material inorgánico (objetos de factura humana de los más diversos materiales) y orgánico o biológico, por ejemplo: los cuerpos humanos momificados; y conforman parte transcendental del patrimonio cultural, y deben ser preservadas como prueba objetiva de hechos pasados a generaciones futuras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cultivo e identificación microbiológicos

Las especies aisladas fueron *Penicilliumsp.*, *Acremonium*, *Mucor*sp, *Verticilliumsp.* Y *Basidiomycetos*, con las características descritas en la tabla 1. Los gérmenes bacterianos encontrados, fueron separados para estudios posteriores.

Tabla 1. Identificación de las cepas aisladas

MUESTRA	COLONIAS	PIGMENTO	GAS	ESPECIE
1. FL-18 NGQ	Irregular. Color Crema	Café	+	<i>Penicilliumsp.</i>
2. AR-5.3 NGQ	Irregulares Color Crema	Naranja/Mostaza	+	<i>Acremoniumsp.</i>
3. AR-5 NGQ	Colonias Redonda Color Verde	Amarillo	+	<i>Penicilliumsp.</i>
4. AR-1 NGQ	Redondas, Concéntricas	Verde	-	<i>Penicilliumsp.</i>
5. VF-15 NGQ	Micelio Aéreo Bordes Irregulares	-	-	<i>Mucor</i> sp
6. AR-4 NGQ	Blancas - Cremas	-	-	<i>Verticillium sp.</i> <i>Basidiomycetos</i>
7. FL-18B NGQ	Regular Color Verde	Amarillo	-	<i>Penicilliumsp.</i>
AR - 3 NGQ AR - 51 NGQ AR - 2 NGQ	Sin desarrollo	Sin desarrollo	Sin desarrollo	Sin desarrollo

Testeo con agroquímicos

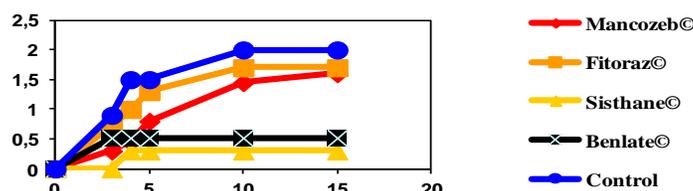


Figura 1. FL-18B NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

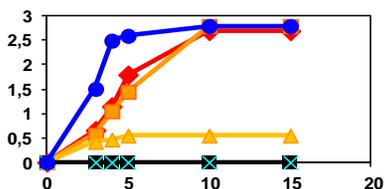


Figura 2. FL -18 NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

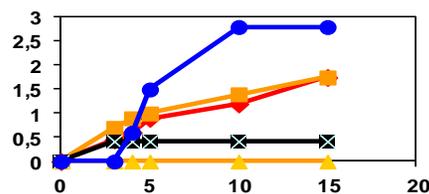


Figura 3. AR - 1 NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

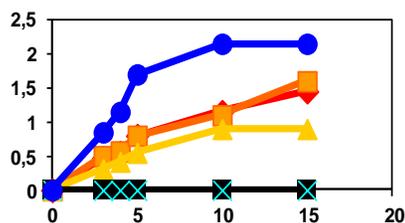


Figura 4. AR-5 NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

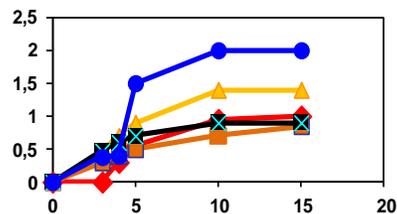


Figura 5. AR - 5.3 NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

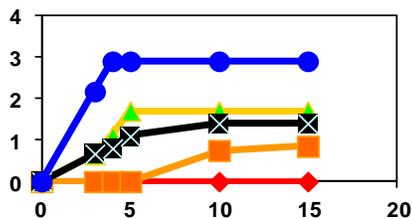


Figura 6. VF-15 NGQ vs. Actividad de los Agroquímicos.

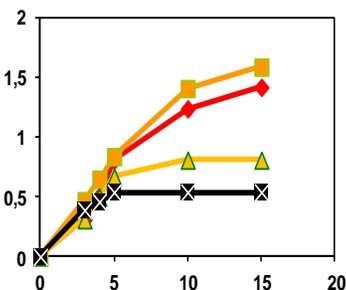


Figura 7. Promedio de la actividad de los agroquímicos.

