

CONSOLIDACIÓN DE CELULOSA CON ENZIMAS

I Consolidación en Roma. Aplicación de esteres de algas previamente tratadas.

Antes de centrarse en la consolidación de celulosa mediante enzimas, se intentó hacer lo mismo en Roma. Por diversos motivos, no se pudo llevar a cabo y, se planteó la posibilidad de reparar el papel con algas previamente tratadas con un metal. Se formuló la hipótesis de que existía la posibilidad de que las algas expuestas a un metal pesado, produjeran alguna sustancia como esteres, que sirvieran para reforzar las fibras de celulosa degradadas. Se pensó en la posibilidad de que las algas *spirulina subsalsa* seleccionadas, pudieran sintetizar estos esteres con ayuda de alguna enzima y de esta manera, no se alejaba demasiado la investigación del tema principal que son las enzimas.

I.1 Resultados del tratamiento del papel con algas previamente tratadas.

Los papeles fueron tratados con una solución de algas, que previamente habían estado en contacto con un metal pesado, el mercurio HgNO_3 10^{-10} M durante 4 horas, 48 horas, etc.

Posteriormente, los papeles fueron secados y protegidos de la luz y humedad relativa del laboratorio antes de realizar los test enzimáticos y de fotodegradación.

El siguiente gráfico muestra los resultados del tratamiento con algas:

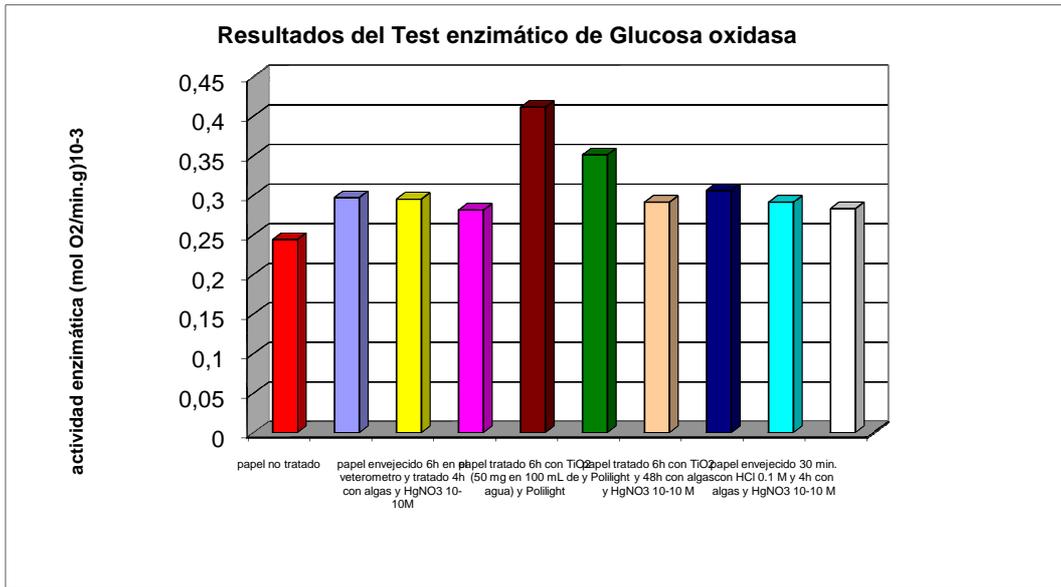


Gráfico 19. Resultados del test enzimático Glucosa Oxidasa en papeles tratados con algas.

Papeles	Actividad enzimática (mol O ₂ /m en g)10 ⁻³
Papel sin envejecer ni tratar	0.244 ± 0.001
Papel fotoenvejecido 6h	0.297 ± 0.001
Papel fotoenvejecido 6h y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 4 h	0.295 ± 0.004
Papel fotoenvejecido 6h y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 48 h	0.281 ± 0.003
Papel envejecido con TiO ₂ y Polilight 6h	0.411 ± 0.006
Papel envejecido con TiO ₂ y Polilight 6h y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 4 h	0.351 ± 0.005
Papel envejecido con TiO ₂ y Polilight 6h y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 48 h	0.291 ± 0.004
Papel tratado con HCl 0,1M 30min	0.306 ± 0.005
Papel tratado con HCl 0,1M 30min y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 4 h	0.291 ± 0.004
Papel tratado con HCl 0,1M 30min y tratado con algas y Hg(NO ₃) ₂ 10 ⁻¹⁰ M 48 h	0.283 ± 0.003

Tabla 3. Resultados del Test enzimático con Glucosa oxidasa y el electrodo de Clark

En primer lugar, los resultados obtenidos nos vuelven a indicar que el papel ha sido degradado satisfactoriamente. Y en segundo lugar, que la actividad enzimática es menor, en papeles tratados durante más tiempo con la solución de algas. Esto significa que los papeles tienen una degradación menor y que las algas *Spirulina* Subsalsa con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 10^{-10} M tienen un efecto reparador en el papel. Sin embargo, el mercurio es un metal altamente contaminante y uno de los objetivos de esta tesis, es la reducción de la toxicidad en los tratamientos de restauración.

II Utilización de enzimas para consolidar materiales celulósicos

El principal objetivo de este estudio era encontrar una enzima capaz de consolidar los materiales celulósicos como el papel, textil... En Roma no se había conseguido aplicar directamente enzimas pero sí algas tratadas que consolidaban el papel. En el Laboratorio de Enzimología de la Universidad de Lyon1, se encontraron unos artículos donde sintetizaban celulosa a partir de enzimas hidrolíticas. Las celulasas, en contacto con el disolvente acetonitrilo, actuaban a la inversa de su naturaleza hidrolítica.

Este trabajo está basado en los artículos “Chemical synthesis of cellulose and cello-oligomers using a hydrolysis enzyme as a catalyst” y “Glycosidase-catalyzed synthesis of oligosaccharides through intermediate analogue substrates”^[437].

II.1 Aplicación de una solución enzimática

II.1.1 Preparación del material de los primeros ensayos de consolidación enzimática

Antes de fabricar y aplicar la solución enzimática, como la descrita en los artículos arriba citados, se seleccionaron los siguientes papeles para nuestros primeros ensayos:

- Papeles de 80 g/m² Claire Fontaine sin degradar (referencia)
- Papel fotodegradado con el “veterometro” durante 6 horas
- Papel fotodegradado con TiO₂ y la poli Light durante 6 horas

⁴³⁷ KOBAYASHI S., SHODA S., “Chemical síntesis of cellulose and cello-oligomers using a hydrolysis enzyme as a catalyst” *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 17 n° 6,1995, pp.373-379
SHODA S., FUJITA, M., KOBAYASHI S., “Glycanase-Catalyzed Síntesis of Non-natural Oligosaccharides” *Trenes in Glycoscience and Glycotechnology* Vol.10 n°. 54, 1998, pp.279-289.

-Papel degradado con el HCl 0,1M durante 30 min.

La solución enzimática, que ya se ha descrito en el capítulo de Métodos, estaba compuesta por la enzima hidrolítica celulasa y el disolvente acetonitrilo en una proporción de 1:5 enzima/solvente acetonitrilo. La concentración de la celulasa era de 5 mg/ml en tampón acetato 0,1 M pH 5,5.

Para las primeras pruebas se cortaron tres fragmentos circulares de cada tipo de papel preparado. Uno se deja sin tratar para tenerlo como referencia y poder compararlo con los papeles tratados, otro se pone en contacto con la solución enzimática descrita y el último trozo de papel se trata con la misma solución pero sin celulasa.

Este último tratamiento del papel se debía a que durante la investigación se tenía que comprobar si el efecto reparador de la solución enzimática era efecto de las enzimas o de otros componentes de esa solución.

- El método de actuación es el siguiente:

Depositar sobre cada papel 50 μ L de la solución enzima/solvente o sin enzimas, durante dos horas. Seguidamente realizar dos lavados con tampón fosfato 0,1 M durante 30 minutos cada uno. Y por último sacar la foto en la cámara CCD con el método enzimático de glucosa oxidasa y no el de HRP-His, porque estas pruebas las realizamos antes de mejorar el último sistema enzimático.

- Resultado:

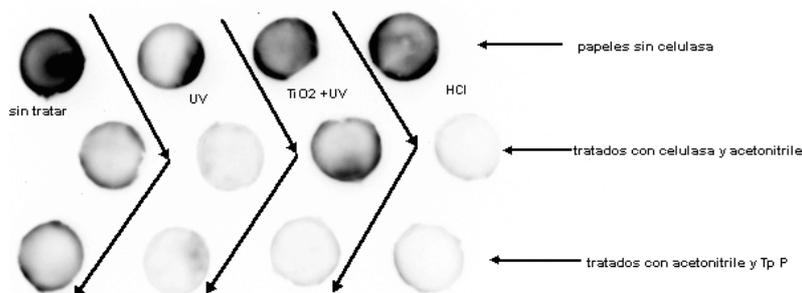


Figura 17. Fotografía de 5 minutos de exposición en la cámara CCD y una concentración de 0,04 mg/ml de GOD

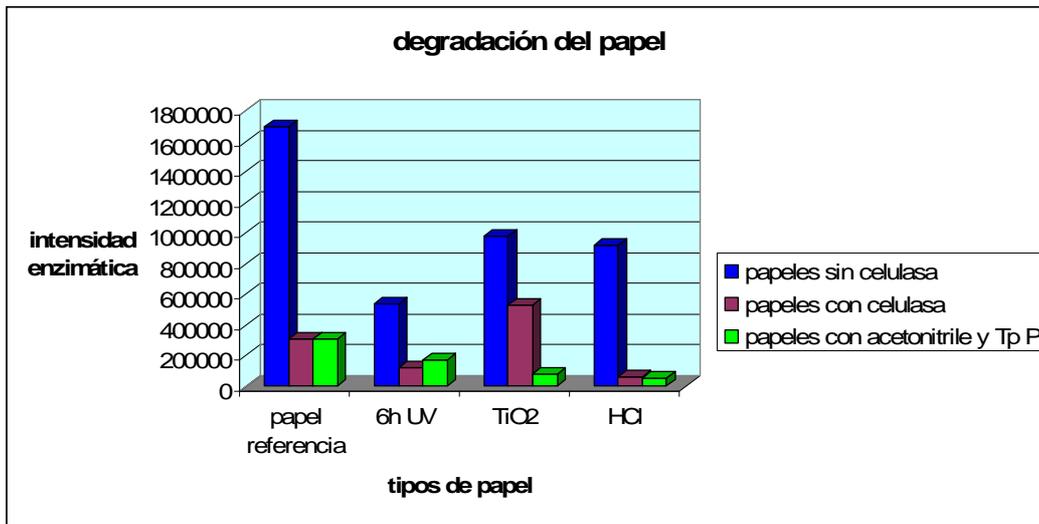


Gráfico 20. Resultados del tratamiento.

Los resultados del método enzimático continúan sin ser satisfactorios. Podría ser debido a una inhibición de la actividad enzimática por alguna causa que desconocemos. Además las condiciones climáticas influyen en su actividad, por lo que hay que tener sumo cuidado en conseguir una temperatura y grado de humedad constantes.

II.1.2 Pruebas con una solución enzimática y otra sin enzimas pero con una proteína.

Se verificaron que los efectos reparadores de la solución enzimática fueran debidos a las enzimas y no a otros productos. En esta ocasión se compararon los resultados de la solución con enzimas con otra solución, fabricada con una proteína *Album de Bovine serum* que sustituía la celulosa y que no debería producir ningún efecto.

Para conocer estos primeros resultados, se siguió utilizando el test enzimático con GOD porque aún no se había perfeccionado del todo el test HRP-His.

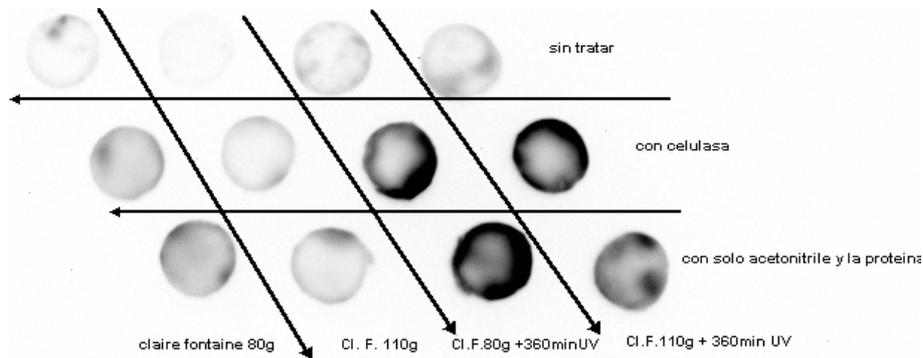


Figura 18. Fotografía de 5 minutos de exposición. 0,04mg/ml de GOD

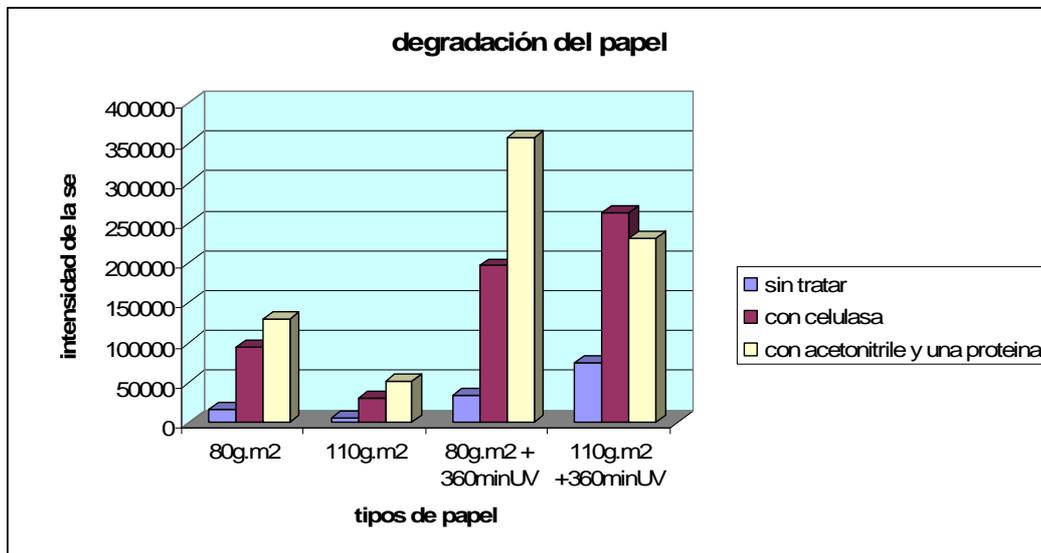


Gráfico 21. Resultados del tratamiento del papel. Aquí se observa cómo el papel tratado sin la enzima, aparece más degradado.

Por una parte, en este test vemos que el envejecimiento ha sido efectivo y que el test enzimático ha dado unos resultados acordes a la realidad.

Las pruebas demuestran que los papeles con un tratamiento sin enzima, están más degradados que los papeles con las enzimas. Es decir, los fragmentos expuestos al acetoneitrilo y la proteína están más degradados que los de celulasa, excepto para el papel de 110 g/m².

- **Repetición del proceso enzimático con y sin celulosas:**

En la siguiente prueba, ampliamos el número de fragmentos de papeles para poder comparar los diferentes papeles foto-degradados o no, con los papeles tratados con y sin celulosas. Los resultados pueden verse en la siguiente fotografía de la cámara CCD y el gráfico:

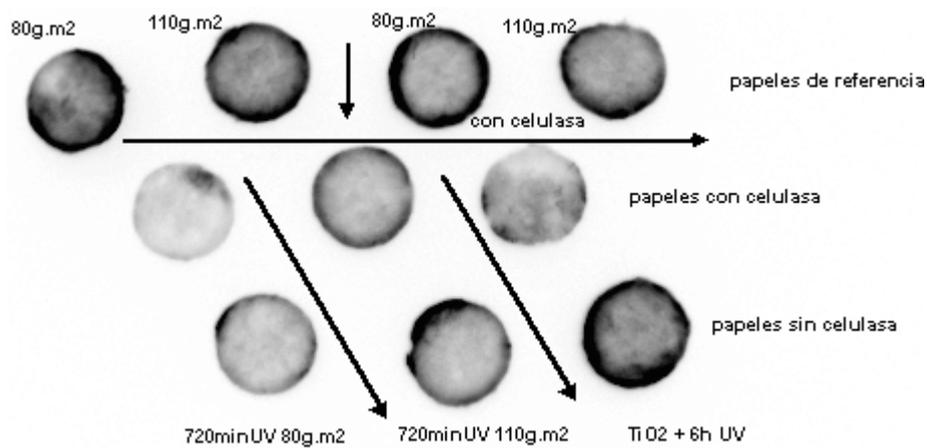


Figura 19. Fotografía de la cámara CCD.

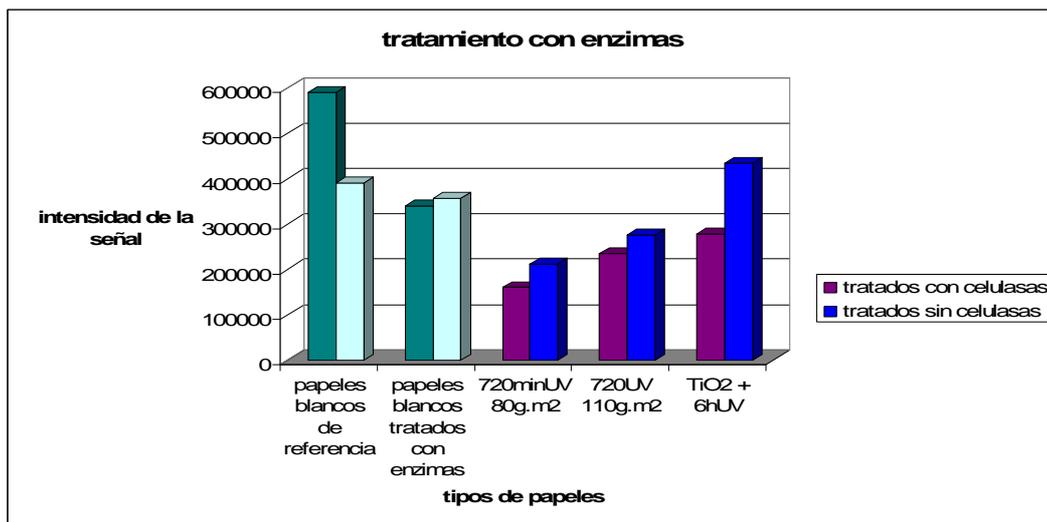


Gráfico 22. Resultados del tratamiento.

II.1.3 Pruebas con una solución con enzimas y otra con acetonitrilo

Se experimentó con una solución con las enzimas y otra, sin celulasas y con sólo acetonitrilo, para comprobar el efecto que tenían éstas sobre los papeles envejecidos y sin envejecer. Se usó el mismo test enzimático para conocer el resultado de las pruebas.

