



FACULTAD DE BELLAS ARTES

Departamento de Pintura

Sección de Conservación-Restauración

**APLICACIONES ENZIMÁTICAS EN PROCESOS DE
CONSERVACIÓN Y RESTAURACIÓN DE OBRAS
DE ARTE. CONSOLIDACIÓN DE CELULOSA**

TESIS DOCTORAL

Alicia de Lera Santín

Directores: Maria Teresa Escohotado Ibor

Christophe Marquette

© Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
- *Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua (UPV/EHU)*
- *EHU Press (UPV/EHU)*
- **ISBN: 978-84-9082-095-7**

AGRADECIMIENTOS

Cuando bebas agua, recuerda la fuente

Proverbio chino

AGRADECIMIENTOS

La tesis es un largo caminar en solitario, un trabajo constante y duro que muchas veces no parece tener fin. Esta investigación no hubiera sido factible sin el apoyo de muchas personas e instituciones que sin interés alguno han estado a mi lado, dándome consejos y fuerzas para continuar.

Para comenzar he de mencionar a mis directores de tesis que me han ayudado cuando lo he necesitado, dándome ánimos para proseguir mi estudio. Christophe Marquette me ha dirigido toda la parte científica, sin él, no hubiera sido posible llegar a buen término todo mi trabajo. Además de ser muy buen director de tesis, debo agradecerle sus cenas en su casa con sus amigos, su familia y compañeros del laboratorio. Por otro lado, Teresa Escohotado me ha apoyado enormemente aquí. Es una persona excepcional a quien tengo que agradecer su apoyo moral, su energía, su simpatía, sus consejos, etc. Personas como ella quedan pocas.

Asimismo tengo que mencionar a Loïc Blum, director del laboratorio de “*Génie Enzymologique et Biomoléculaire*” del “*Institut de Chimie et Biochimie moléculaire et Supramoléculaire*” de la Universidad de Lyon1 en Francia. Él fue quien creyó en este proyecto y quien permitió que todo comenzase. A él tengo que agradecer la realización de esta Tesis.

A todo el laboratorio de Lyon por el apoyo moral, los consejos y el trato. A Béatrice Leca por ser tan simpática y agradable, a Frédérique Depierre por toda su ayuda, a Agnès Degiuli, Kevin Heyries, Aurélie Santafé, Agnès Girard-Egrot por su simpatía, a Li Feng, una gran amiga que nunca olvidaré y sobre todo a Audrey Sassolas, a quien agradezco enormemente toda la ayuda, apoyo moral, conversaciones, simpatía, sin ella y su familia no sé que hubiera sido de mí los últimos meses en Lyon; tengo mucho que agradecer y poco espacio para expresar el gran afecto que me une a este laboratorio.

También debo mencionar a todo el grupo de Celulosa y Papel del Centro de Investigación Forestal (INIA). A Juan Carlos Villar por permitirme ir al laboratorio, por sus consejos, por su apoyo e interés, a Nuria por su ayuda y simpatía, a Chema por su interés, por ser tan agradable, por enseñarme las instalaciones cuando llegué, a María Eugenia, a Reme, a Carlos, a Sara, a Serfa, y a Ester, por su gran simpatía y por la ayuda que me han prestado.

Al profesor Luigi Campanella de la *Università degli Studi di Roma "La Sapienza"* del departamento de Química que me permitió conocer el uso de las enzimas y utilizar el material de su laboratorio. Cecilia Costanza por su enorme ayuda en el laboratorio y al resto de mis compañeros que me hicieron muy amena mi estancia en Roma. Debo añadir que el *ICCRROM* y el *Istituto per la Patologia del Libro* fueron dos instituciones clave para encontrar gran parte de la bibliografía. A Jose Luiz Perderson por darme algunos consejos sobre la realización de algunas pruebas en un momento clave de mi tesis. A María Grazia Pellegrini por corregirme algunos textos en italiano.

Agradezco a las Becas de la Real Academia de España en Roma, a la Beca de "La Caixa" y a la Beca del Gobierno Vasco por haberme financiado durante estos años. A la Embajada de Francia en Madrid por ayudarme a localizar el laboratorio de Francia.