En las pruebas efectuadas se determinó que SISTHANE© es ideal contra FL-18BNGQ y AR-1NGQ (fig. 1 y 3). Mientras que BENLATE© lo es contra FL -18 NGQ y AR-5 NGQ (fig.2 y 4), siendo MANCOZEB© y FITORAZ© contra AR - 5.3 NGQy VF-15 NGQ respectivamente (fig. 5 y 6). Los promedios de las actividades (fig. 7) nos indican una gran variabilidad con respecto de las cepas aisladas. De esta manera, para la aplicación de agroquímicos contra especímenes fúngicos presentes en las muestras museológicas testeadas en este trabajo, se requiere agentes específicos, debido a que ninguno presentó una actividad de amplio espectro.

Observación macroscópica durante el testeo con agroquímicos

FL-18BNGQ

Las colonias tenían un color verde y amarillo, de aspecto rugoso. Con FITORAZ© al finalizar la prueba hubo la presencia de un pigmento rojizo.

FL-18NGQ

Presentó un color verde oscuro, con FITORAZ© fue verde y con presencia de gotas de agua, mientras que con MANCOZEB© presentó un tono más oscuro que al finalizar la prueba hubo un pigmento rojizo en todo el plato.

AR-1NGQ

Presentó un color verde, y varias colonias diminutas que luego formaron una sola y de aspecto rugoso. En presencia de FITORAZ© hubo predominancia de un color blanco algodonoso, sin embargo estaba presente el color verde y el gris con aspecto ligeramente rugoso. Con MANCOZEB© hubo presencia de gotas de agua. Finalmente en presencia de FITORAZ© y MANCOZEB© las colonias presentaron un color crema.

AR-4NGQ

Las especies fúngicas obtenidas de esta muestra, no presentaron desarrollo alguno con los agroquímicos.

AR-5NGQ

Presentaron colonias redondas de color verde. En presencia de BENLATE© hubo un pigmento ligeramente amarillo. Con MANCOZEB© las colonias presentaron un color amarillo y blanco en el centro, con presencia de gotas de agua. La misma apariencia tomaron las otras colonias al transcurrir los días, a excepción de los platos con SISTHANE© que presentaron un verde oscuro.

AR-5.3NGQ

Se produjo un pigmento inicial crema tornándose naranja y mostaza en el control, mientras que en el resto de las pruebas fue crema con excepción en la que contenía SISTHANE© que fue naranja y luego en el centro se tornó mostaza. En presencia de MANCOZEB©, la colonia fue levemente algodonoso, y de color gris.

VF-15NGQ

No presentó pigmentos o cambios de coloración en todas las pruebas.

Testeo con aceites esenciales

En esta prueba se pudo determinar de manera semicuantitativa la actividad de aceites esenciales frente a las muestras fúngicas aisladas, donde se evidenció la eficacia de K-2 como un biocida de amplio espectro. (Tabla 2.)

Tabla 2. Ensayo de aceites esenciales vs. Especies fúngicas aisladas.

MUESTRA	Con 10µL de extracto								Con 50µL de extracto							
	K-1	K-2	N-1	N-2	N-3	T	R	E	K-1	K-2	N-1	N-2	N-3	T	R	E
AR-1NGQ	-	+	-	+	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
AR-5NGQ	++	++	-	-	-	-	-	-	++	+++	-	+++	-	-	-	-
AR-5.3NGQ	+	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	++	-	-	-	-
FL-18BNGQ	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	-	+++	-	-	-	-
FL-18NGQ	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	++	-	+	-	-
VF-15NGQ	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	-	-	-	-	-	-

En general, la utilización de aceites esenciales es una opción adecuada a nuestro medio, además de demostrar una actividad de amplio espectro, sin embargo es preciso llevar a cabo estudios sobre las concentraciones ideales y métodos adecuados para la aplicación en diferentes objetos museológicos conteniendo también, otras cepas.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección de las muestras

El proceso fue desarrollado en inmediaciones del Área de Restauración donde el personal correspondiente de la institución, extendió los lienzos que presentaban mayor deterioro y catalogadas como "insalvables". Posteriormente se procedió a realizar raspados y cortes con material metálico esterilizado previamente. Se seleccionaron los sectores con presencia de deterioro. Los fragmentos seccionados sólo fueron puestos en frascos secos y esterilizados.