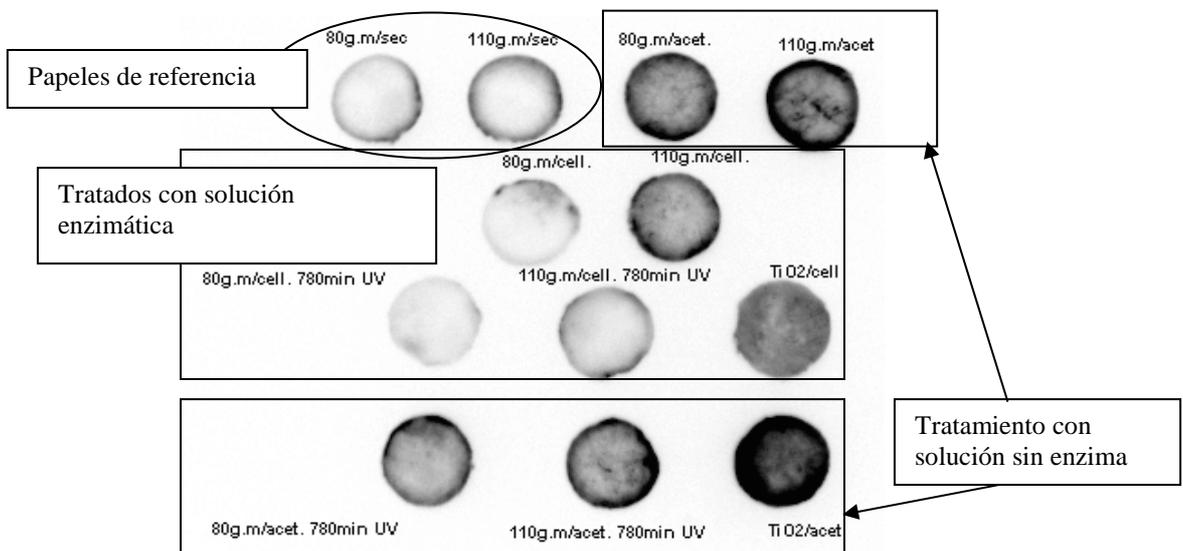


Figura 20. Fotografía de la cámara CCD. 30 segundos de exposición

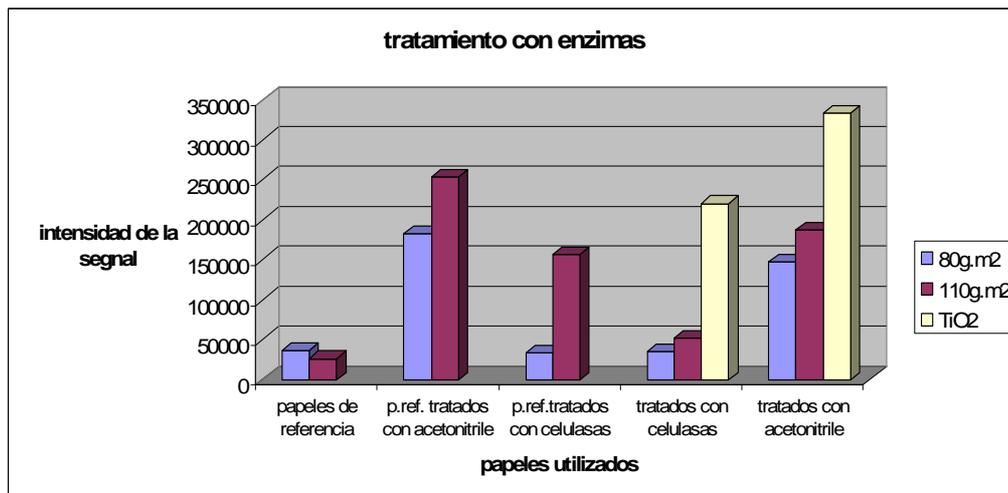


Gráfico 23. Resultado del tratamiento enzimático. Donde los papeles de referencia sin envejecer han sido tratados con acetonitrilo y con la solución enzimática. A parte, se envejecieron tres papeles y se expusieron a la solución de celulasas y a la de acetonitrilo. Se observa que los papeles tratados con celulasas están menos envejecidos que con acetonitrilo.

Se observa que los papeles tratados están más envejecidos que los papeles de referencia. No obstante, los papeles tratados con la solución de celulasas están siempre en mejor estado que los expuestos a la solución de acetonitrilo sin enzima.

- Repetición de la misma prueba con fallo en la preparación:

En el siguiente test, algunos trozos de papel quedaron por error fuera de la solución de níquel cuando se estaba preparando el test enzimático para medir la degradación de la celulosa. Esto se observa en los papeles con un lateral más oscuro.

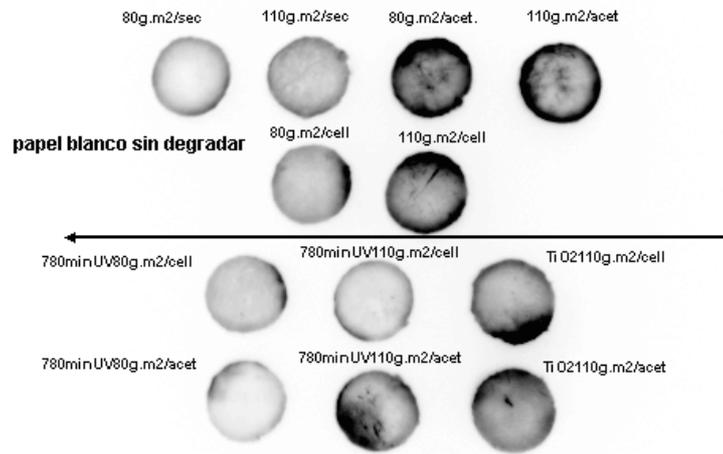


Figura 21. Fotografía cámara CCD, exposición de 30 segundos.

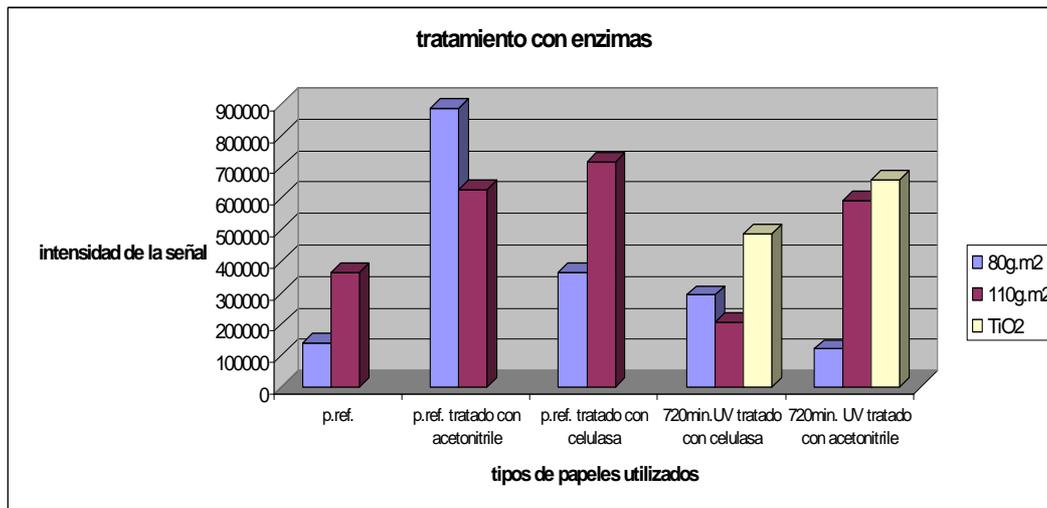


Gráfico 24. Resultados del tratamiento enzimático

II.1.4 Resultados de las pruebas con el nuevo sistema enzimático HRP-His

Los ambiguos resultados obtenidos en pruebas anteriores provocaron que se desarrollase otro método enzimático para medir la degradación de la celulosa con la enzima peroxidasa- histidina. Tras comprobar que el test funcionaba, se aplicó a los papeles tratados con nuestra solución enzimática y se verificó que su efecto consolidaba las probetas de papel.

- Descripción de la prueba

Sobre cada membrana de papel será depositada una nueva solución compuesta por 400 μ l de acetonitrilo, 100 μ l de tampón acetato 0,05 M pH 5,5, 25 μ l de celulasa 5 mg/ml con tampón acetato pH 5,5 y 25 μ L de glucosa-1-fosfato 0,1 M con tampón acetato pH 5,5.

Para los primeros ensayos se dejó actuar la solución enzimática 20 horas. Seguidamente se realizaron dos lavados rápidos con agua destilada y otros dos con 1mL de agua destilada durante 20 min.

Los papeles seleccionados y empleados para estas pruebas son los de Claire Fontaine de 80 g/m^2 y de 110 g/m^2 envejecidos previamente con rayos ultravioleta durante 360 min.

- Resultados:

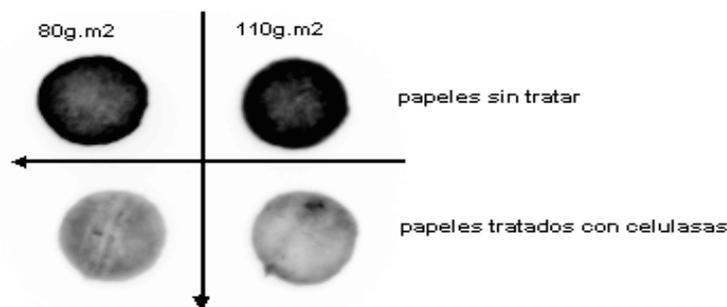


Figura 22. Fotografía CCD. Tratamiento enzimático

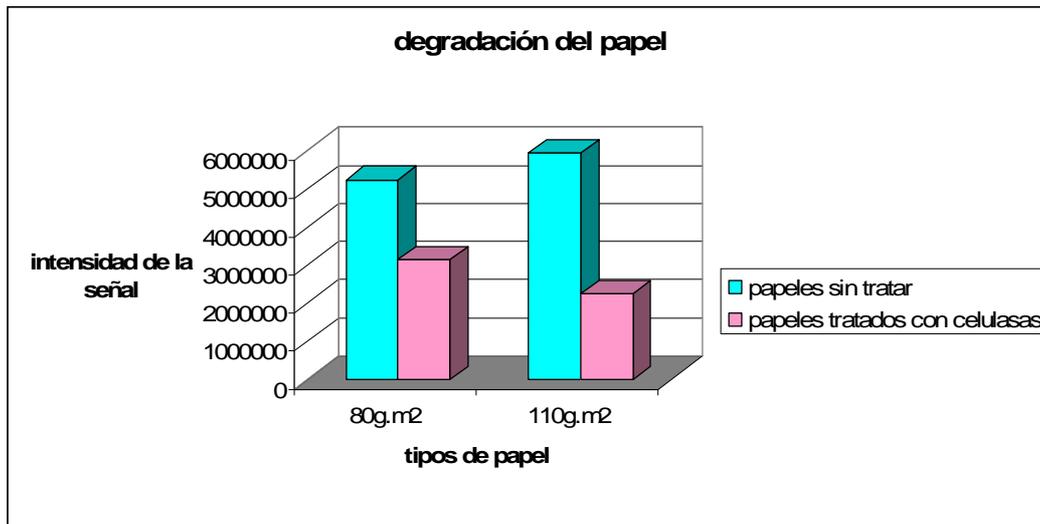


Gráfico 25. Resultados del tratamiento con celulasas. Se compara el efecto de la solución de celulasas en un papel de 80g/m2 y 110g/m2.

Aparentemente, en este último test con la enzima HRP-His, el papel ha sido reparado. Existen dos posibilidades para este resultado: el papel efectivamente ha sido reparado o el test no funciona bien. Para verificar la fiabilidad de este método de análisis y nuestro tratamiento enzimático de consolidación, realizamos múltiples pruebas.

II.1.5 Verificación del efecto de la celulasa con el test HRP-His

Los resultados con el test enzimático con GOD a veces eran buenos y otras veces decepcionantes porque el papel aparecía con una degradación excesiva en las fotografías de la cámara CCD. Por este motivo volvimos a repetir las pruebas del tratamiento con y sin enzimas, pero esta vez empleamos el test HRP-His para observar la degradación del papel, y saber si los resultados anteriores eran debidos al tratamiento enzimático de las enzimas celulasas o era debido al mal funcionamiento del test enzimático para conocer la degradación de la celulosa.

El tiempo de aplicación del tratamiento con y sin enzimas fue de 2 a 4 horas. Observamos que cuanto más prolongado era el tratamiento más debilitadas

físicamente se encontraban las fibras de celulosa. Debido al debilitamiento físico que presentaban los papeles tras las 4 horas de tratamiento.

Resultados:

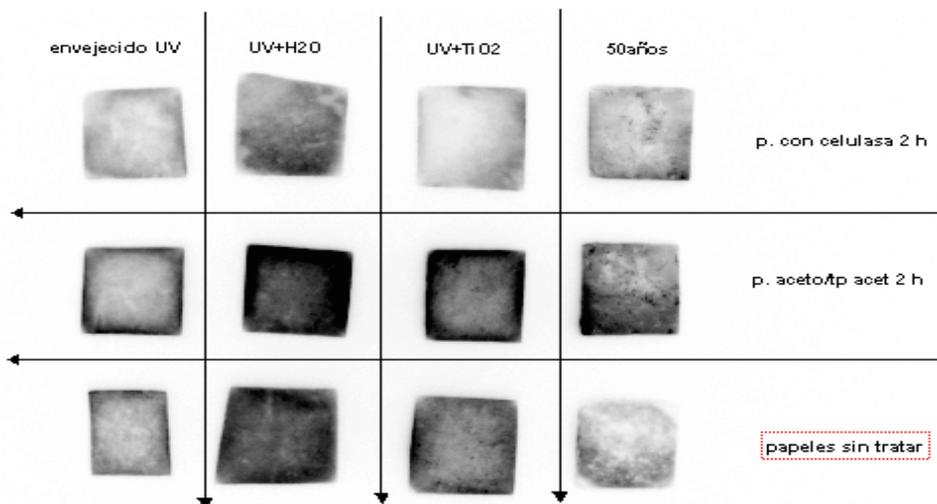


Figura 23. Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición

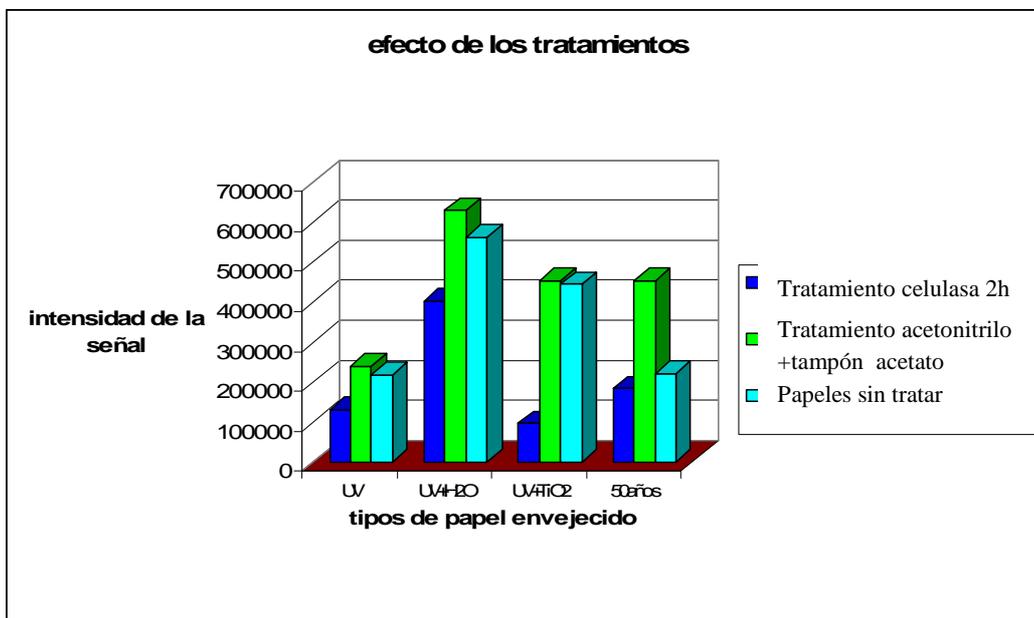


Gráfico 26. Resultado del tratamiento

En todos los papeles se observa el efecto reparador de las celulasas, demostrando así que sin las enzimas es imposible reparar el papel.

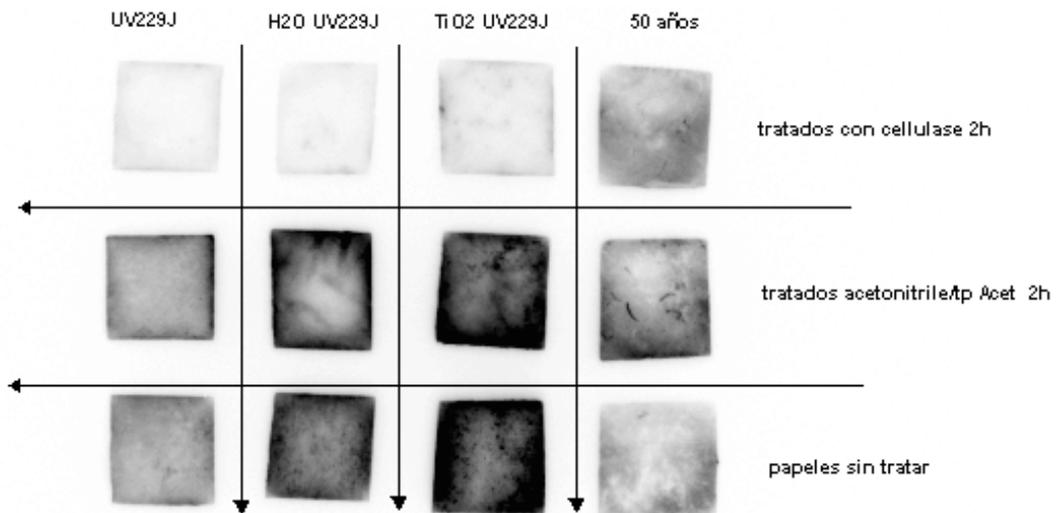


Figura 24. Fotografía 20 segundos de exposición en la cámara CCD.

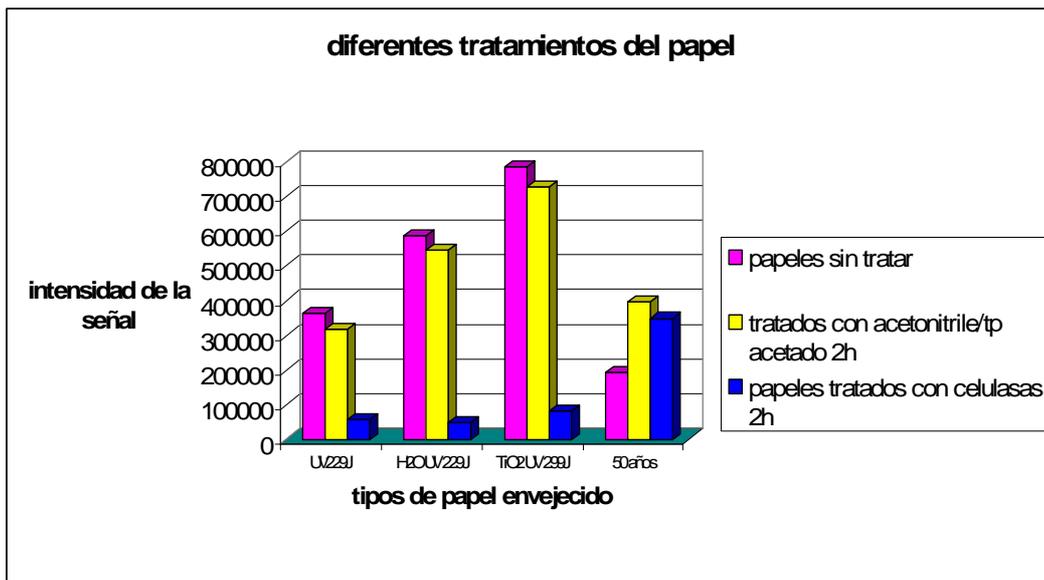


Gráfico 27. Resultados de los tratamientos

Los resultados muestran que son necesarias las celulosas para llevar a buen término la consolidación; pero se ve que en algunas ocasiones, como por ejemplo en el papel de 50 años, la membrana expuesta a las enzimas está más degradada que la membrana de referencia (papel envejecido). Puede que alguna sustancia presente en el papel de 50 años, inhiba la actividad enzimática.