A Vicente Argüelles, mi profesor de francés, que me ayudo muchísimo en mis inicios. A él debo muchos de mis conocimientos de francés. Sin su ayuda estoy segura que no hubiera obtenido la Beca de "La Caixa". Allí donde vaya siempre te recordaré por tu simpatía, por tu generosidad, por todas las clases de mi infancia que pasé estudiando en tu casa. Siento tu pérdida, todos te echamos de menos.

Me hubiera gustado que leyese mi Tesis.

A María José Fernández Berridi del Departamento de Ciencia y Tecnología de Polímeros de la Facultad de Química de la Universidad del País Vasco, por dejarme utilizar algunos de sus máquinas para realizar algunos test en mis papeles que por desgracia no he podido introducir en esta tesis.

Al taller de restauración de la Facultad de Bellas Artes, por dejarme utilizar material y máquinas necesarios para la realización de esta investigación.

A Reyes Pejenaute por su ayuda y apoyo durante las correcciones de este trabajo.

Y por último y no menos importante a la gente más cercana y sobre todo a mi familia. A mi madre, mi mayor apoyo y que ha estado ahí, en mis buenos y malos momentos.

ABREVIATURAS

ASTM: American society for testing and materials -ahora es una asociación internacional de normas-.

Cell. : celulasa

CCD: Charge Coupled Device (cámara)

COOH: grupo carboxílico

CSEM: microscopio electrónico de barrido convencional.

DMSO: dimetilsulfósido

E: enzima

ES: Complejo enzima sustrato

EDC: (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N ethylcarbodiimide hydrochloride)

ESEM: environmental scannig electron microscope

GOD: enzima glucosa oxidasa

HCl: ácido clorhídrico

HgNO₃: mercurio

HIS: histidina.

H₂O₂: agua oxigenada

HR: humedad relativa

HRP-HIS: enzima peroxidasa modificada con histidina (Horseradish peroxidase)

INIA: Instituto Nacional de Investigación Agraria

ISO: International Standards Organization.

Lm: lumen

Lx: lux

NaCl: cloruro de sodio

NHS: (N-hydroxysuccinimide)

NiCl₂: cloruro de níquel

NO: óxido de nitrógeno

NO₂: dióxido de nitrógeno

PVA: acetato de polivinilo, poli(vinil acetato)

PVOH: alcohol de polivinilo

(S): sustrato

SDS: dodecil sulfato de sodio

SEM/MEB: microscopio electrónico de Barrido

SO₂: dióxido de azufre

Tp: tampón

TiO₂: dióxido de titanio

Tp P: tampón fosfato

UVA: ultra violeta

VBS: tampón veronal (veronato sódico)

V_{max}: velocidad máxima

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

Introducción	21
Antecedentes	24
Hipótesis y objetivos	28
Introduction	30
Étude bibliographique	32
Hypothèse de travail et objectifs	36

CAPÍTULO I: LAS ENZIMAS

I Las enzimas.....	41
I.1 Estructura de las enzimas	42
I.2 Mecanismo de acción de las enzimas. Catálisis enzimática.....	43
I.2.1 Energía de activación.....	43
I.2.2 El catalizador	43
I.2.3 Reacciones enzimáticas	44
I.2.4 La constante de equilibrio.....	45
I.3 Regulación de la actividad enzimática	46
I.3.1 Rutas metabólicas	46
I.3.2 Cofactores y coenzimas	47
I.3.3 Efecto de las concentraciones de enzima y de sustrato.....	48
I.3.4 Efectos de la temperatura y del pH.....	49
I.3.5 Inhibición	50
I.3.6 Otros Tipos de regulación enzimática.....	53
I.4 Nomenclatura	55
I.4.1 Numérica.....	55
I.4.2 Clases según su función	55
I.4.3 Sistemática	56
I.5 Tipos de enzimas utilizadas en la restauración	57
I.5.1 Las Hidrolasas.....	57
I.5.2 Las proteasas	57
I.5.3 Las lipasas	60
I.5.4 Las amilasas	61
I.6 Origen de las enzimas.....	62
I.6.1 Enzimas proteolíticas	63
I.6.2 Enzimas lipolíticas	63
I.6.3 Enzimas glicolíticas, amilasas	64
I.7 Manipulación de enzimas.....	64