También, en envases estériles y secos, se tomaron fragmentos de la vestimenta de frailes del siglo XV, que fueron encontrados junto a restos humanos en el templo de San Sebastián, proporcionados por la Unidad de Arqueología. Se tomaron en cuenta todas las medidas de bioseguridad necesarias. Finalmente fueron trasladadas las muestras, a los laboratorios del Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, donde se desarrollaron las pruebas.

Cultivo y Aislamiento Microbiológico

Cada muestra obtenida, fue sembrada en platos con PDA (BD© Becton, Dickinson and Company en tioglicolato (BD© Becton, Dickinson and Company). A la vez se codificaron las muestras en relación a sus características. Posteriormente se llevaron a incubación a 30° C. Solamente FL -18 y VF -15 fueron sembrados también en agar – agar.

Tabla 3. Codificación de las muestras.

MUESTRA	CODIFICACIÓN
Fragmentos de lienzo del siglo XVIII	FL – 18 NGQ
Vestimenta de Fraile (textil de origen vegetal)	VF – 15 NGQ
Pedazo de Lienzo	AR – 1 NGQ
Fragmento de Lienzo N°2	AR – 5 NGQ AR – 5.3 NGQ
Polvillo de lienzo	AR – 4 NGQ
Pool de hisopados	AR – 3 NGQ AR – 51 NGQ AR – 2 NGQ

Luego de 5 días, los cultivos fueron llevados a temperatura ambiente. Pasados 36 días se sembraron las colonias existentes en tubos en pico de flauta y en platos ambos con agar sabouraud, y en platos con agar nutritivo, y puestos a incubación (30°C), en relación a los siguientes criterios (tabla 4.):

Tabla 4. Criterios de selección para el asilado de las colonias desarrolladas en los cultivos.

TIPO DE CULTIVO	CRITERIO DE SELECCIÓN
Platos	Color Aspecto de las colonias Características microscópicas
Tubos	Desarrollo aerobio Desarrollo anaerobio Características microscópicas

Así mismo, se efectuaron observaciones de las colonias en el microscopio, utilizando cinta plástica adhesiva que fue puesta en portaobjetos. Luego se realizó la identificación de cada colonia. Posterior a 5 días, los cultivos fueron llevados a 4°C y luego de 7 días se efectuó las resiembras correspondientes por colonia, siendo llevadas a incubación por 3 días. Luego se efectuó la observación microscópica, definiéndose las siguientes codificaciones para las colonias asiladas e identificadas: FL-18NGQ, AR-5NGQ, AR-53NGQ, AR-1NGQ, VF-5NGQ, AR-4NGQ, FL-18BNGQ (Tabla 1 y 3).

Testeo con agroquímicos.

Para el testeo se prepararon platos conteniendo PDA y el agroquímico según indicaciones del fabricante [18, 19, 20, 21, 22] (tabla 5) con las concentraciones recomendadas por el fabricante posteriormente se inocularon los

fragmentos de cada colonia en los platos respectivos. Se hizo el seguimiento correspondiente durante 15 días, verificando cambios de color, aspecto, y la variación del diámetro de cada colonia.

Tabla 5. Agroquímicos empleados

Nombre comercial	Composición	Concentración utilizada	Compañía
Mancozeb / Dithane	Etilenbisditiocarbamato de Manganeso Coordinado con iones de Zn	3g /ℓ	© DOW AGRO SCIENCES
Benlate / Benomyl	Methyl 1-(butylcarbamoil)benzimidazol-ylcarbamate	2 g/ℓ	© DOW AGRO SCIENCES
Sythane	butil-(4-clorofenil)-1H-1,2,4 triazol-1-propanonitrilo	250 mg/ℓ	© DOW AGRO SCIENCES
Fitorraz / Propineb	[[[(1-metil-1,2-etanodil) biscarbamodi-tioato]] (2)] homopolímero de zinc 70%. Cymoxanil: 2-ciano-N-(etilamino) carbonil-2-(metoximino) acetamida 6%	2,5 g/ℓ	© BAYER

Testeo con aceites esenciales.