II.1.6 Variación en las proporciones de solvente y tampón

II.1.6.1 Primeras variaciones

Las proporciones empleadas hasta el momento para preparar la solución enzimática, son las mismas que utilizan en el artículo de KOBAYASHI y SHODA ^[438]. En los siguientes ensayos se van a variar esas proporciones para conocer su efecto en la celulosa. Por una parte se aplicarán 100 μ L de acetonitrilo y 400 μ L de tampón acetato sobre una membrana celulósica, y en otra, 200 μ L de acetonitrilo y 300 μ L de tampón acetato. Los resultados son los siguientes:

100 acet/400 tp

200 acet/300 tp

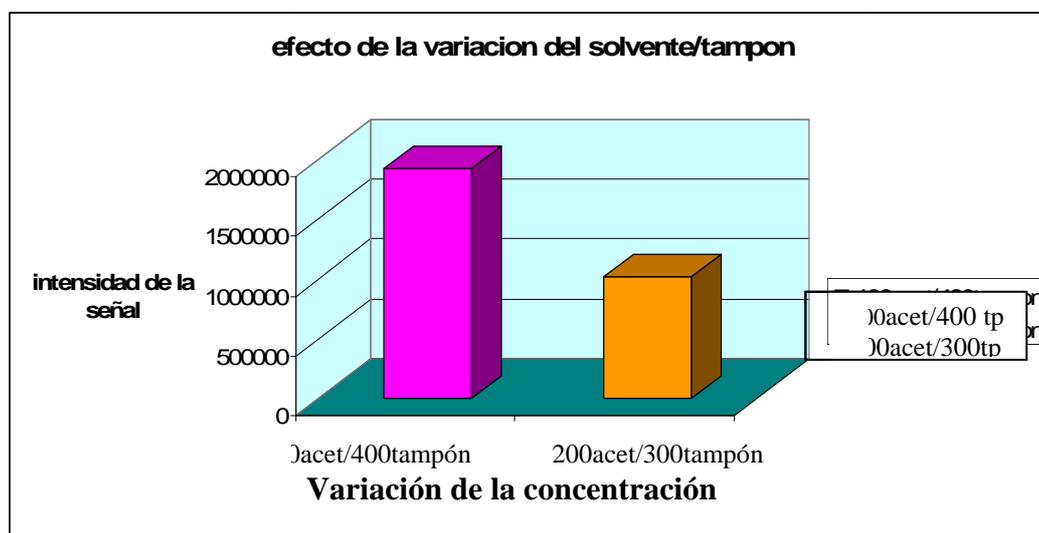


Gráfico 28. Resultados del tratamiento en los fragmentos de papel. Aquí se ha variado las proporciones de disolvente y tampón y, se observa que cuanto más acetonitrilo, menos degradado está el papel.

⁴³⁸ KOBAYASHI S., SHODA S., “Chemical síntesis of cellulose and cello-oligomers using a hydrolysis enzyme as a catalyst” *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 17 n° 6,1995, pp.373-379

II.1.6.2 Otras variaciones de las concentraciones

Realizamos varios cambios para observar cuál de todas las concentraciones del solvente/tampón obtenía mejores resultados. Las concentraciones fueron de 450 μ L de disolvente acetonitrilo y 50 μ L de tampón acetato. La aplicación de esta concentración duró entre 4 y 6 horas sobre papeles de más de 50 años.

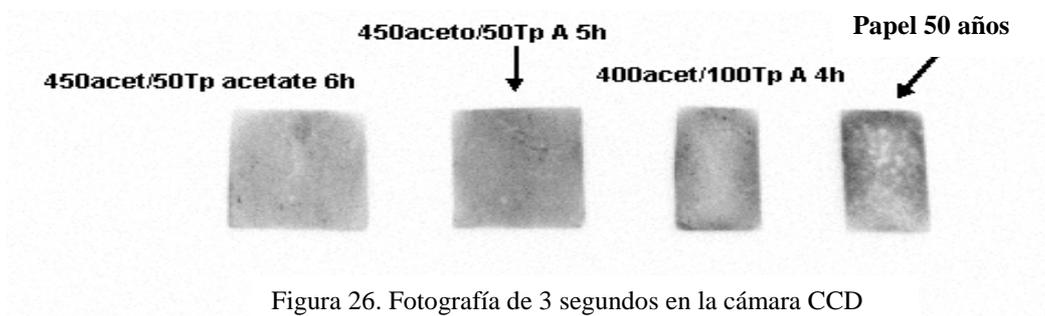


Figura 26. Fotografía de 3 segundos en la cámara CCD

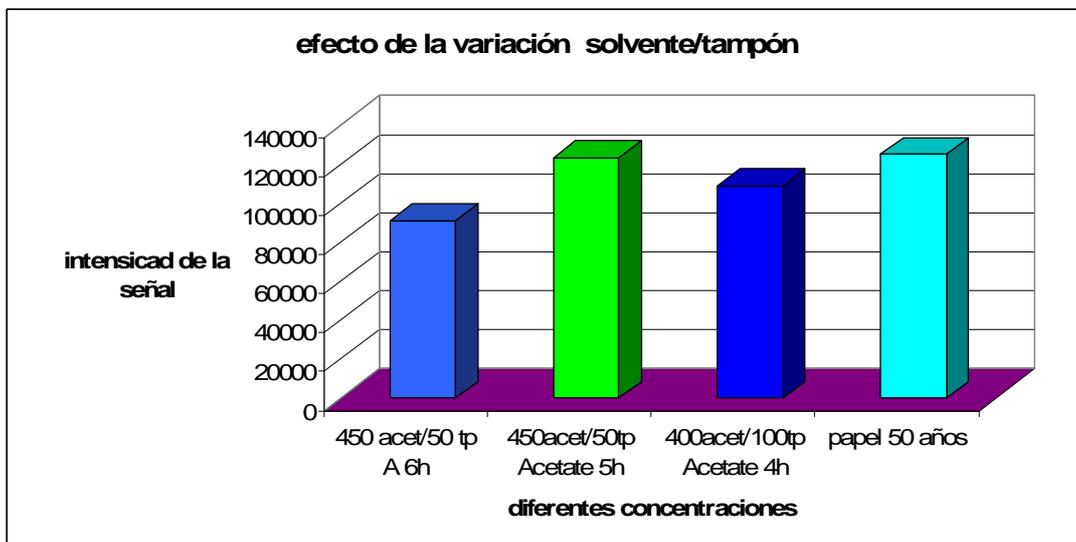


Gráfico 29. Efecto de las variaciones en el solvente y el tampón. En este caso, se ve que el papel expuesto 6 horas a 450 μ l/50 μ l de tampón acetato tienen el mejor resultado.

Observaciones

Los resultados demuestran que el responsable de que las celulasas (hidrolasas) trabajen a la inversa de su naturaleza es el acetonitrilo. Cuando la concentración del solvente disminuye, las celulasas trabajan más como hidrolasas. Debido a esto la

proporción del solvente en la solución enzimática es muy importante para realizar una consolidación. Y la proporción de solvente y tampón hasta ahora utilizada es la más adecuada.

II.1.7 Duración del tratamiento enzimático

En este punto de la investigación y después de haber comprobado la concentración de tampón y disolvente más adecuado, era necesario conocer el tiempo de tratamiento enzimático correcto. Por este motivo, se expusieron los papeles durante diferentes tiempos: media, una, dos y cuatro horas.

- Tiempo de tratamiento de media, una y dos horas

Los papeles para esta prueba fueron tratados con la solución enzimática durante media, una y dos horas. La fotografía fue sacada con la cámara CCD y los resultados son los siguientes:

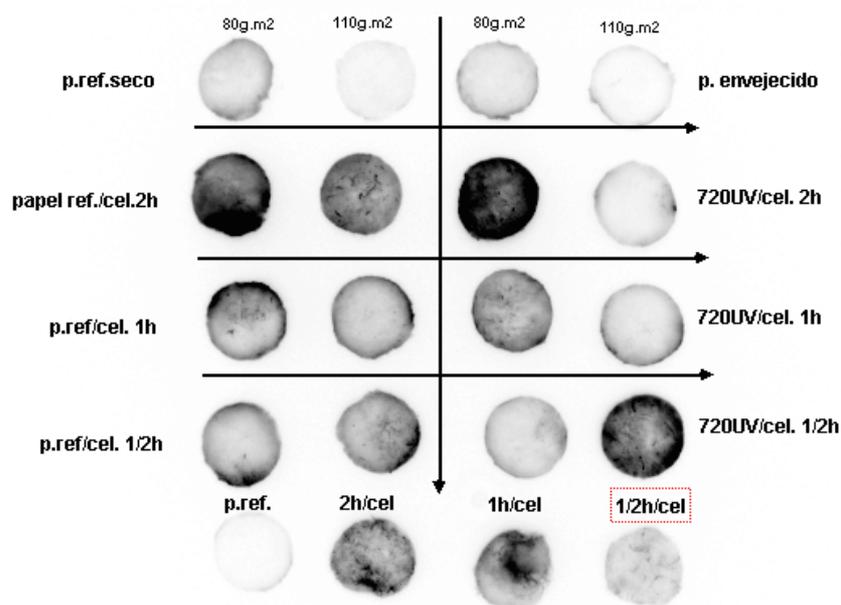


Figura 27. Fotografía de la cámara CCD

El gráfico siguiente muestra los resultados del método enzimático y la cámara CCD:

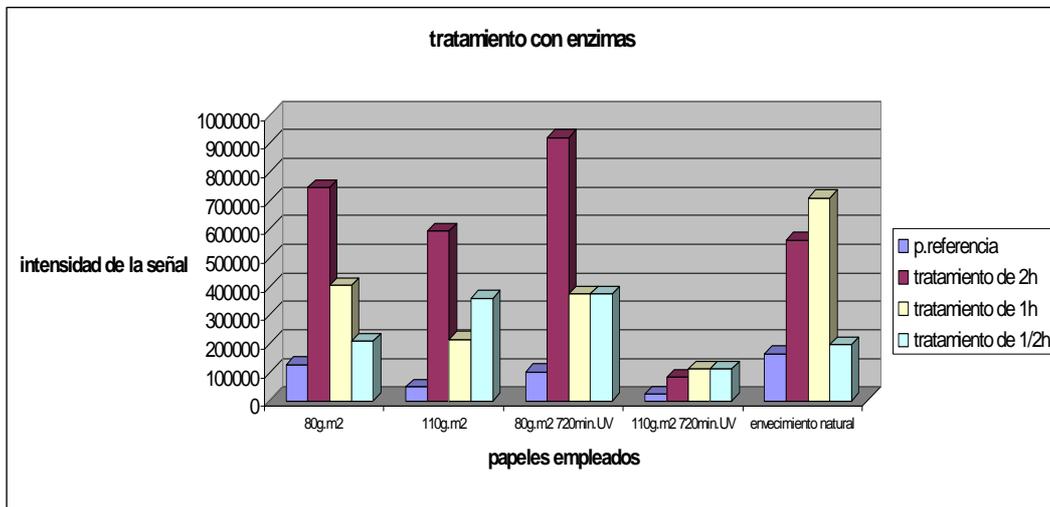


Gráfico 30. Resultado del tratamiento enzimático durante diferentes tiempos.

Los resultados son un tanto ambiguos. Cuanto más expuesto está el papel a la solución, más degradado se encuentra este con respecto al papel de referencia. Se repetirán la prueba con más tiempos.

- **Tiempo de tratamiento de una, dos y cuatro horas**

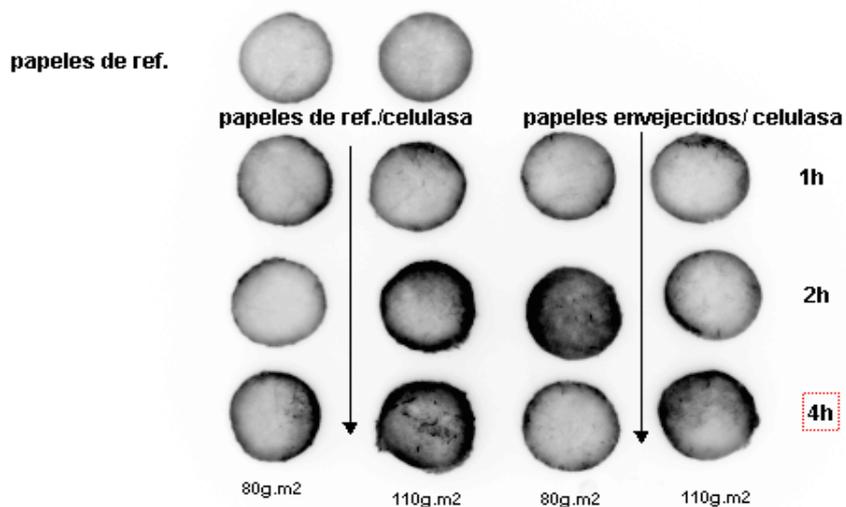


Figura 28. Fotografía de la cámara CCD.

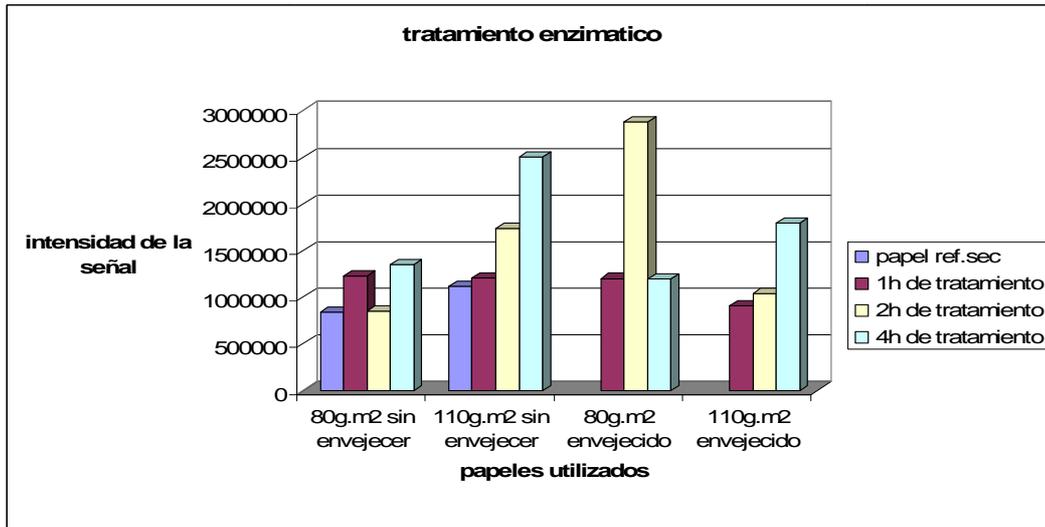


Gráfico 31. Resultados de la repetición del tratamiento con diferentes tiempos.

- **Repetición de la prueba:**

Se volvió a variar los tiempos para conocer el más idóneo para consolidar el papel. Se aplicó la solución enzimática durante una, dos y cuatro horas. El test enzimático para conocer la degradación del papel es el de GOD y no el de HRP-His

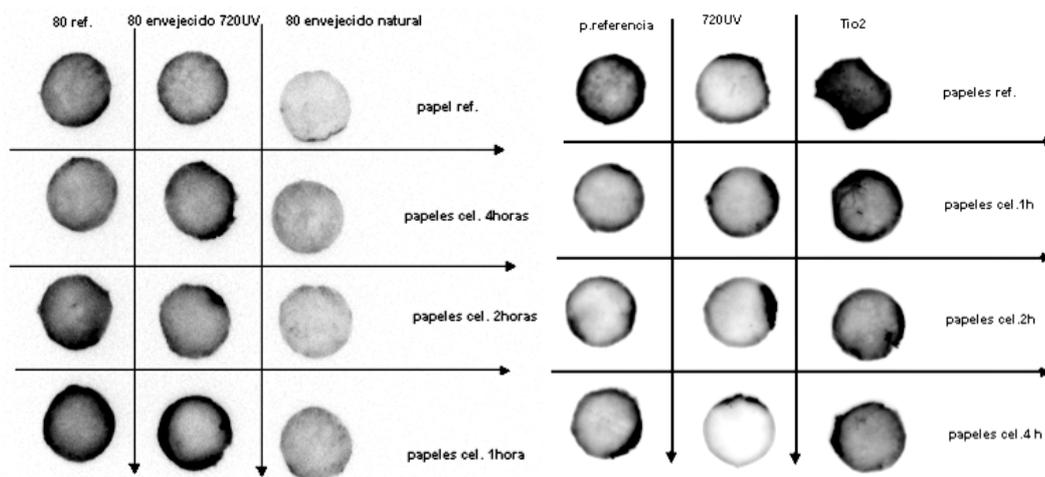


Figura 29 (izquierda). Fotografía de 10 segundos en la cámara CCD.
 Figura 30 (derecha). Fotografía de 30 segundos de exposición en la cámara CCD.

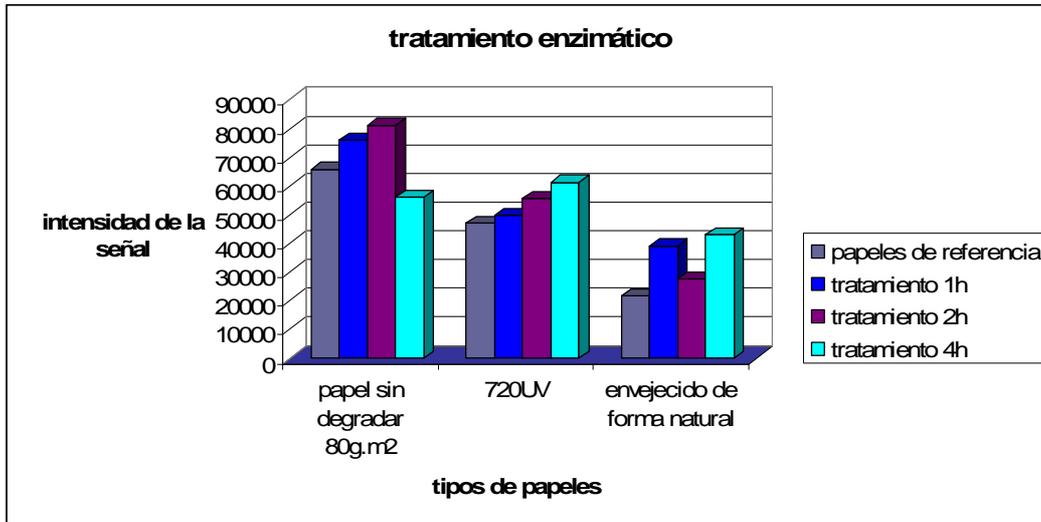


Gráfico 32 de la figura 29. Resultados de la aplicación de la solución durante 1, 2 y 4 horas. Parece en algunas ocasiones que cuanto mayor es el tiempo de tratamiento, mayor es la degradación del papel.

El gráfico muestra que el tratamiento enzimático sigue sin funcionar. Además cuanto mayor es el tiempo de contacto del papel con la solución enzimática, mayor es la degradación física del papel que no se puede ver en los gráficos.