I.7.1	Cuando deben aplicarse	64
I.7.2	Criterios para escoger una enzima	66
I.7.3	Parámetros a tener en cuenta a la hora de escoger una enzima ...	67
I.7.4	Interpretación de la información de la enzima.....	68
I.7.5	Cálculo de la concentración de la enzima.....	71
I.7.6	Preparación de la solución o gel enzimático.....	72
I.7.7	Aplicación	76
I.7.8	Eliminación	78
I.7.9	Precauciones de uso	79
I.7.10	Almacenamiento	80
I.8	Utilización de enzimas en procesos de conservación y restauración de obras de arte	82
I.8.1	Listado de enzimas aplicadas en limpiezas.....	82
I.8.2	Amilasas.....	84
I.8.2.1	Amilasas en manuscritos	85
I.8.2.2	Cartones preparatorios de tapices.....	86
I.8.2.3	Tratamiento de un mapa de América del siglo XVII	87
I.8.2.4	Eliminación de pasta de almidón en manuscritos de papel con la compresa Albertina (impaco de amilasa listo para el uso).....	88
I.8.2.5	Tejidos coptos.....	90
I.8.2.6	Identificación de componentes amiláceos y proteicos por vía enzimática.....	91
I.8.2.7	Geles enzimáticos de amilasa.....	92
I.8.3	Proteasas	95
I.8.3.1	Proteasas en el tratamiento de pinturas de óleo.....	95
I.8.3.2	La tripsina para separar papiros de capas de yeso.....	97
I.8.3.3	Proceso de restauración de una colección de cromos.....	97
I.8.3.4	Textiles islamistas de la colección Bouvier	99
I.8.3.5	Colagenasas en la restauración de esculturas policromadas de madera	100
I.8.3.6	VERON P (proteasas) en la restauración de una escultura de terracota policromada	102
I.8.3.7	Proteasas en muebles.....	103
I.8.4	Lipasas	103
I.8.4.1	Separación de una obra en papel pegada a otro papel	104
I.8.4.2	Eliminación de películas acrílicas	105
I.8.4.3	Lipasa para el tratamiento de pinturas sobre tabla	105
I.8.4.4	Geles de Wolbers para la limpieza de lienzo.....	106
I.8.4.5	Estudios contradictorios al gel de lipasa de Wolbers	107
I.8.4.6	La lipasa para la eliminación de sustratos en muebles....	108
I.8.5	Reductasas y peroxidasas para la eliminación de las manchas de foxing	109
I.8.6	Lisozimas para desinfectar unas vidrieras españolas.....	110
II	Práctica con enzimas	111
II.1	Metodología de la prueba.....	112
II.1.1	Preparación de las muestras.....	113

II.1.2 Aplicación de enzimas.....	115
II.1.3 Elección de cada enzima.....	116
II.2 Resultados	118
II.2.1 Manchas de chocolate.....	118
II.2.1.1 Limpieza de chocolate sobre un papel blanco.....	118
II.2.1.2 Chocolate sobre acrílico.....	119
II.2.1.3 Chocolate sobre acuarela verde.....	122
II.2.1.4 Chocolate en guache negro y azul.....	123
II.2.2 Engrudo de harina.....	124
II.2.2.1 Limpieza de la harina en papel blanco.....	125
II.2.2.2 Engrudo de harina sobre acrílico azul y amarillo	126
II.2.2.3 Harina sobre acuarela verde	127
II.2.2.4 Harina sobre guache negro.....	128
II.2.3 Manchas de huevo	129
II.2.3.1 Limpieza de huevo en un papel blanco	129
II.2.3.2 Huevo sobre acrílica amarillo y azul.....	130
II.2.3.3 Huevo sobre guache negro y amarillo.....	131
II.2.4 Eliminación de cola blanca.....	132
II.2.4.1 Cola blanca sobre acrílico	132
II.2.4.2 Cola blanca sobre guache.....	133
II.2.5 Eliminación de otro tipo de manchas	133
II.3 Tablas con los resultados	136
II.4 Discusión de la práctica	137