Se emplearon extractos de aceites esenciales procedentes de frutas y hierbas medicinales recolectados de diferentes regiones, se desconoce la zona geográfica específica. (toronja (*Citrus Paradisii*) "T", naranja (*Citrus aurantium*) "N-1, N-2, N-3", romero (*Rosmarinus officinalis*) "R", eucalipto (*Eucalyptus globulus*) "E" y khoa (*Saturejaboliviana*) "K-1 y K-2"). Las concentraciones utilizadas fueron de 50µℓ/ml y de 10µℓ/ml, y puestas en micropocillos conteniendo agar PDA (BD© Becton, Dickinson and Company).

Luego de sembrados se pusieron a incubación durante 6 días. Finalmente se efectuaron las lecturas correspondientes. Debido al tamaño del diámetro de los pocillos no se efectuaron evaluaciones métricas, sólo la ausencia de desarrollo (que fue tomado como "+++"), un desarrollo medio (que fue tomado como "++"), un desarrollo mínimo (que fue tomado como "+"), y un desarrollo completo (que fue tomado como "-")

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos la colaboración prestada a los arqueólogos Lic. Eduardo Pareja, Msc. Danilo Villamor, Lic. Freddy Flores, Arq. Javier y al Instituto de Investigaciones de Productos Naturales – Facultad de Ciencias Puras - UMSA, por los aceites esenciales provistos.

De igual manera agradecer a los doctores María T. Álvarez Aliaga, Enrique Terrazas Siles(†) por los consejos, asesoramiento y amistad proporcionados.

REFERENCIAS

- KRAKE A. M., WORTHINGTON K. A.; WALLINGFORD K. M, MARTINEZ K. F. Applied Occupational and Environmental Hygiene.1999, **14**, 499.
- ARYA A., SHAH R., SADASIVAN S. Current Science.2001, **7**, 793.
- GONZALEZ J. M., JIMENEZ C. S. International Microbiology, 2005, **8**, 189
- BORREGO S., PONS V., PERDOMO I. CENIC Ciencias Biológicas. 2008, **39**, 63
- GUIAMENT P. S. Preservar. 2001, **15**, 49
- PEARCE E., PYLE DAVID. El libro del óleo, Guía completa para pintores. 2002, Winsor & Newton .ColArt Fine Art & Graphics Limited. Middlesex. 9-16, 64-70, 76-79.
- PAUL B. D., JOHNSTON J. Mesoamérica. 1998, **36**, 423
- EYZAGUIRRE L., PAZ M. Conservación. 2002, **6**, 47.

9. ORIO C.
Applied and Environmental Microbiology. 1999, **65**, 879
10. DE SOUZA A., GAYLARDE C. C.
International Biodeterioration & Biodegradation. Elsevier. 2002, **49**, 21
11. KOTOWA S. J.
International Biodeterioration & Biodegradation. Elsevier. 2004, **53**, 165
12. RUBIO R. F., BOLIVAR F. C.
International Biodeterioration & Biodegradation. Elsevier. 1997, **40**, 161
13. DE LOS RIOS A., ASCASO C.
International Microbiology, 2005, **8**, 181
14. GOMEZ DE SARAVIA S., BORREGO S., LAVIN P., VALDES O., VIVAR I., BATTISTONI P., GUIAMET P.,
Congreso de Medio Ambiente. 2012, **7**, 3
15. http://imaginario.org.ar/apoyo/vol7-1_11.htm
16. FLORES Q. E., VELASCO A. P., IRAHOLA S. P., GIMENEZ T. A.
Biofarbo. 1999, **7**, 35
17. FLORES Q. E., VELASCO A. P., FIGUEROA S. N., GIMENEZ T. A.
Biofarbo. 1999, **7**, 5
18. <http://www.dowagro.com/bo/>
19. http://www.dowagro.com/PublishedLiterature/dh_04bf/0901b803804bf259.pdf?filepath=ar/pdfs/noreg/013-50044.pdf&fromPage=GetDoc
20. http://msdssearch.dow.com/PublishedLiterature/DAS/dh_0880/0901b80380880fc4.pdf?filepath=py/pdfs/noreg/013-80021.pdf&fromPage=GetDoc
21. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1374s/a1374s06.pdf> http://www.dowagro.com/PublishedLiterature/dh_0045/0901b80380045a9a.pdf?..http://www.dowagro.com/PublishedLiterature/dh_04e6/0901b803804e6d0f.pdf?filepath=nz/pdfs/noreg/012-00201.pdf&fromPage=GetDoc
22. <http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=83>