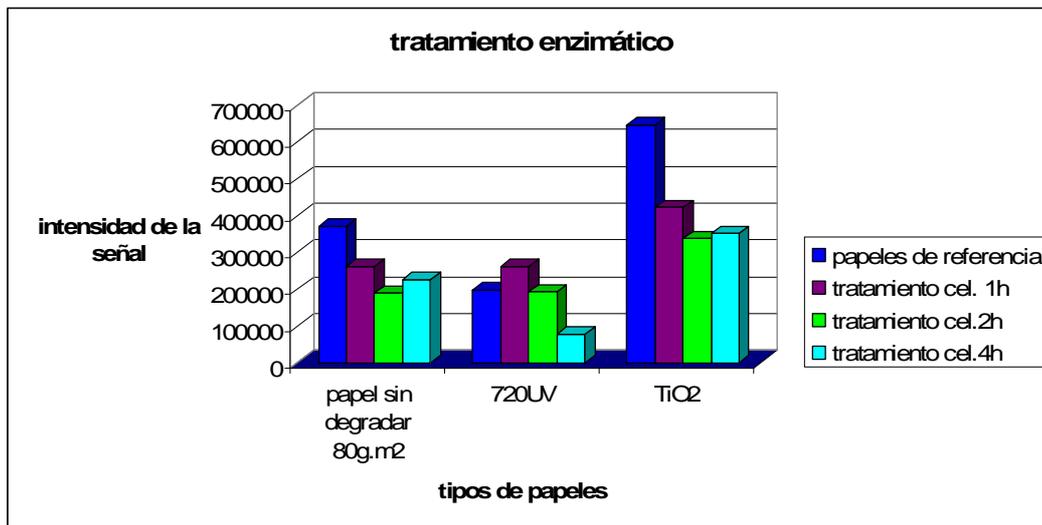


Gráfico 33 de la figura 30. Resultados del tratamiento enzimático.

En esta última prueba, el tratamiento repara más o menos el papel, pero aún se deben investigar las causas exactas de las variaciones en la actividad enzimática de las celulasas.

Observaciones:

Los resultados obtenidos en las múltiples pruebas realizadas para averiguar el tiempo de tratamiento enzimático más adecuado han sido decepcionantes, y sobre todo los días de mayor temperatura, excepto para el último test. Además, físicamente los fragmentos de papel estaban muy deteriorados. Cabe la posibilidad de que sea debido a los múltiples lavados o a un efecto hidrolítico de nuestro tratamiento causado por la actividad enzimática. De todas formas los resultados obtenidos en la cámara CCD difieren de vez en cuando con el verdadero estado del papel, y por eso es indispensable mejorar nuestro test enzimático.

II.1.8 Celulasas más apropiadas para la consolidación celulósica

Existen en el mercado diferentes tipos de celulasa –diferente marca, diferente procedencia-. La próxima prueba trata de testar dos tipos de celulasa para averiguar, cuál de las dos es la más apropiada para consolidar el papel. Por una parte se tenían las celulasas de Sigma y, por otro lado, las de Fluka.

Resultados tras el tratamiento enzimático de consolidación:

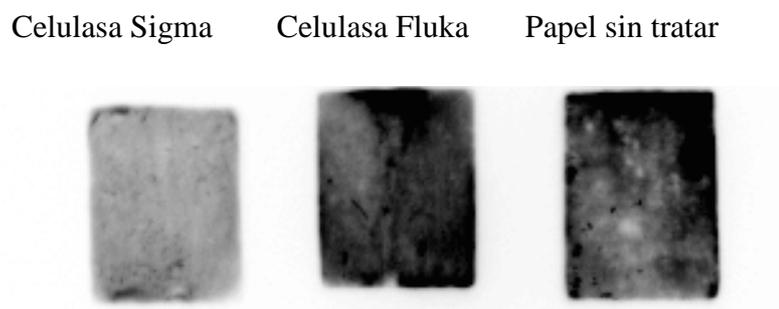


Figura 31. Fotografía de la cámara CCD.

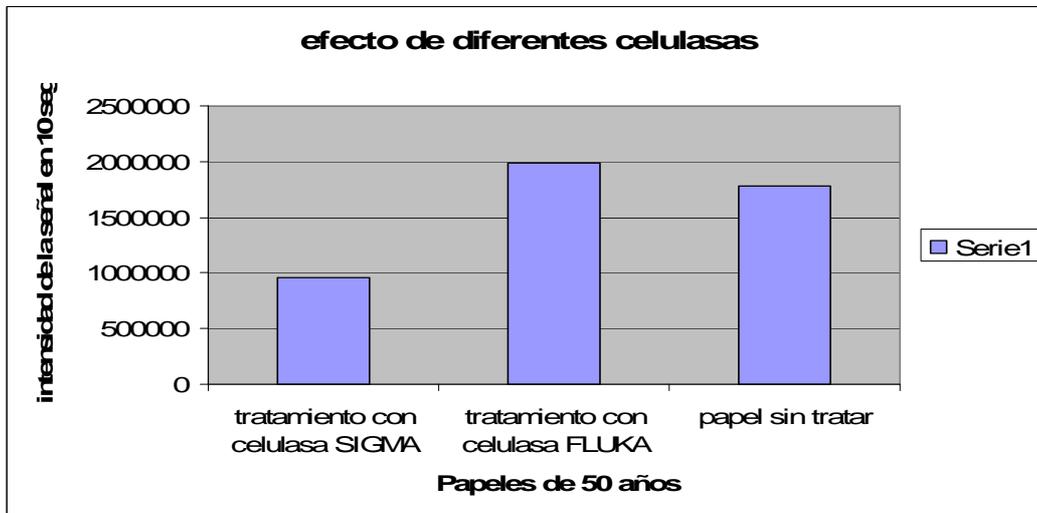


Gráfico 34. Resultado de la consolidación con diferentes enzimas

Los resultados revelan que el tratamiento con las celulasas de la casa SIGMA obtienen una mejora del estado de nuestras fibras. Por lo tanto, se desechan las hidrolasas de la casa FLUKA y a partir de este momento se emplearán siempre las de SIGMA, por ser más convenientes para nuestro tratamiento de consolidación de celulosa.

II.1.9 Efecto de las sustancias del entorno en los papeles

Tras diversos test enzimáticos con la cámara CCD para conocer la degradación de la celulosa, los papeles de referencia que no habían sido tratados con celulasas, daban unos resultados un tanto erróneos a la hora de medir su degradación. Por este motivo fue planteada la posibilidad de que los papeles fueran contaminados por alguna sustancia química del laboratorio que estuviese en el aire. Para averiguar si esto era cierto, algunos papeles fueron conservados al vacío y posteriormente se compararon sus resultados del test enzimático con los papeles que no habían sido conservados al vacío.

Los resultados fueron los siguientes:

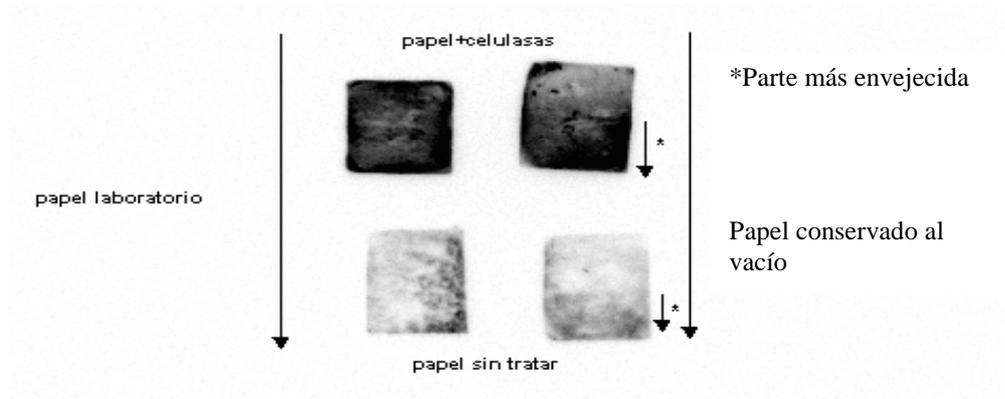


Figura 32. Fotografía de la cámara CCD. 10 segundos de exposición.

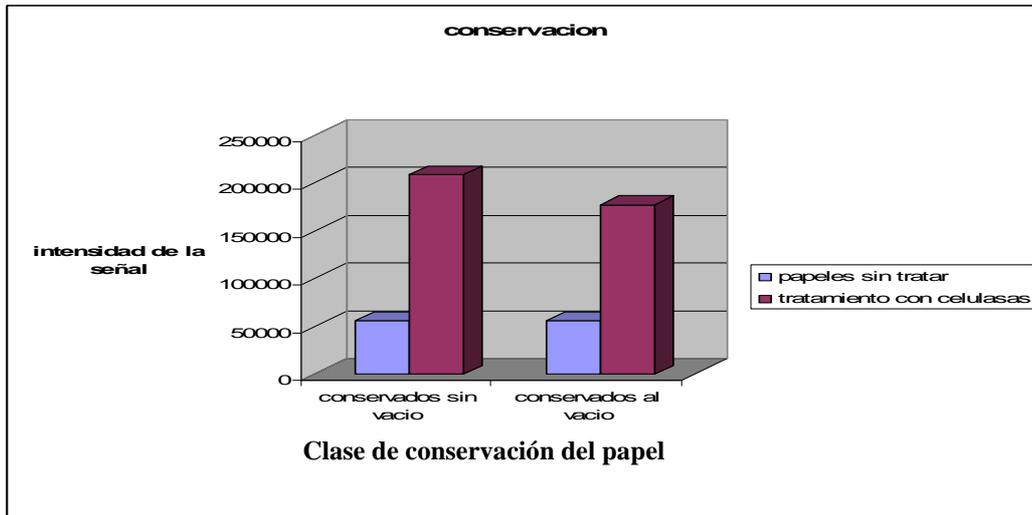


Gráfico 35. Resultado del tratamiento enzimático. Los papeles tratados con celulasas tienen una mayor degradación.

Los resultados muestran una pequeña diferencia entre el papel conservado al vacío y el papel conservado en el laboratorio. Pero este resultado no es concluyente. Se repiten las pruebas a un papel conservado al vacío, otro en el laboratorio y al papel de referencia (papel sin tratar):

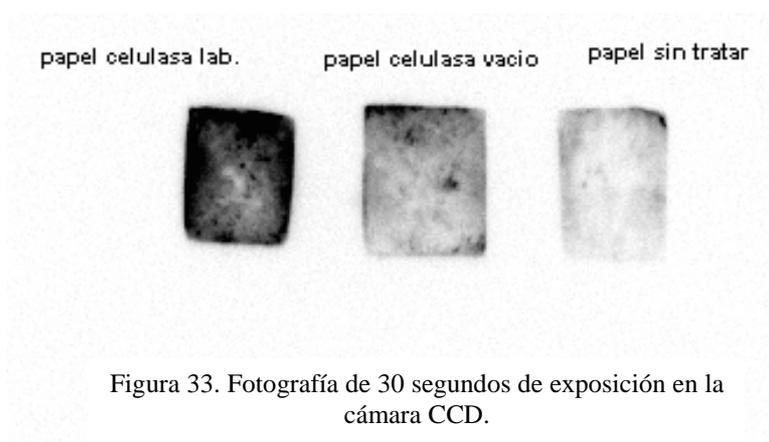


Figura 33. Fotografía de 30 segundos de exposición en la cámara CCD.

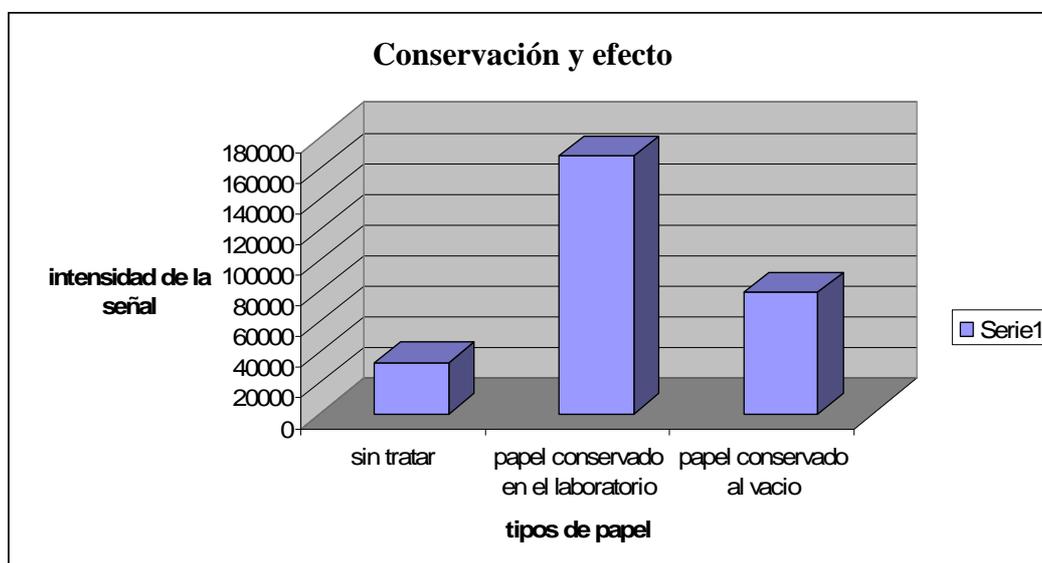


Gráfico 36. Resultados del tratamiento enzimático en papeles de diferente conservación

Los resultados revelan otra vez, que los papeles conservados al vacío son menos degradados por las celulasas. Pero la intensidad de la señal sigue siendo superior a la del papel envejecido sin tratar, lo que significa que está más degradado que el papel original.

II.1.10 Lavados e inhibidores de celulasas

Los resultados de los test seguían siendo variables; podía ser por el tratamiento enzimático con celulasas, por la climatología ambiente, por sustancias

inhibidoras...y por un efecto posterior al tratamiento que permitiese que las celulasas volviesen a hidrolizar en vez de reparar. Por esto, se dedujo que los lavados posteriores eran realmente una parte muy importante para el éxito de nuestro tratamiento y decidimos investigar más a fondo el efecto de los lavados tras la consolidación enzimática y averiguar los posibles inhibidores de este tipo de enzimas.

Estudios realizados ^[439] en el pasado, demostraron que la aplicación de quelantes activos, DHA y AMU y sus complejos metálicos de Cu(II) inhibían las celulasas al acoplarse a su centro activo. En otros estudios (Mandels y Reese, 1963) empleaban lactonas, glucolactonas, formaldehidos, reactivos carbonilo, agentes oxidantes y (Jermyn, 1952) agentes complejos como la 8-hidroxi quinolina e iones de metales pesados.

Investigaciones posteriores ^[440] demuestran que dos lavados son suficientes para eliminar el 99 % de la enzima, por lo que no es necesario utilizar inhibidores.

II.1.10.1 Lavado con el solvente y el tampón

Los resultados anteriores mostraban que los papeles tratados tenían una degradación superior a los no manipulados. Debido a esto, se pensó que mientras efectuábamos los lavados con agua, las enzimas podían trabajar como hidrolasas antes de ser eliminadas. Por lo que se decidió cambiar el agua por el solvente con el tampón, en la misma proporción que en la solución enzimática (400 µL de acetonitrilo y 100 µL de tampón acetato).

⁴³⁹ RAO et Al. "A non conventional method of wood preservation", *Journal of archaeological chemistry*, Vol. 4, 1986, p. 11-15

⁴⁴⁰ MEYER ANDREWS, Theresa et al. "An investigation into the removal of enzymes from paper following conservation treatment", *JAIC*, vol 31, n 3, 1992, p. 312-323

Resultados:

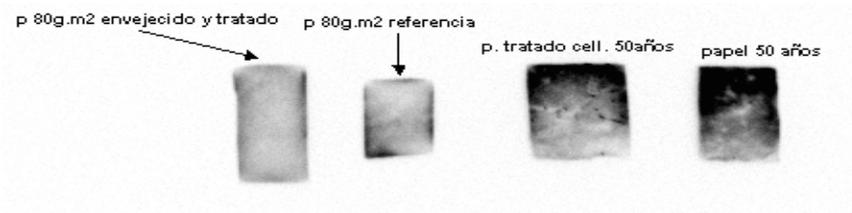


Figura 34. Fotografía CCD, 20 segundos de exposición.

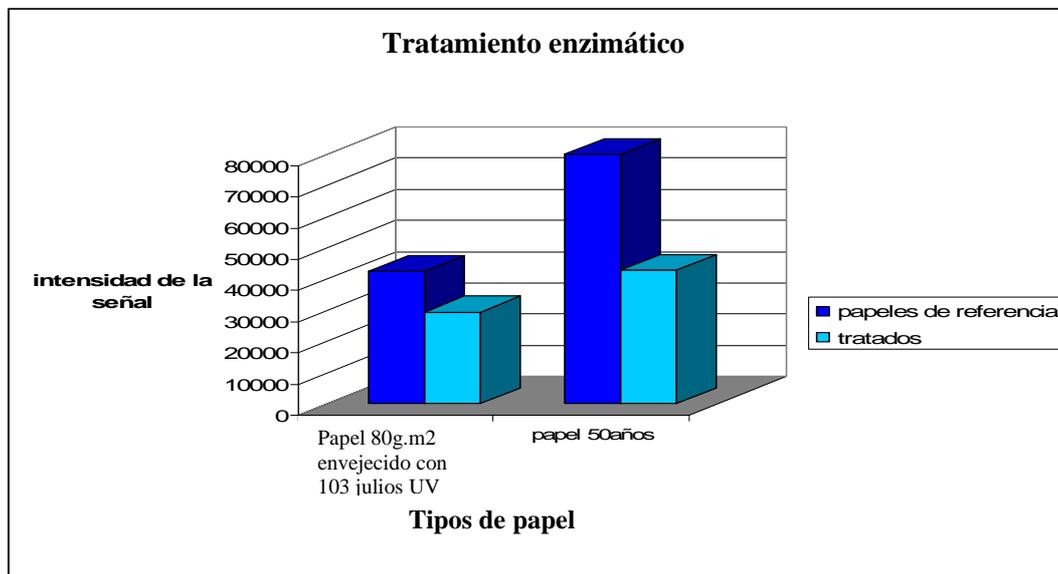


Gráfico 37. Resultados del tratamiento enzimático. Los lavados posteriores parecen tener el efecto deseado. Las enzimas han reparado el papel.

Se demuestra con esta prueba que la hipótesis de los lavados era cierta. Los lavados después del tratamiento con agua provocan que las enzimas hidrolicen la celulosa. Sin embargo, lavando el papel tratado, con la solución de 400 μ L de acetonitrilo y 100 μ L de tampón acetato arrastran las enzimas del papel sin ningún peligro. De todos modos, se repite la prueba.

- Repetimos las pruebas:

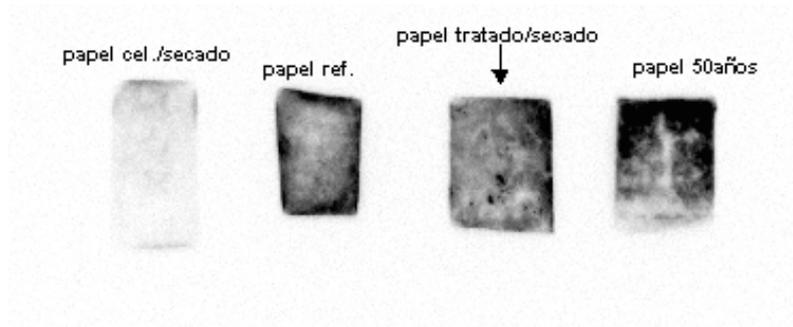


Figura 35. Fotografía de la cámara CCD, 20 segundos de exposición.