CAPÍTULO II: EL PAPEL

I Breve historia del papel	141
I.1 Invención	141
I.2 Su difusión por el mundo	142
I.3 Papel en España.....	144
II Composición del papel	145
II.1 Materia prima –las fibras-	145
II.2 Encolantes	146
II.3 Las cargas.....	148
II.4 Blanqueantes	148
II.5 Tintas.....	149
III Fabricación del papel	153
III.1 Fabricación del papel en la Edad Media.....	153
III.1.1 La filigrana	154
III.2 Fabricación manual actual. Caso práctico en una empresa papelera.....	155
III.2.1 Fibras	155
III.2.2 Encolantes	156
III.2.3 Tampones	156
III.2.4 Fungicidas	157
III.2.5 Cargas.....	157

III.2.6	Pigmentos	157
III.2.7	Moldes o marcos de producción utilizados	157
III.2.8	Filigranas	158
III.2.9	Fases en la realización del papel	159
III.3	Fabricación industrial	162
III.3.1	Pasta de madera	163
III.3.1.1	La pasta mecánica	164
III.3.1.2	Pasta química	165
III.3.1.3	Pasta semi-química o media pasta	166
IV	Química de las fibras de papel	167
IV.1	Composición química de la celulosa	167
IV.2	Otros componentes presentes en las fibras de papel	172
IV.2.1	La hemicelulosa	172
IV.2.2	La lignina	173
V	Degradación del papel	174
V.1	Cambios del papel al degradarse	174
V.2	Reacciones químicas implícitas en la degradación de la celulosa	175
V.2.1	Hidrólisis	175
V.2.2	Oxidación	179
V.3	Causa de degradación	181
V.3.1	Causa intrínsecas	183
V.3.2	Causas extrínsecas	186
V.3.2.1	Causas ambientales	186
V.3.2.2	Factores biológicos	190
V.3.2.3	Manipulación incorrecta del hombre	196
VI	Consolidación de los soportes celulósicos	198
VI.1	Técnicas de consolidación	198
VI.1.1	Técnicas antiguas de consolidación	199
VI.1.1.1	Consolidación mediante materiales plásticos	199
VI.1.1.2	Laminación	199
VI.1.1.3	Laminación con solventes	201
VI.1.1.4	Consolidación mediante la separación de capas	201
VI.1.2	Técnicas actuales de consolidación	202
VI.1.2.1	Consolidación mediante adhesivos	202
VI.1.2.2	Laminación	204
VI.1.2.3	Inconvenientes del laminado	208
VI.1.2.4	Encapsulado	210
VI.2	Adhesivos	211
VI.2.1	Características	211
VI.2.2	Sustancias adhesivas	212
VI.2.2.1	Adhesivos naturales y orgánicos	212
VI.2.2.2	Productos sintéticos	216
VI.2.3	Desventajas de los adhesivos	222

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

I Materiales.....	231
I.1 Papel.....	232
I.2 Materiales artísticos.....	233
I.3 Sustancias.....	238
I.3.1 Enzimas.....	239
I.3.2 Productos.....	239
I.4 Instrumentación.....	242
I.4.1 Cámara climática de envejecimiento.....	242
I.4.1.1 Modelo: QUV Weathering Tester – Model QUV/spray Q-Panel LAB-Products.....	242
I.4.1.2 Cámara climática CTS modelo: C-20/350/S.....	243
I.4.2 Máquinas de Foto-degradación.....	244
I.4.2.1 CAMAG IAS Chamagne.....	244
I.4.2.2 Bio-Link-BLX-E254.....	244
I.4.2.3 SOL 2dr. Höle de Metrotec.....	244
I.4.3 Cámara fotográfica Digital CCD (Charge Coupled Device) de Fujifilm.....	245
I.4.3.1 Descripción de la cámara CCD.....	246
I.4.3.2 Utilización de la cámara CCD.....	246
I.4.4 Microscopio electrónico Philips XL.....	247
I.4.4.1 Descripción del microscopio.....	247
I.4.5 Máquina SCD 040 (Baltec) para la metalización de las probetas.....	248
I.4.5.1 Preparación de las muestras.....	248
I.4.6 Otra instrumentación.....	249
I.4.6.1 Equipos para la medición de humedad relativa y temperatura.....	249
I.4.6.2 PH meter GLP 21 Crison Leioa.....	250
I.4.7 Máquina para los test mecánicos D.Y.20, ADAMEL Lhomargy ISA división d'instruments S.A.....	250
I.4.8 Máquinas de FTIR.....	251
I.4.8.1 Descripción de la técnica de Espectrometría de absorción IR (FTIR).....	251
I.4.8.2 Nicolet 510 FT-IR Spectrometer.....	252
I.4.8.3 FTIR-460 Plus.....	253
I.4.9 Espectrofotómetro de reflectancia.....	253
I.4.9.1 Generalidades.....	253
I.4.9.2 Manejo.....	254
I.4.9.3 Propiedades ópticas del papel.....	254
I.4.9.4 Blancura ISO.....	256
II Métodos.....	257
II.1 Preparación de las probetas.....	257
II.1.1 Envejecimiento acelerado del papel en Roma.....	257
II.1.1.1 Máquina de foto-degradación.....	258
II.1.1.2 Envejecimiento acelerado con un catalizador del envejecimiento (TiO ₂).....	259