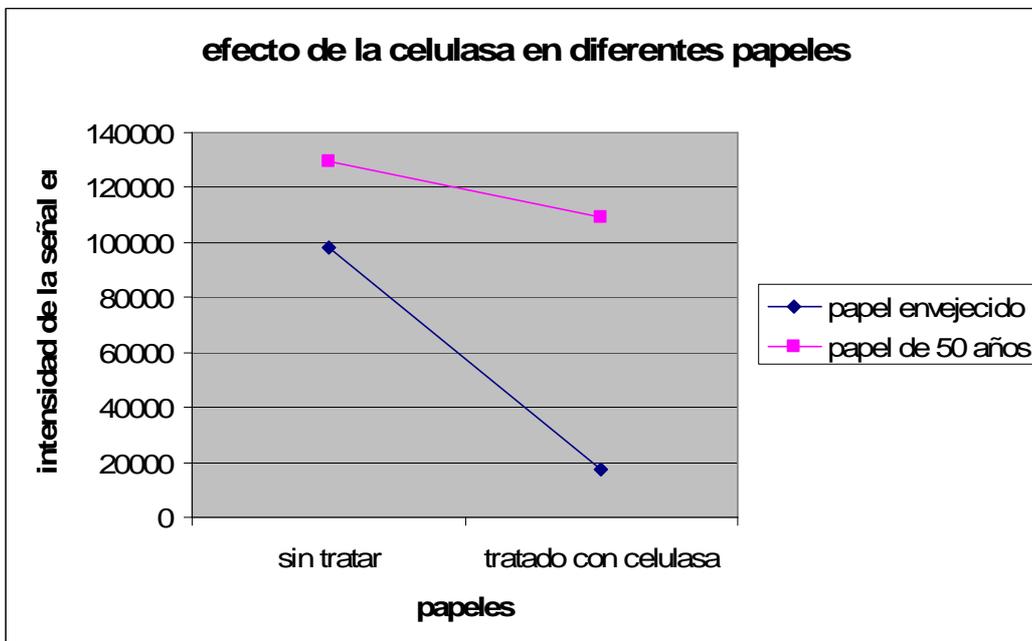


Gráfico 38. Resultados del tratamiento enzimático.

Tras los lavados con el solvente y el tampón, los papeles parecen reparados, según el test enzimático realizado. Por lo que los lavados después del tratamiento son realmente importantes para un buen resultado del tratamiento con celulasa.

II.1.10.2 Lavado con etanol

En las siguientes pruebas se va a utilizar el etanol como posible inhibidor de las enzimas. Se conoce su efecto perjudicial para las fibras, pero se quería comprobar si su uso era efectivo para desnaturalizar nuestras proteínas y obtener un resultado óptimo.

La concentración del alcohol en un primer momento será del 25% en tampón acetato y acetonitrilo, en esta primera prueba. Luego se irá rebajando la concentración.

Después del lavado se dejan secar los papeles un día, para no alterar los test enzimáticos de cámara CCD porque el alcohol puede inhibir las peroxidasas en este tipo de test.

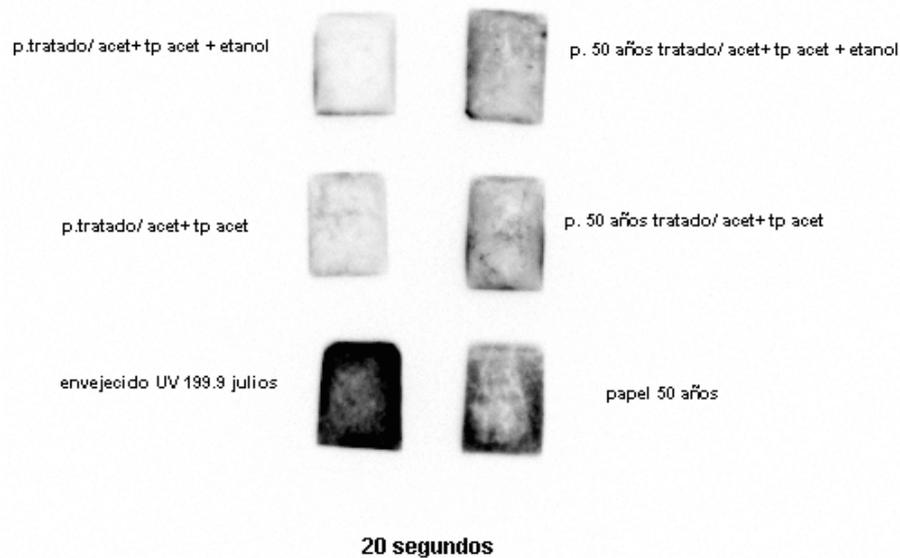


Figura 36. Fotografía de la cámara CCD, 20 segundos de exposición.

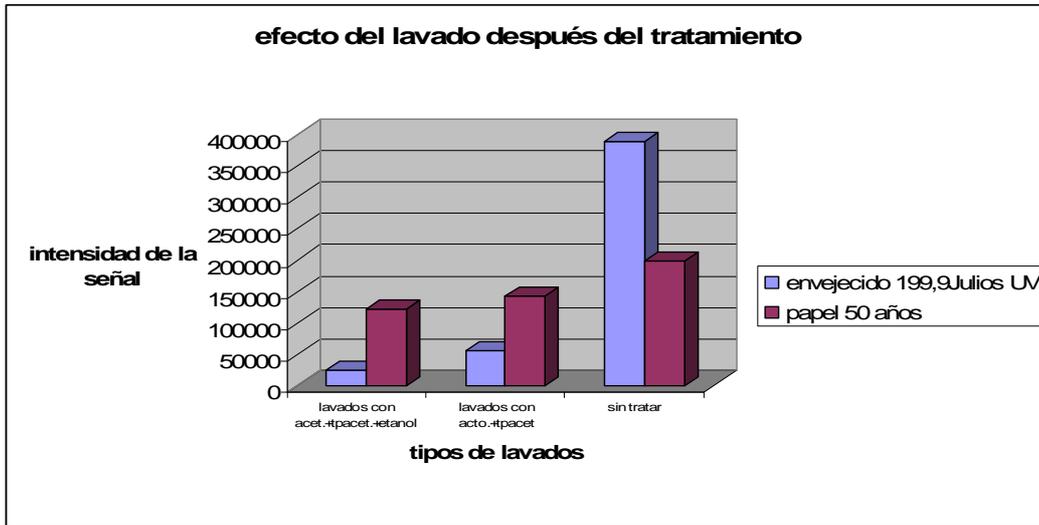


Gráfico 39. Resultados tras el lavado.

Los resultados dejan suponer que la utilización de etanol después del lavado, inhibe la degradación del papel por el efecto de las hidrolasas, pero su efecto a largo plazo puede reseca las fibras y degradarlas.

II.1.10.3 Comparativa de lavados etanol y tampón acetato con solvente

En la siguiente prueba fueron comparados los resultados obtenidos con los lavados efectuados sólo con etanol y los realizados con el tampón acetato y el solvente acetonitrilo en las proporciones ya mencionadas.

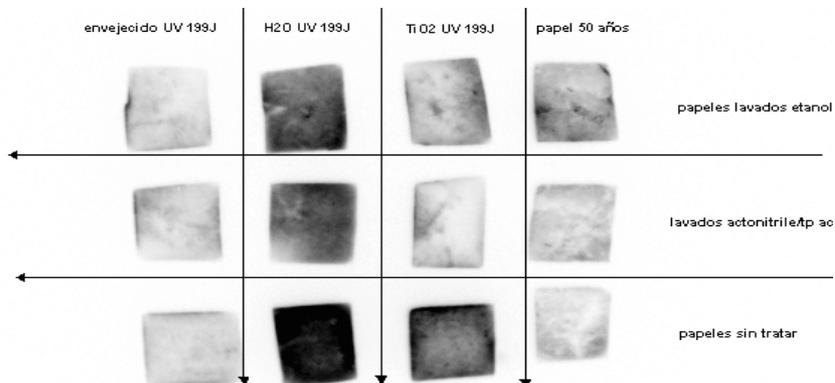


Figura 37. Fotografía de la cámara CCD, 20 segundos de exposición.

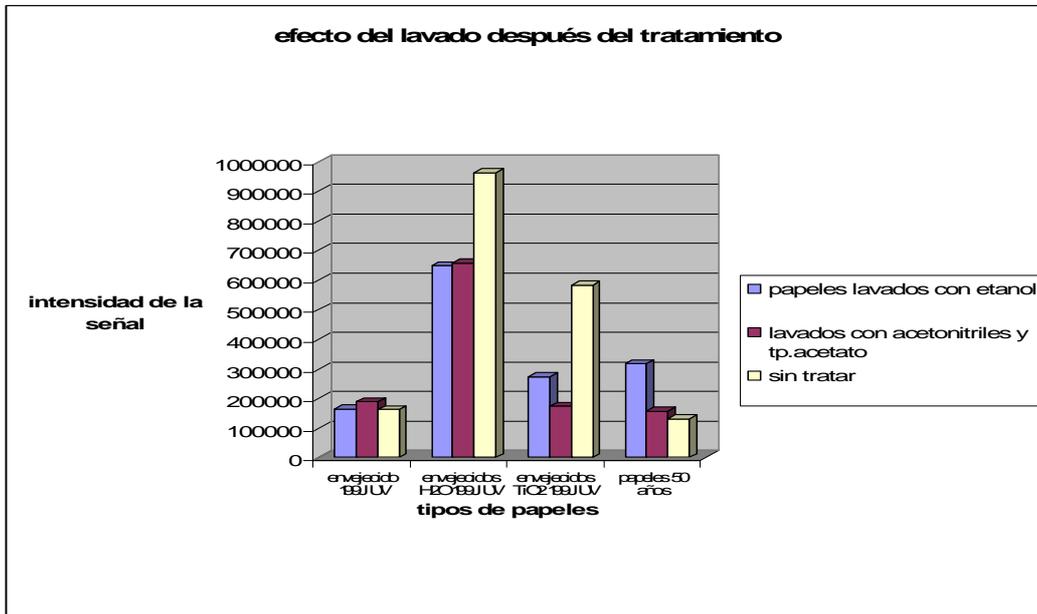


Gráfico 40. Resultado del efecto del lavado en el tratamiento. Se observan los efectos de los lavados sobre los papeles tratados con celulasas. El alcohol no parece mejorar el estado del papel e incluso en algunas ocasiones, el papel aparece más degradado.

Los resultados demuestran que lavar los papeles sólo con etanol no mejora en exceso los resultados e incluso degrada el papel. Por esta razón es recomendable arrastrar las enzimas con el solvente y el tampón para intentar eliminar la mayor parte de ellas del papel y, posteriormente empapar ligeramente el papel con etanol para desnaturalizar las que quedan. No obstante, estudios realizados por Dianne Van Der Reyden en 1992 y Teresa Meyer et al. en 1982 demostraban que el empleo de etanol era perjudicial para el estado físico del papel, por lo que su utilización es desechada como tratamiento por el momento.

III Gel enzimatique / Gel enzimático

L'activité enzymatique est dépendante de la climatologie de chaque jour. (Température ambiante, humidité relative). Pour cette raison nous avons décidé de mélanger les enzymes dans un gel, et éviter de cette manière les fluctuations excessives des facteurs externes et l'évaporation du solvant (qui représente également une toxicité élevée pour l'expérimentation).

Les gels employés en restauration sont normalement la méthylcellulose, la carboxyméthylcellulose ou l'agar-agar. Les deux premiers furent rejetés car ils sont des dérivés de la cellulose, et nous ignorons les possibles réactions au contact avec la cellulase. Par conséquent nous avons opté pour l'Agar-agar, inspirés de l'article de Nieves Valentín^[441].

En premier lieu nous allons préparer le gel, vérifier son activité réparatrice et déterminer les temps d'application optimum de ce gel.

La actividad enzimática varía según la climatología de cada día (temperatura ambiente, humedad relativa). Por esta razón se decidió usar un gel para controlar las fluctuaciones de temperatura y humedad relativa, y disminuir la velocidad de evaporación del solvente.

Los geles empleados en restauración suelen ser metilcelulosa, carboximetilcelulosa, agar-agar... Los dos primeros fueron descartados porque eran derivados de la celulosa y se desconocía como iban a reaccionar mezclados con celulasas. Así que se optó por el gel Agar-agar, basándose en el artículo de Nieves Valentín^[441].

En primer lugar se ha preparado el gel, comprobado su efectividad y observado cuáles son los tiempos de actuación.

⁴⁴¹ VALENTIN, N. et al. "Analyses of deteriorated Spanish glass windows: cleaning methods using gel systems" *Triennial meeting (11th), Edinburgh, 1-6 September 1996* ICOM. Committee for Conservation. Paris, France.1996, p. 851-856

III.1 Mise au point du gel / Puesta a punto del gel

La difficulté principale qui existe au moment de la préparation et surtout du mélange entre le gel et la solution enzymatique ^[442] repose sur la température, car il faut veiller à ce que le gel ne soit pas trop chaud pour ne pas dénaturer les enzymes, ni trop froid car s'il gélifie, il est impossible de réaliser un mélange homogène entre le gel et la solution enzymatique.

La concentration du gel est de 1%. (10 mg d'agar-agar chauffés avec 1 ml de H₂O à 80-100 °C). Ultérieurement, la température doit être abaissée à 30-35 °C et l'on doit alors ajouter la solution enzymatique sous agitation pour obtenir un gel homogène. Enfin, le récipient contenant le gel devra être bouché pour éviter l'évaporation du solvant pendant que celui-ci refroidit à température ambiante. Dans l'étude suivante nous allons voir ce qui arrive quand le gel est trop chaud au moment du mélange avec la solution enzymatique.

La dificultad que existe a la hora de la mezcla entre el gel y la solución ^[442] es la temperatura, ya que hay que controlar que el gel no esté ni demasiado caliente para desnaturalizar las enzimas, ni demasiado frío porque al gelificar no se puede realizar una mezcla homogénea entre el gel y la solución enzimática.

Para el experimento fue preparada una pequeña cantidad de gel al 1%. (10mg de agar-agar fueron calentados en 1mL de H₂O hasta 80-100 °C). Posteriormente, la temperatura debe descender hasta 35-36 °C y se añade la solución enzimática con un agitador magnético para obtener un gel homogéneo. Por último el contenedor del gel será tapado para evitar la evaporación del acetonitrilo, mientras éste se enfría a temperatura ambiente. En la siguiente prueba comprobaremos qué sucede cuando el gel está demasiado caliente.

⁴⁴² Solución de 400µL de acetonitrilo, 100µL de tampón acetato, 25 µL de glucosa y 25 µL de celulosa.

III.1.1 Résultats de l'application du gel / Resultados de la aplicación del gel

La technique employée pour connaître l'état de dégradation du papier après le traitement, sera le test HRP-His.

Les images suivantes nous permettent de mettre en évidence l'effet du gel enzymatique sur les papiers.

La técnica utilizada para conocer el estado de degradación del papel tras el tratamiento enzimático será el test HRP-His y la cámara CCD.

La fotografía siguiente muestra el efecto del gel enzimático en los papeles.

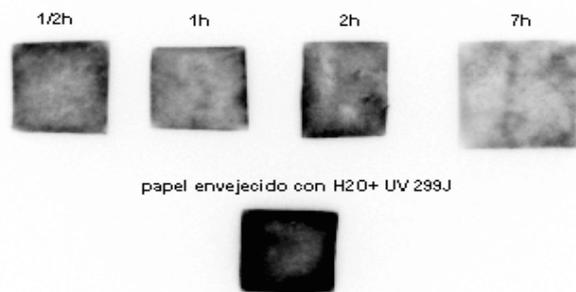
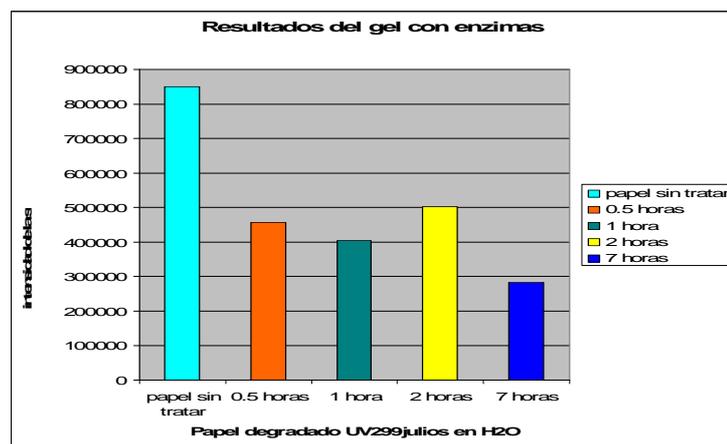


Figure 38/Figura 38. Photographie de la camera CCD. 15 secondes d'exposition./Fotografía de la cámara CCD. 15 segundos de exposición.



Graphique 41/ Gráfico 41. Résultat du traitement du gel./Resultado del tratamiento con el gel. Comme attendu, la quantité d'HRP-His fixée au papier diminue lors du traitement par le gel, preuve d'une descente du nombre de COOH disponibles et donc d'une augmentation de la consolidation.

Como se esperaba, la cantidad de HRP-His fijadas al papel disminuye con el tratamiento con el gel, prueba de una disminución del número de COOH disponibles y por lo tanto, de un aumento de la consolidación.

III.1.2 Effet d'une mauvaise réalisation du gel (température élevée)/ Efecto de una mala realización del gel (temperatura elevada)

Au moment de mélanger la solution enzymatique, il est très important de contrôler la température pour ne pas dénaturer la cellulase.

Pour vérifier qu'une température légèrement plus haute avait un effet inhibiteur, nous avons effectué le mélange en utilisant une température de 40 °C au lieu de 30-35 °C.

Les résultats de consolidation par le gel, ont révélé que la dégradation était supérieure à celle observée pour le papier non traité. Ceci provient sans doute de l'effet de dégradation provoqué par la présence de l'acétonitrile.

En effet, le fragment de papier qui a été traité avec ce gel pendant deux heures est très dégradé physiquement (il s'est divisé en deux fragments). [Figure 39 / Graphique 42].

Es de suma importancia controlar la temperatura para no inhibir la celulasa, a la hora de mezclar el gel con la solución enzimática.

Para verificar que una temperatura ligeramente superior tiene un efecto inhibitor, vertimos la solución enzimática cuando la temperatura era aún de 40 °C en vez de 30-35 °C.

Los resultados del gel revelaron que la degradación era mayor que la del papel sin tratar. Lo que significa que en esta ocasión, el efecto degradador era provocado por el acetonitrilo y el tampón acetato.

El fragmento de papel que ha sido tratado con el gel durante dos horas está muy degradado físicamente (estaba separado en dos fragmentos).

[Figura 39 / gráfico 42].

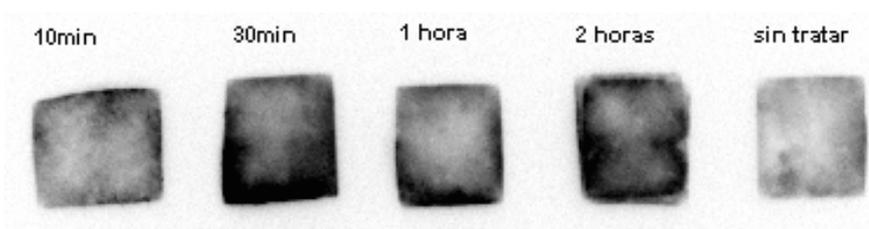
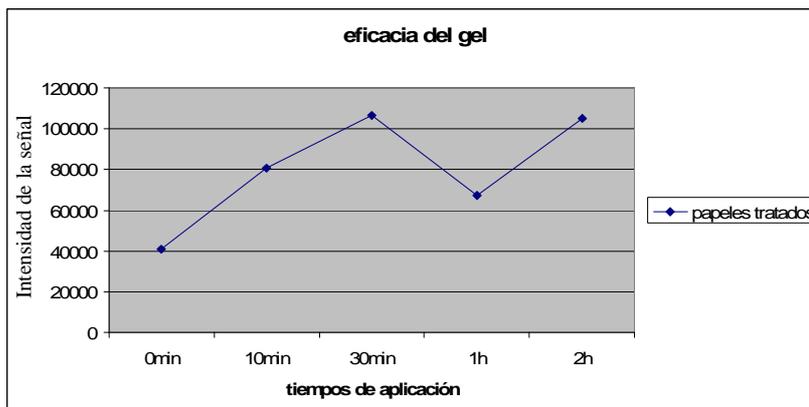


Figure 39/ Figura 39. Photographie de la caméra CCD, 10 secondes d'expositon/ Fotografía cámara CCD, 10 segundos de exposición.



Graphique 42/ Gráfico 42. Résultats du traitement avec le gel enzymatique et les enzymes dénaturalisées à cause de la haute température./ Resultados del tratamiento con el gel enzimático y las enzimas desnaturalizadas por una temperatura excesiva en la preparación.

III.2 Temps d'application du gel/ Tiempo de aplicación del gel

Nous nous sommes ensuite intéressés au temps d'application du gel. Ceci est nécessaire afin de connaître le temps que met l'enzyme avant d'inverser son activité et de commencer à hydrolyser le papier.

A continuación, era interesante conocer el tiempo de aplicación del gel. Esto es necesario para conocer el tiempo máximo de aplicación hasta que las enzimas empiecen a hidrolizar.

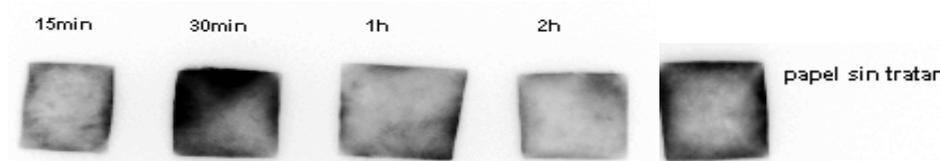


Figure 40/ Figura 40. Photographie de la caméra CCD, 15 secondes d'exposition/ Fotografía cámara CCD, 15 segundos de exposición.



Graphique 43/ Gráfico 43. Résultats du gel enzymatique/ Resultados del gel ezimático.

Nous pouvons observer que le temps le plus adéquat est celui de deux heures de traitement [Figure 40 / Graphique 43]. Cependant, nous ne savons pas si le gel pourra fonctionner le jour suivant. Pour y parvenir nous avons continué à utiliser le même gel pendant quelques jours.

Se observa que el tiempo más adecuado, es el de dos horas de tratamiento [Figura 40 / Gráfico 43]. No obstante, se desconoce si el gel podrá funcionar al día siguiente, para ello se utilizará el gel durante varios días.

III.2.1 Perte d'efficacité du gel / Pérdida de eficacia del gel

Suite aux résultats précédents, nous avons décidé de déterminer combien de jours le gel conservait ses propriétés. Pour cela, nous avons conservé le gel à 4 °C, d'un jour à l'autre et nous avons traité des papiers différents, chaque jour. [Graphique 44, 45 et 46].

Tras los resultados de antes, se decidió saber cuánto tiempo tardaba el gel en perder sus propiedades. Para ello, se conservó el gel a 4 °C, de un día para otro y tratamos diferentes papeles, cada día. [Gráficos 44, 45 y 46].

Résultats / Resultados:

- Premier jour / Primer día

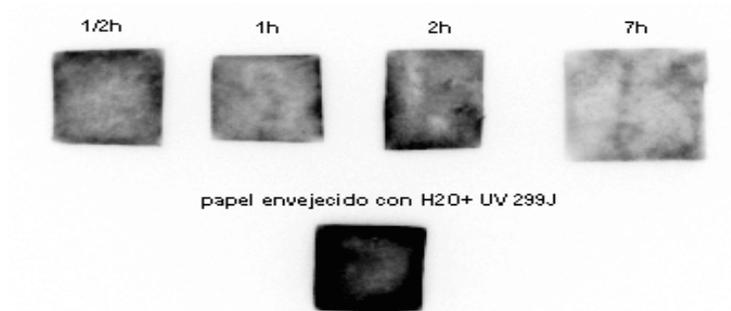
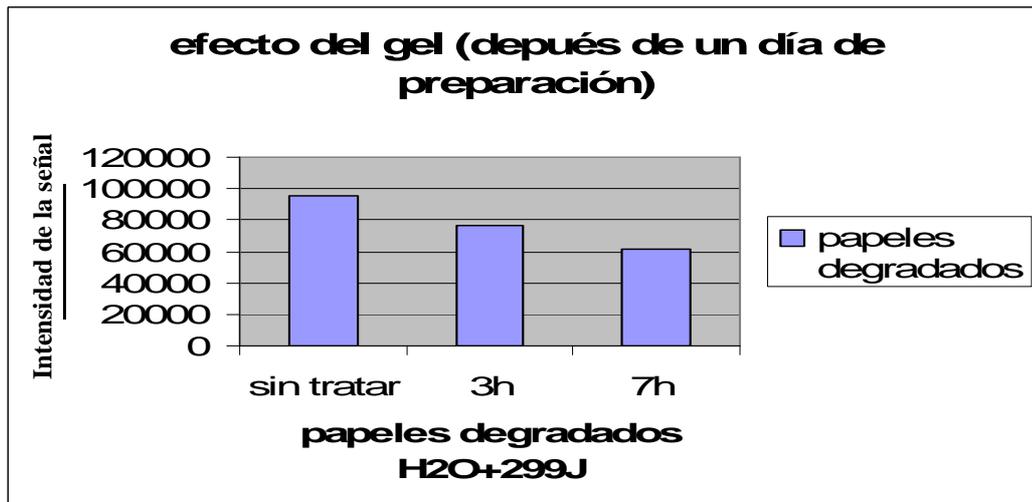
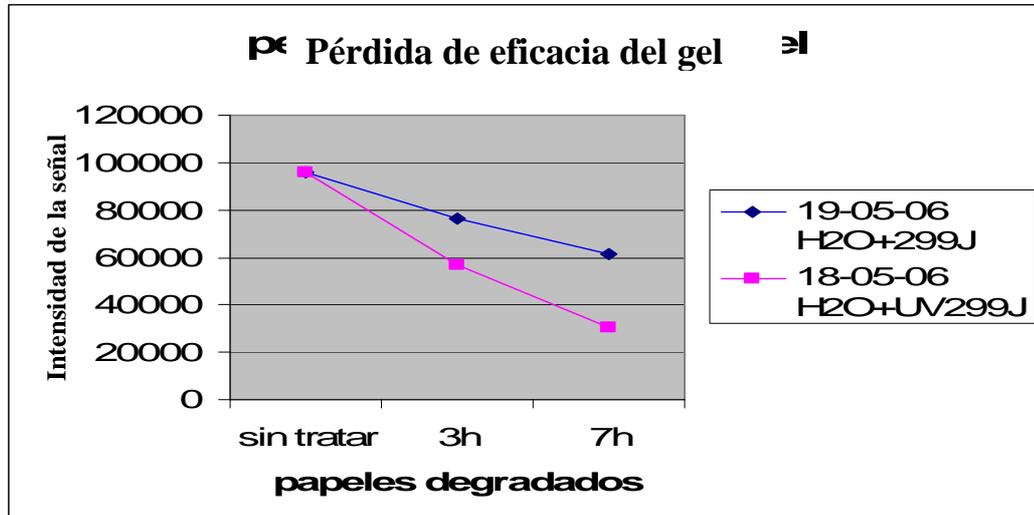


Figure 41/ Figura 41. Photographie de la caméra CCD, 15 secondes d'exposition/ Fotografía cámara CCD, 15 segundos de exposición.



Graphique /Gráfico 44. Résultats du gel enzymatique/Resultados del gel enzimático.

- Second jour/ Segundo día:

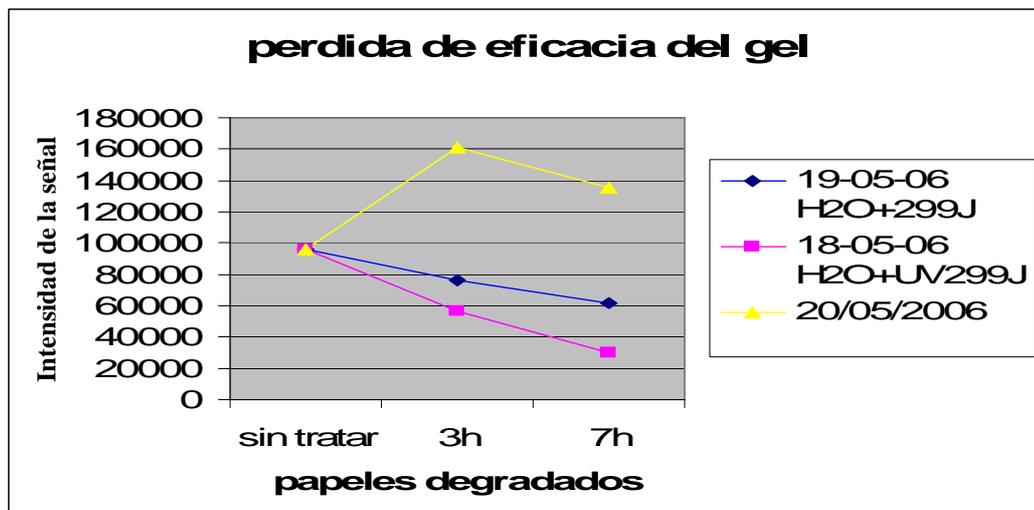


Graphique/Gráfico 45. Résultats du gel enzymatique /Resultados del gel enzimático.

Les résultats démontrent qu'au deuxième jour, le gel perd un peu de son efficacité mais qu'il continue à consolider les fibres.

Los resultados demuestran que el segundo día, pierde un poco su eficacia pero continúa a consolidar las fibras.

- Troisième jour/ Tercer día:



Graphique/ Gráfico 46. Résultats du gel enzymatique / Resultados del gel enzimático.

Nous observons qu'à partir du troisième jour, le gel ne répare plus et dégrade le papier. Donc un gel enzymatique ne possède que deux jours d'efficacité. L'évaporation du solvant pourrait être à l'origine de ce phénomène.

Le solvant est un élément très important pour le bon fonctionnement du traitement. Pour cette raison, nous nous sommes demandé quel serait le résultat si nous laissons le récipient ouvert pendant le traitement.

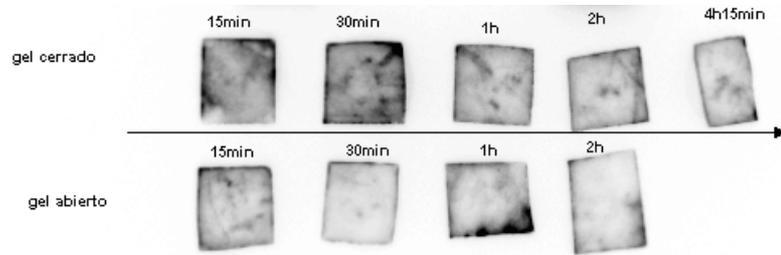
Se observó que a partir del tercer día, el gel se vuelve inservible y degrada el papel, por lo que el gel tiene una duración de dos días a temperatura ambiente. La evaporación del disolvente podría hacer que algunas enzimas vuelvan a hidrolizar.

El solvente tiene un papel importante en el buen resultado del tratamiento; debido a esto se planteó qué sucedería si la evaporación del solvente fuera superior, como por ejemplo si se dejara abierto el contenedor que contiene el gel mientras se trataba el papel.

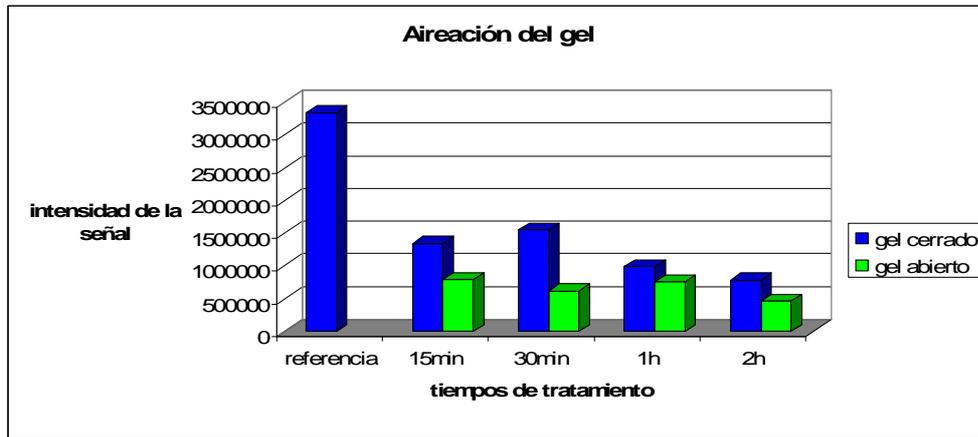
III.3 Modification du mode d'application du gel (récipient ouvert) / Variación en la aplicación del gel (contenedor abierto)

Jusqu'à présent le gel enzymatique était appliqué dans une enceinte fermée. Ceci est possible pour un format de papier petit mais pour des papiers de grande taille, nous devons pouvoir utiliser le gel dans un récipient ouvert. Nous avons donc étudié la différence qui existe entre l'efficacité du gel en atmosphère confinée ou ouverte. [Figure 42 / Graphique 47].

Hasta el momento el gel enzimático era aplicado dentro de un recipiente cerrado. Esto era posible para pequeños fragmentos de papel, pero para papeles de talla mayor, se debía utilizar un recipiente abierto. Por lo tanto, se van a estudiar la diferencia que existe entre la eficacia del gel en atmosfera confinada y abierta. [Figura 42 / gráfico 47].



Figure/ Figura 42. Photographie caméra CCD. Papiers traités avec le gel./
Fotografía cámara CCD. Papeles tratados con gel.



Graphique/ Gráfico 47. Résultats du gel enzymatique/ Resultados del tratamiento con el gel
enzimático.

NO.	AU	Área (mm2)	AU-BG	Ratio	AU/mm2	(A-B)/mm2	Min.	Max.
1	1353000.00	20.33	1335000.00	10.48	66540.00	65670.00	1292.00	2504.00
2	3367000.00	20.33	3349000.00	26.29	165600.00	164700.00	3341.00	6648.00
3	1362000.00	20.33	1345000.00	10.56	67000.00	66130.00	1196.00	2850.00
4	1566000.00	20.33	1548000.00	12.15	77030.00	76150.00	1256.00	3905.00
5	1005000.00	20.33	987200.00	7.75	49420.00	48550.00	753.00	2566.00
6	798800.00	20.33	781100.00	6.13	39290.00	38410.00	576.00	2490.00
7	786700.00	20.33	769000.00	6.04	38690.00	37820.00	485.00	2197.00
8	808700.00	20.33	790900.00	6.21	39770.00	38900.00	637.00	3474.00
9	632800.00	20.33	615000.00	4.83	31120.00	30250.00	515.00	1445.00
10	776000.00	20.33	758200.00	5.95	38160.00	37290.00	570.00	2579.00
11	478000.00	20.33	460200.00	3.61	23510.00	22630.00	314.00	2065.00

Table/Tabla 4. Résultats quantifiables. / Resultados cuantificables

Le gel utilisé en atmosphère ouverte semble réparer de manière plus efficace le papier. Cette expérience a été répétée pendant plusieurs jours. [Figures 43-47 / Graphiques 48-52].

El gel utilizado en una atmosfera abierta parece reparar de manera más eficaz el papel. Esta experiencia ha sido repetida durante varios días. [Figuras 43-47 / Gráficos 48-52].

- Primer día:

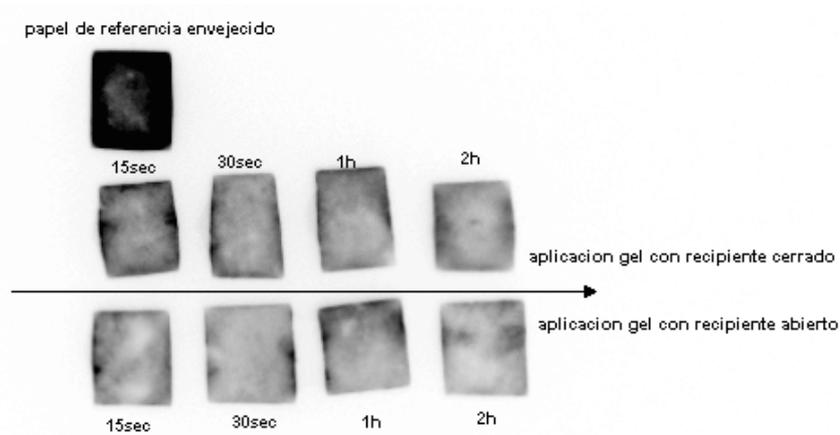
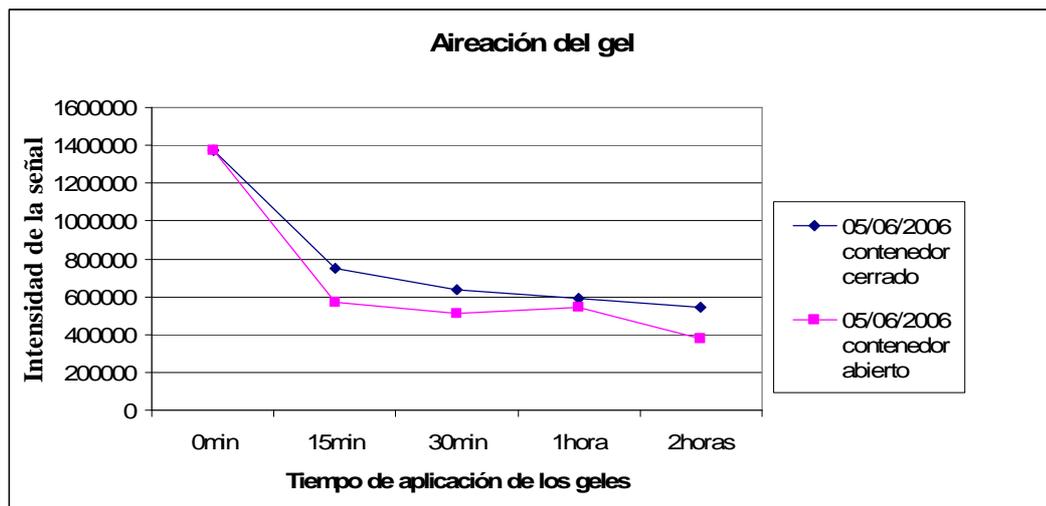


Figure / Figura 43. Photographie de la camera CCD, 20 secondes d'exposition. / Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición

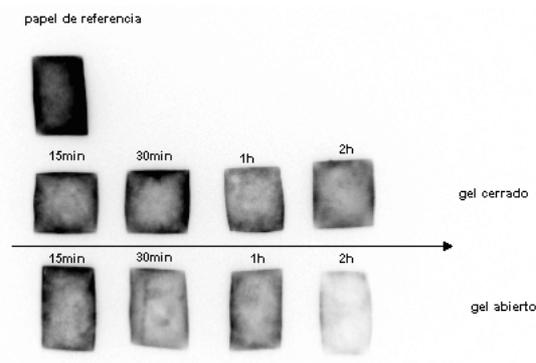


Graphique/ Gráfico 48. Résultats du traitement enzymatique avec le flacon ouvert et fermé. / Resultados del tratamiento enzimático con el contenedor aireado y cerrado.