II.1.1.3 Envejecimiento acelerado con HCl.....	259
II.1.2 Envejecimiento acelerado en Lyon.....	260
II.1.3 Envejecimiento artificial en el País Vasco	260
II.1.3.1 Preparación de las probetas.....	260
II.1.3.2 Envejecimiento artificial de los papeles.....	274
II.1.4 Segundo envejecimiento artificial en el País Vasco.....	275
II.1.4.1 Preparación de los papeles	275
II.1.5 Tercer envejecimiento acelerado en el País Vasco.....	288
II.1.5.1 Preparación de los papeles	288
II.1.5.2 Envejecimiento acelerado de las muestras.....	292
II.1.6 Envejecimiento acelerado en Madrid	293
II.2 Métodos de medida del envejecimiento del papel	294
II.2.1 Test Enzimático de Roma.....	294
II.2.1.1 Preparación del test	294
II.2.1.2 Prueba con el Electrodo de Clark.....	295
II.2.2 Método enzimático para conocer la degradación del papel en Lyon.	296
II.2.2.1 Primeras pruebas	297
II.2.2.2 Protocolo de los primeros test enzimáticos.....	297
II.2.2.3 Variación en el sistema enzimático.....	298
II.2.3 Nuevo protocolo de medida de la degradación con la enzima HRP-HIS	299
II.3 Consolidación experimental del papel	301
II.3.1 Consolidación en Roma con esteres de las algas previamente tratadas	301
II.3.1.1 Hipótesis.....	301
II.3.1.2 Preparación.....	301
II.3.2 Consolidación de celulosa en Lyon.....	302
II.3.2.1 Primeros ensayos de consolidación enzimática	302
II.3.2.2 Gel enzimático	306
II.3.2.3 Segunda fase del Gel enzimático	308

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

MÉTODO DE CONOCIMIENTO DE LA DEGRADACIÓN DEL PAPEL

I Método enzimático en Roma	317
I.1 Resultados del test enzimático de glucosa Oxidasa y el electrodo de Clark	318
II Métodos enzimáticos empleados en el laboratorio de Lyon	319
II.1 Primer método experimental de medida del envejecimiento del papel con enzimas glucosa oxidasas (GOD).....	319
II.1.1 Primera fotografía con la cámara CCD y con una concentración de GOD de 1 mg/ml.....	320
II.1.2 Variación de la concentración de GOD (1 mg/ml) en el test enzimático	321