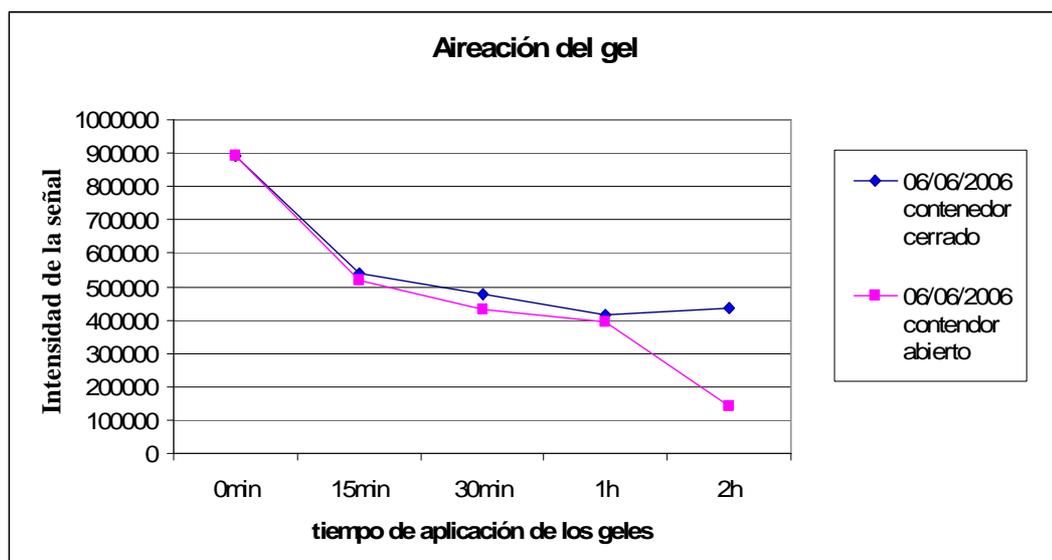
Dès le premier jour, il existe une différence entre les résultats obtenus en atmosphère ouverte ou confinée. Apparemment, nous obtenons toujours de meilleurs résultats avec le gel en atmosphère ouverte.

Desde el primer día existe ya una pequeña diferencia entre los resultados obtenidos en atmosfera abierta o confinada. Aparentemente, se obtiene siempre mejores resultados con el gel en atmósfera abierta.

- Second jour / Segundo día del gel:



Figure/ Figura 44. Photographie de la caméra CCD, 20 secondes d'exposition./Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición.



Graphique/ Gráfico 49. Résultats de l'effet de l'état du flacon (ouvert ou fermé). / Resultados del efecto del estado de los contenedores.

- Troisième jour du gel / Tercer día del gel:

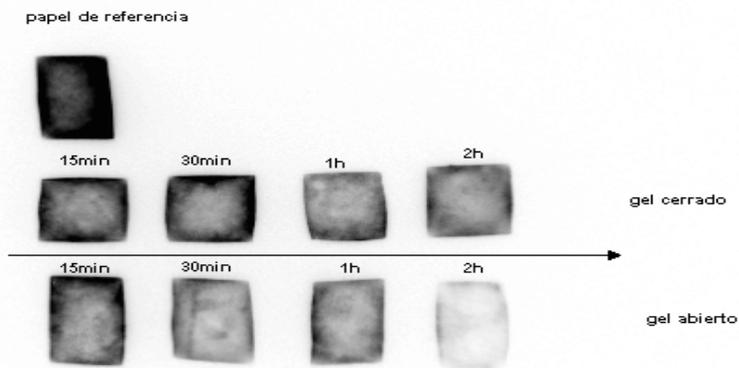
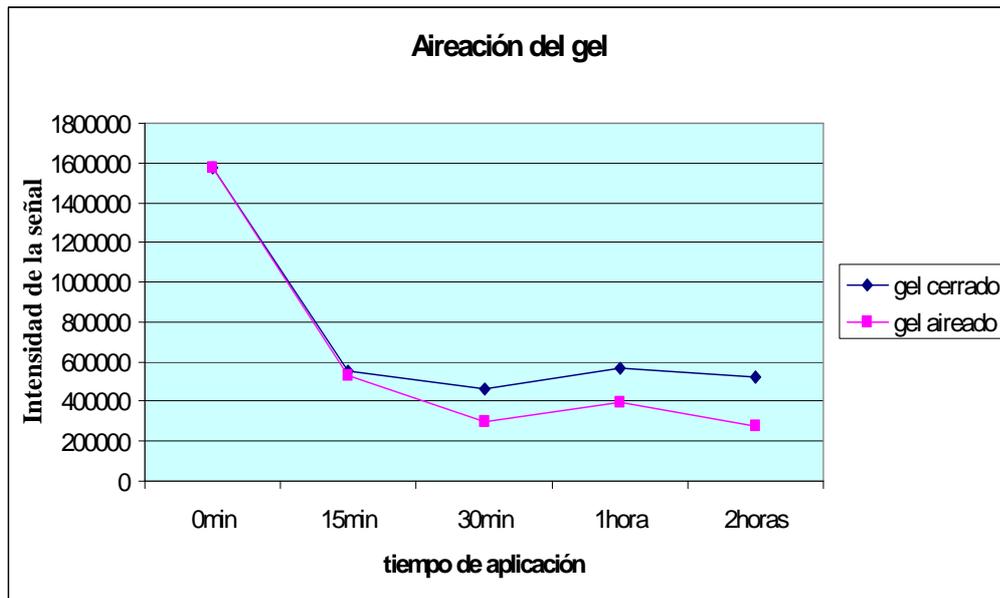
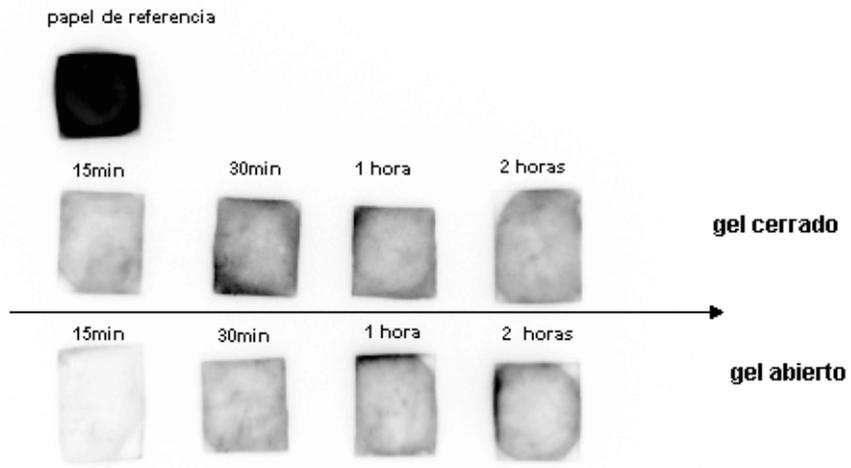


Figure / Figura 45. Photographie de la caméra CCD, 20 secondes d'exposition. Nous comparons le résultat du traitement avec un flacon et gel aérés ou fermés. Apparemment, le flacon ouvert fonctionne mieux. / Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición. Se compara el resultado del tratamiento con un gel abierto y otro cerrado. Aparentemente, funciona mejor el abierto.

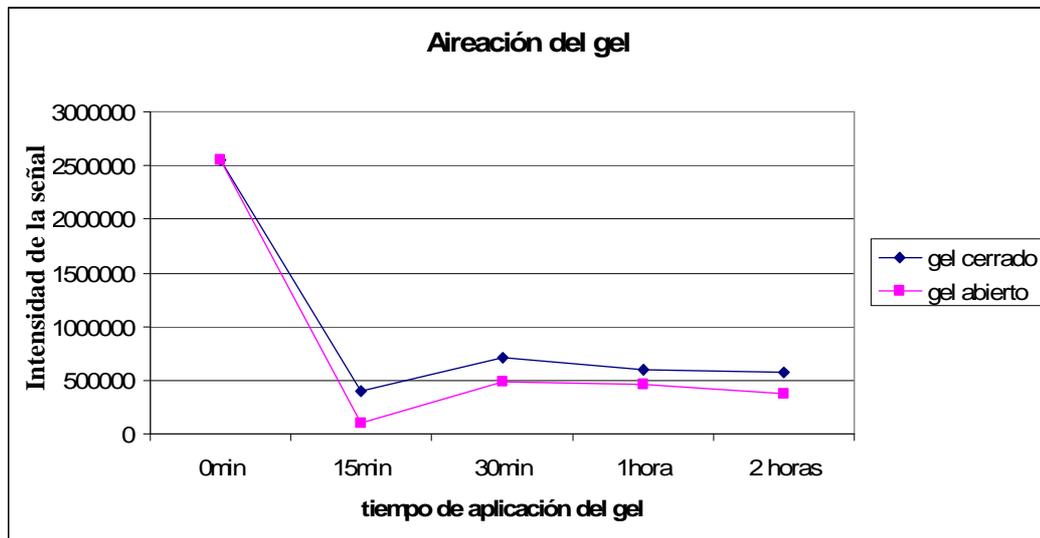


Graphique/ Gráfico 50. Résultat du gel dans un flacon fermé (cerrado) et ouvert (aireado)./ Resultados del gel en recipientes cerrados y abiertos.

- Quatrième jour du gel/ Cuarto día del gel:

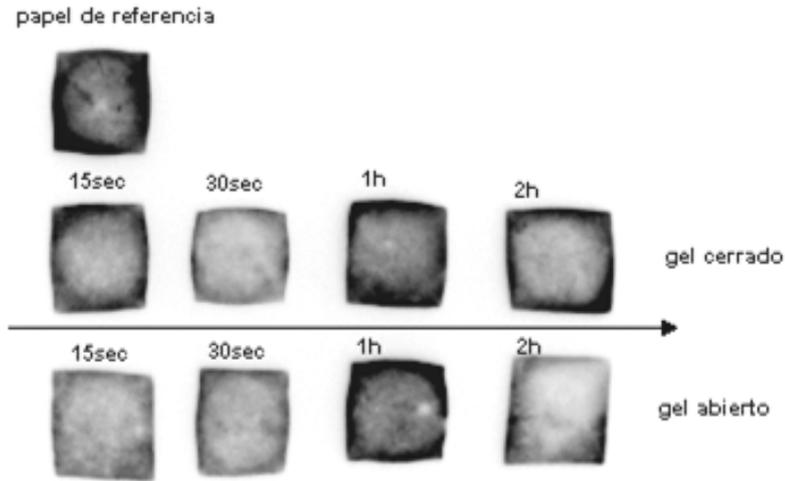


Figure/ Figura 46. Photographie caméra CCD, 20 secondes d'exposition./
Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición.

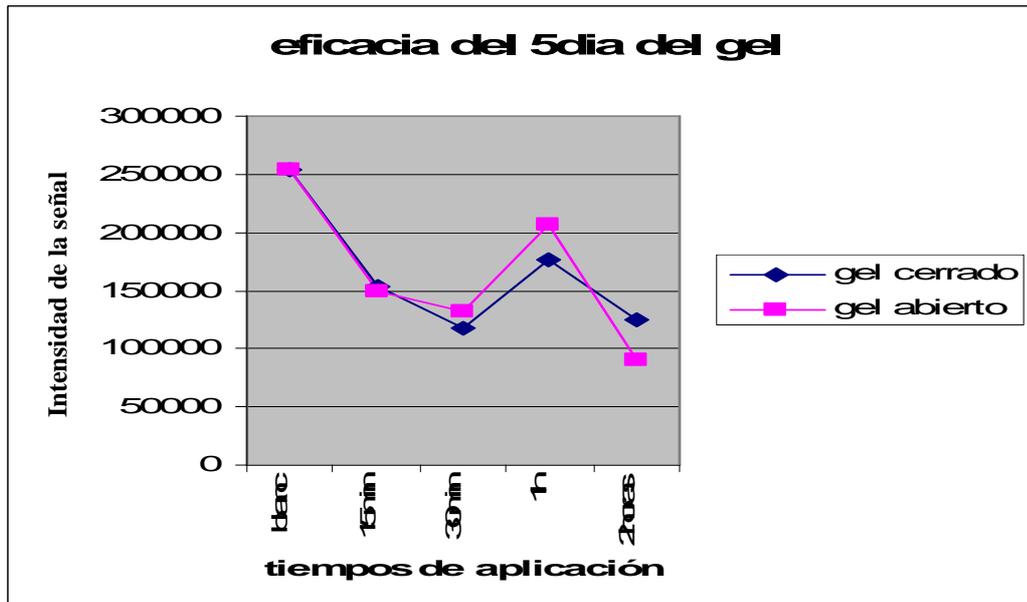


Graphique/ Gráfico 51. Résultats du gel dans un récipient ouvert et fermé./ Resultados del gel en recipiente abierto y cerrado.

- Cinquième jour du gel/ Quinto día del gel:



Figure/ Figura 47. Photographie caméra CCD, 20 secondes d'exposition./
Fotografía cámara CCD, 20 segundos de exposición.



Graphique/ Gráfico 52. Résultats du traitement du 5^{ème} jour du gel./ Resultados del tratamiento en el 5º día del gel.

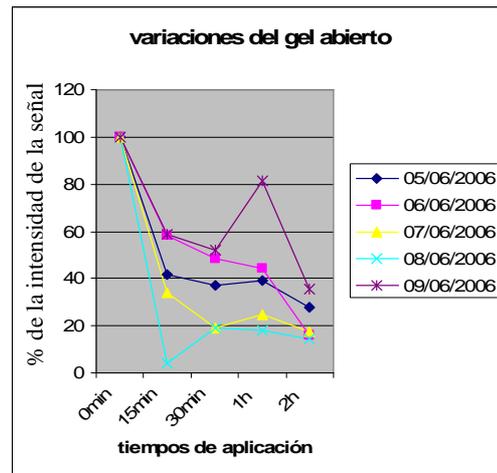
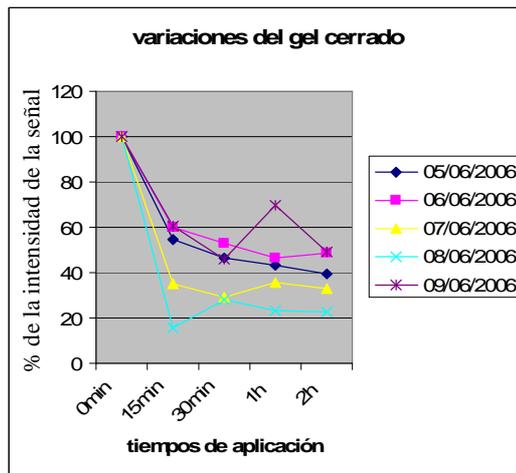
Comme conclusion, nous avons démontré que le gel répare plus étant aéré que fermé.

A la hora de la aplicación del gel, ha sido demostrado que el gel repara más estando en un espacio abierto que cerrado.

- Rassemblement des résultats / Recopilación de los resultados

Un résumé des résultats obtenus pendant une semaine sur le même gel, confiné ou ouvert, est présent ci-dessous.

Tras una semana, los resultados de la eficacia del gel abierto o cerrados, son los expuestos en los gráficos siguientes.



Graphique/ Grafico 53 y 54. Variation de l'efficacité du gel pendant cinq jours./ Variación de la eficacia del gel en cinco días.

Il semble clair que le gel enzymatique permette de consolider le papier au moins pendant 5 jours consécutifs et que cette consolidation soit plus efficace lorsque le gel est utilisé en atmosphère ouverte.

Los gráficos nos muestran que el gel enzimático permite consolidar el papel por lo menos 5 días consecutivos y que esta consolidación es más eficaz en una atmosfera abierta.

Les résultats obtenus grâce au marquage par la HRP-His seront postérieurement comparés avec les observations faites par microscopie électronique (SEM) afin de nous assurer de la véracité des résultats.

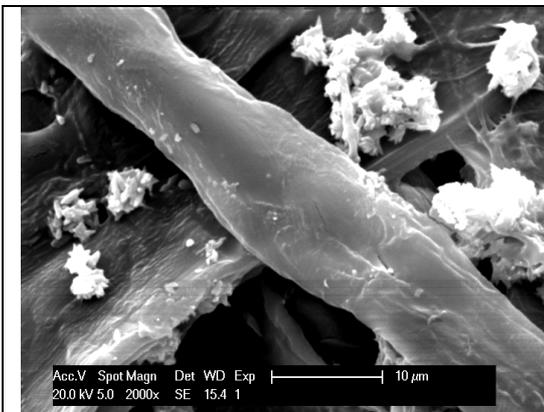
Los resultados obtenidos gracias al marcaje con la HRP-His serán posteriormente comparados con las observaciones realizadas con microscopía electrónica (SEM), con el fin de asegurarse de la veracidad de los resultados.

III.4 Résultats du microscope électronique/ Resultados del microscopio electrónico.

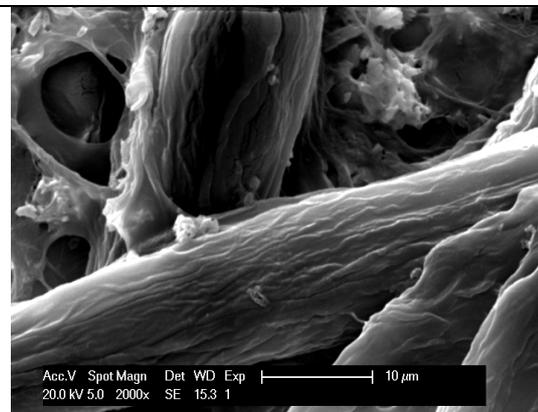
Grâce à la microscopie électronique à balayage nous cherchons à observer l'état physique des fibres et à voir si le traitement par le gel enzymatique a un effet visible sur celles-ci.

Les images de microscopie électronique nous permettent de mettre en évidence une réparation de la fibre.

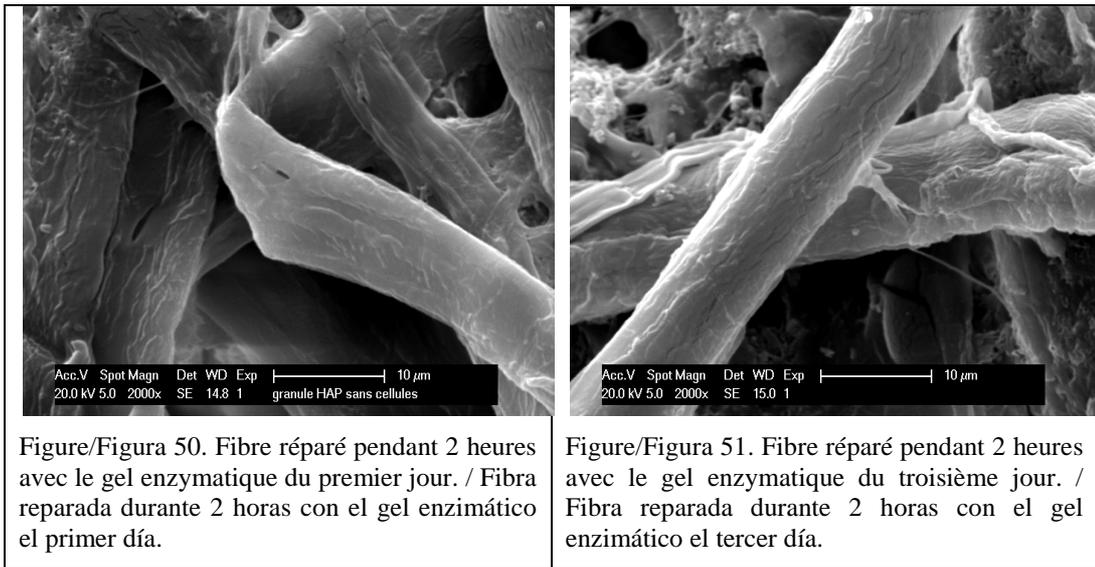
Con la microscopía electrónica de barrido se quería observar el estado físico de las fibras y saber si el tratamiento con el gel enzimático tiene un efecto visible sobre ellas. Las imágenes de la microscopía electrónica permiten poner en evidencia una reparación de la fibra.