II.1.3 Variación de la concentración de GOD (de 0,2 mg/ml.).....	322
II.1.4 Diferente exposición de rayos UVA para el envejecimiento acelerado de nuestros papeles	323
II.1.5 Nuevo proceso de lavados en el test enzimático para la medida de degradación de la celulosa.....	325
II.1.5.1 Nuevo proceso (lavado después del enzima)	326
II.1.5.2 Comparativa del mismo proceso pero sin lavado previo	328
II.1.5.3 Lavados antes y después de la deposición de la enzima	329
II.2 Método con la enzima peroxidasa HRP.....	330
II.2.1 Variación en el protocolo del método enzimático con peroxidasa.....	331
II.2.2 Comparación del test de peroxidasa y el test de glucosa oxidasa.....	333
II.2.3 Renovación del papel de referencia.....	335
II.3 Nuevo protocolo de medida de la degradación con la enzima HRP-HIS.....	338
II.3.1 Protocolo de actuación.....	338
II.3.2 Cambio de formato de los fragmentos de papel	338
II.4 Conclusión del sistema enzimático	341

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN CONSOLIDACIÓN DE CELULOSA CON ENZIMAS

I Consolidación en Roma. Aplicación de los esteres de las algas previamente tratadas.	341
I.1 Resultados del tratamiento del papel con algas previamente tratadas.....	341
II Utilización de enzimas para consolidar materiales celulósicos.....	344
II.1 Aplicación de una solución enzimática.....	344
II.1.1 Preparación del material de los primeros ensayos de consolidación enzimática	344
II.1.2 Pruebas con una solución enzimática y otra sin enzimas pero con una proteína	346
II.1.3 Pruebas con una solución con enzimas y otra sin enzimas.....	349
II.1.4 Aplicación del nuevo sistema con la enzima HRP-His en nuestro tratamiento enzimático para consolidar papel	351
II.1.5 Verificación del efecto de la celulasa con el test HRP-His	352
II.1.6 Variación en las proporciones de solvente y tampón	355
II.1.6.1 Primeras variaciones	355
II.1.6.2 Otras variaciones de las concentraciones.....	356
II.1.6.3 Observaciones	356
II.1.7 Duración del tratamiento enzimático.....	357
II.1.8 Celulasas más apropiadas para la consolidación celulósica	361
II.1.9 Efecto de las sustancias del entorno en los papeles.....	362
II.1.10 Lavados e inhibidores de celulasas.....	364

II.1.10.1 Lavado con el solvente y el tampón.....	365
II.1.10.2 Lavado con etanol	368
II.1.10.3 Comparativa de lavados etanol y tampón acetato con solvente	369
III Gel enzymatique / Gel enzimático	371
III.1 Mise au point du gel / Puesta a punto del gel	372
III.1.1 Résultats de l'application du gel / Tiempo de la aplicación del gel	373
III.1.2 Effet d'une mauvaise réalisation du gel (température élevée) / Efecto de una mala realización del gel (temperatura elevada).....	374
III.2 Temps d'application du gel/ Tiempo de aplicación del gel.....	375
III.2.1 Perte d'efficacité du gel / Pérdida de eficacia del gel	376
III.3 Modification du mode d'application du gel (récipient ouvert) / Variación en la aplicación del gel (contenedor abierto).....	379
III.4 Résultats du microscope électronique / Resultados del microscopio electrónico.....	387
III.5 Emploi d'un tissu séparateur pour le traitement/ Tratamiento con un tejido separador Reemay.....	389
III.6 Amélioration du gel, emploi d'un nouveau substrat / Mejora del gel, empleo de un nuevo sustrato.....	390
III.7 Nouvelle composition du gel avec une solution tampon / Nueva composición del gel con una solución tampón.....	392
III.7.1 Durée de vie du gel avec le TpAc / Duración máxima del gel con tampón acetato (TpAc).....	395
III.7.2 Comparaison de deux gels -H ₂ O, TpAc-/ Comparación de dos geles -H ₂ O, TpAc-	396
III.8 Comparaison des Résultats de la caméra CCD avec d'autres méthodes/ Comparación de los resultados de la cámara CCD con otros métodos.....	398
III.9 Tissu synthétique séparateur dans le traitement de la fibre / Tratamiento con tejido sintético separador.....	402
III.9.1 Comparaison du traitement avec et sans Reemay avec la camera CCD et des photographies du microscope électronique de balayage MEB/SEM / Comparación del tratamiento con y sin Reemay, con la cámara CCD y fotografías del microscopio electrónico de barrido MEB/SEM.....	402
III.9.2 Traitement du papier journal/Utilización de un papel periódico.....	405
III.9.3 Comparaison des deux traitements, sur papier journal et blanc / Comparativa de los dos tratamientos, sobre papel de periódico y blanco	406
III.10 Application d'un nouveau substrat / Aplicación de un nuevo sustrato	411
III.10.1 Comparaison des résultats des deux substrats/ Comparación de los resultados de los dos sustratos	412

III.10.2	Images par microscopie électronique du traitement du gel avec le solvant éthanol / Fotografías MEB de los tratamientos de geles, uno preparado con tampón acetato y el otro con H ₂ O	414
III.11	Changement de solvant/ Cambio de disolvente.....	417
III.11.1	Répétition des mesures du gel éthanol / Repetición de las medidas del gel etanol.....	419
III.11.2	Images par microscopie électronique du traitement du gel avec le solvant éthanol / Fotografías MEB/ SEM del tratamiento del gel con el disolvente etanol	420
III.12	Comparaison de l'efficacité des gels préparés avec de l'éthanol ou de l'acétonitrile/ Comparación de la eficacia de los geles preparados con etanol o acetonitrilo	421
III.12.1	Marquage HRP-His / Marcage HRP-His	421
III.12.2	Comparaison Physique par microscopie électronique/ Comparación física gracias a la microscopía electrónica.....	422
III.12.3	Test mécaniques / Test mecánicos	424
IV	Aplicación del gel en papeles con técnicas pictóricas	428
IV.1	Preparación de las probetas	428
IV.2	Envejecimiento acelerado y tratamiento	433
IV.3	Resultados de los test mecánicos.....	437
IV.4	Preparación de la siguiente tanda de dibujos.....	467
IV.5	Envejecimiento acelerado de las muestras	472
IV.6	Tratamiento de los papeles	473
IV.7	Resultados Generales de los test mecánicos en papeles envejecidos en la máquina de la UPV	479
IV.7.1	Resultado del envejecimiento acelerado según los test mecánicos	479
IV.7.2	Resultados generales de los test mecánicos para conocer la eficacia de nuestro tratamiento con el gel etanol	481
IV.7.2.1	Conclusiones del gel enzimático de etanol.....	482
IV.7.3	Resultados generales para los geles de acetonitrilo	483
IV.7.4	Resultados generales de los test mecánicos del tratamiento de un libro antiguo	484
IV.8	Estado de varios papeles tras un año de tratamiento	487
IV.8.1	Resultados de la Espectrometría de absorción IR (FTIR).....	487
IV.8.2	Resultados SEM de los mismos papeles	491
IV.8.3	Resultados del espectrofotómetro de reflectancia.....	504
IV.9	Búsqueda del mejor lavado	507
IV.9.1	Preparación de las probetas.....	507
IV.9.2	Preparación del gel enzimático	509
IV.9.3	Tratamiento de los papeles.....	510
IV.9.4	Resultados Test mecánicos	515
IV.9.5	Resultados del espectrofotómetro de reflectancia.....	532
IV.9.6	Climatología de los días de tratamiento.....	537
IV.9.7	Discusión.....	543
IV. 10	Diferentes lavados en el tratamiento	545
IV.10.1	Preparación de las probetas.....	545

IV.10.2 Gel.....	545
IV.10.3 Los lavados	546
IV.10.4 Resultados	546
IV.10.4.1 Fotografías SEM de los diferentes lavados de los papeles	546
IV.10.4.2 Test mecánicos	570
IV.10.4.3 Resultados del espectrofotómetro de reflectancia	587

CONCLUSIONES

Conclusiones	597
--------------------	-----

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía	607
--------------------	-----

ANEXOS

Anexos	621
Anexo 1. “Estudio de Enzimas en Procesos de Conservación y Restauración de Obras de Arte”	623
Anexo II. Riparazione di carta invecchiata artificialmente e fotodegradata	630
Anexo III. “Consolidación de celulosa con un nuevo método enzimático. Estudios preliminares”	635
Anexo IV. “Método experimental para consolidar fibras de papel (I parte del estudio)”	647
Anexo V. Riparazione di carta invecchiata artificialmente e fotodegradata	661
Anexo VI. Las características del papel en la Edad Media.....	671