Figure/Figura 48. Fibre sans traiter et sans dégrader. Nous ne savons pas la nature des éléments blancs, nous pouvons supposer qu'ils sont des charges. /Fibra sin tratar ni degradar. Se desconoce la naturaleza de los elementos blancos, pero podemos suponer que son cargas.



Figure/Figura 49. Fibre dégradée avec 299,97 jules UV et H₂O/ Fibra degradada con 299,97 julios de rayos UVA y H₂O



Cependant, nous pouvons également observer ce qui pourrait être de restes de gel. Pour éviter ceci, nous allons utiliser un tissu non trame (Reemay) afin de séparer physiquement le gel et le papier. Les images de microscopie électronique nous ont permis de démontrer d'une part la dégradation des fibres (entre figure 48 et 49) mais également leur consolidation après traitement par le gel enzymatique. En effet l'aspect craquelé des fibres dégradées disparaît suite au traitement.

Sin embargo, en las fotografías se observa también lo que pueden ser restos de gel, por lo que se intentará solucionar con el uso de un tejido no tejido, con el fin de separar físicamente el gel y el papel.

Las imágenes de microscopía electrónica permiten demostrar la degradación de las fibras (figuras 48 y 49) pero también su consolidación después del tratamiento con el gel enzimático. El aspecto craquelado de las fibras degradadas desaparece después del tratamiento.

III.5 Emploi d'un tissu séparateur pour le traitement/

Tratamiento con un tejido separador Reemay:

L'application directe du gel sur le papier avait comme inconvénient de laisser sur la surface du papier des restes de gel et ainsi de permettre la prolifération des microorganismes pouvant potentiellement endommager la cellulose du papier.

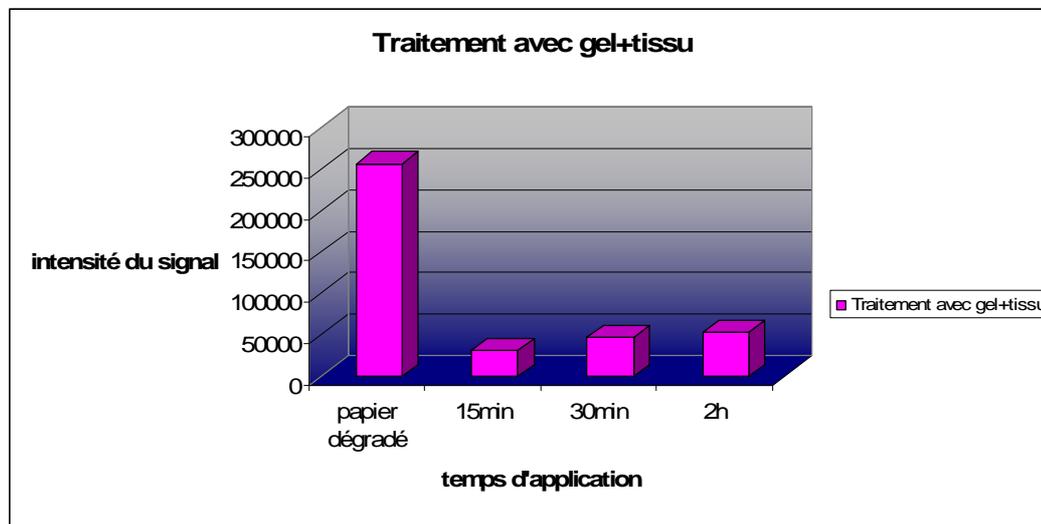
Pour éviter ce phénomène nous avons employé un tissu synthétique – Reemay- qui sépare physiquement le papier et le gel. Nous ne savions pas si cette séparation allait avoir un impact sur les résultats du traitement. Nous avons donc réalisé différentes études dont les résultats sont résumés sur le graphique suivant.

El tratamiento tenía como inconveniente la aplicación directa del gel sobre el papel porque se podían dejar restos de gel sobre la superficie y provocar una futura proliferación de microorganismos perjudiciales para la buena conservación del papel.

Por este motivo, se decidió utilizar un tejido sintético –Reemay- como separador físico entre el gel y el papel, y a la vez, permitir la libre difusión de la solución enzimática al soporte celulósico. Se desconocía si este sistema con el Reemay iba a provocar la variación de nuestros resultados.

Se realizaron diferentes pruebas y el siguiente gráfico muestra los resultados.

Résultats /Resultados:



Graphique/ Gráfico 55. Résultats du traitement enzymatique avec un tissu. / Resultados del tratamiento enzimático con un tejido separador.

Il semble donc que la consolidation par le gel, à travers le tissu Reemay, soit au moins aussi efficace que celle utilisant le gel directement au contact avec le papier.

Parece que la consolidación del gel, a través de un tejido Reemay, es por lo menos igual de eficaz que el gel que se pone directamente en contacto con el papel.

III.6 Amélioration du gel, emploi d'un nouveau substrat / Mejora del gel, empleo de un nuevo sustrato.

Jusqu'ici, nous avons fabriqué le gel avec comme substrat le glucose-1-phosphate.

Selon l'article de Kobayashi et al. ^[443] dont nous nous sommes inspirés, le β -cellobiosyl fluoride semble être un bien meilleur substrat.

Hasta el momento, se había fabricado el gel con un sustrato sustitutivo, la glucosa-1-fosfato.

Según el artículo de Kobayashi *et al.* ^[443], el β -celobiosa fluorada, parece

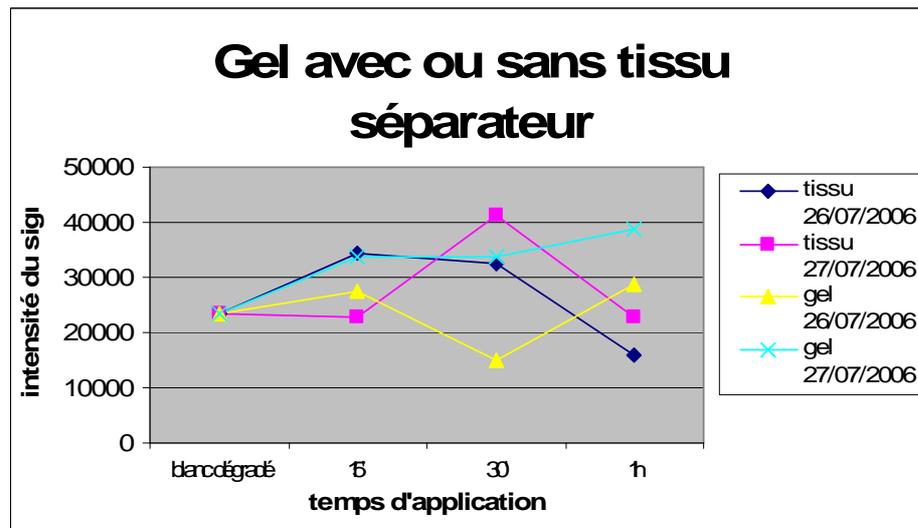
⁴⁴³ KOBAYASHI S., SHODA S., "Chemical síntesis of cellulose and cello-oligomers using a hydrolysis enzyme as a catalyst" *Macromol.* Vol. 17 n° 6, 1995, pp.373-379

Ce nouveau substrat a été fabriqué à l'université de Lyon.

ser bastante mejor sustrato que el utilizado hasta el momento.

Este nuevo sustrato fue sintetizado en la Universidad de Lyon.

Résultats/ Resultados:



Graphique/ Gráfico 56. Résultats du gel avec un tissu non tissé / Resultados para un gel con un tejido no tejido Reemay.

Les résultats de consolidation avec ce nouveau substrat, s'avèrent décevants [Graphique 56]. Presque tous les papiers sont dégradés avec ou sans tissu séparateur. Il semble donc que les conditions d'utilisation ou de préparation du gel nécessitent une nouvelle mise au point afin d'être efficaces avec ce nouveau substrat.

Los resultados de consolidación con el nuevo sustrato son decepcionantes [Gráfico 56]. Casi todos los papeles, con y sin tisú, han sido degradados. Parece que las condiciones de utilización o de preparación del gel necesitan ser variadas para conseguir que el sustrato sea eficaz.

III.7 Nouvelle composition du gel –nouvelle solution tampon acétate- / Nueva composición del gel –nueva solución tampón acetato-

Les résultats présentés dans le graphique précédent, nous révèlent l'inefficacité du gel utilisant le nouveau substrat dans des conditions identiques à celles utilisées pour le glucose-1-phosphate comme consolident.

Jusqu'à présent nous avons préparé la solution de consolidation de deux manières : en solution ou en gel. Dorénavant nous allons tester la solution de consolidation, avec le nouveau substrat β -cellobiosyl fluoride, en solution et sous la forme de deux gels, un préparé avec de l'eau distillée et l'autre avec du tampon acétate.

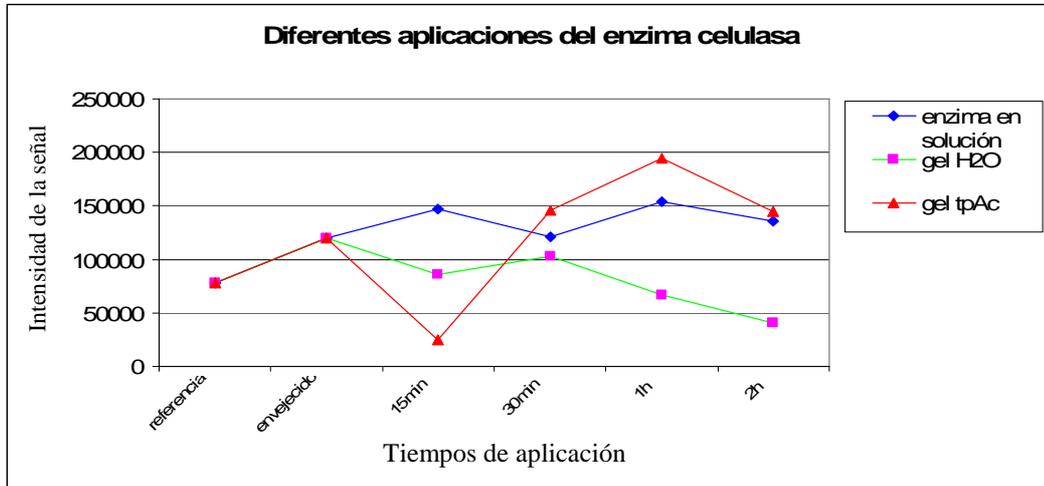
Les gels seront conservés et réutilisés pendant plusieurs jours.

Los resultados que se pueden observar en el gráfico anterior, revelan la ineficacia del gel fabricado con el nuevo sustrato en las mismas condiciones que la glucosa-1-fosfato. Hasta ahora se ha preparado la solución enzimática de dos maneras diferentes: en solución y en gel.

A partir de ahora se empleará el nuevo sustrato β -cellobiosyl fluoride de tres maneras diferentes: en solución, en un gel preparado con agua destilada y en otro gel preparado con tampón acetato.

Los geles serán conservados y reutilizados durante varios días.

Résultats du premier jour / Resultado del primer día:

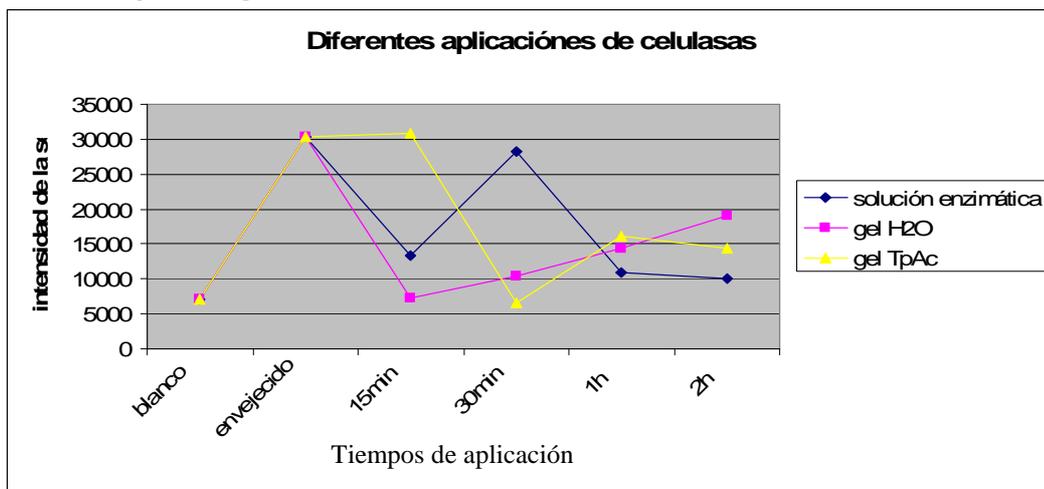


Graphique/ Gráfico 57. Diverses manières d'appliquer le traitement enzymatique/ Diferentes maneras de aplicar el tratamiento enzimático.

Le traitement enzymatique reste encore décevant sauf pour le gel préparé dans de l'eau distillée qui semble permettre une consolidation visible du papier.

Los resultados no son del todo satisfactorios, menos para el gel preparado con agua destilada, que parece consolidar visiblemente el papel.

Deuxième jour/ Segundo día:

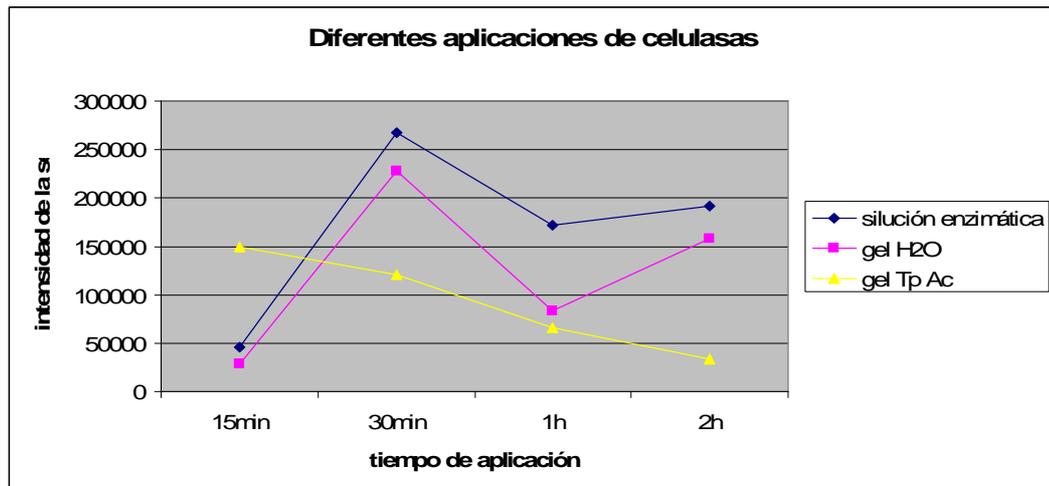


Graphique/ Gráfico 58. Comparaison de la deuxième application des gels/ Comparación de la segunda aplicación de los geles.

Pour ce deuxième jour d'utilisation les différentes préparations semblent être efficaces.

En el segundo día de utilización, las diferentes aplicaciones de celulasas parecen ser eficaces.

Troisième jour/ tercer día :



Graphique/ Gráfico 59. Comparaison de la troisième application des gels/ Comparación de la tercera aplicación de los geles.

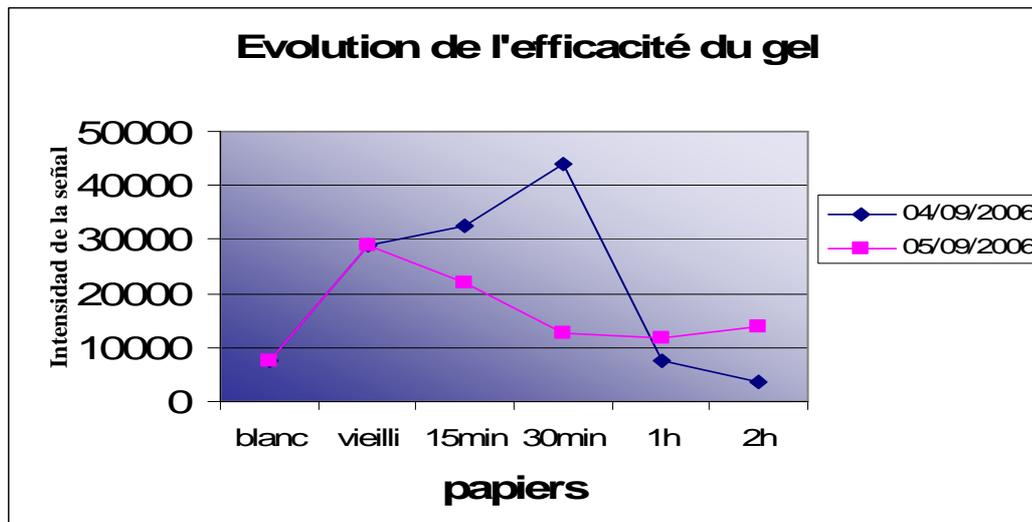
Cette fois la meilleure réponse est celle du gel TpAc. Il est maintenant nécessaire de vérifier cette information et d'étudier la stabilité de ce gel enzymatique préparé à partir de tampon acétate et de β -cellobiosyl fluoride.

Esta vez, el mejor resultado es el obtenido por el gel Tp Ac. Por lo tanto, es necesario verificar esta información y estudiar la estabilidad de este gel enzimático preparado a partir de tampón acetato y β -cellobiosyl fluoride.

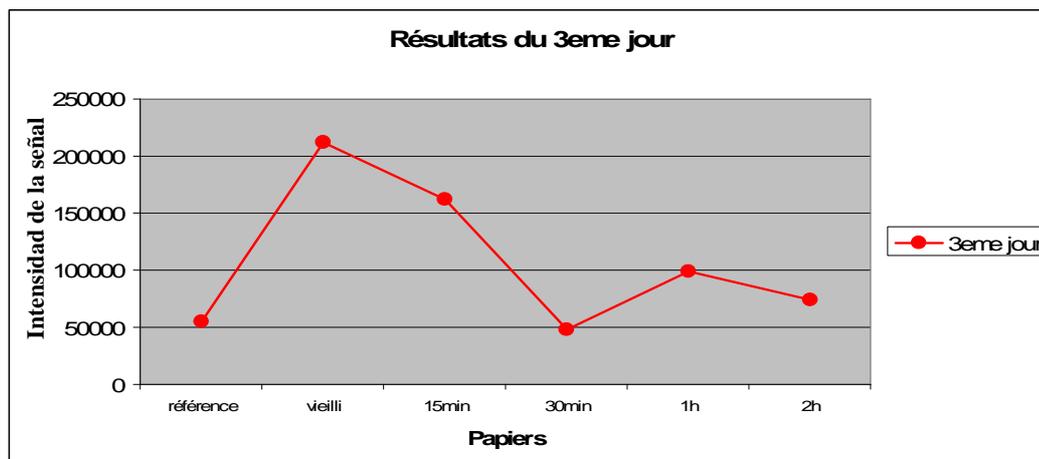
III.7.1 Durée de vie du gel avec le TpAc / Duración máxima del gel con tampón Acetato TpAc.

Pour le gel enzymatique préparé à partir d'eau et de β -cellobiosyl fluoride, nous avons étudié la durée d'utilisation d'un même gel avant sa perte d'activité. Cette fois ci, nous recommençons la même étude mais avec un gel préparé avec du tampon acétate et le nouveau substrat.

En pruebas anteriores se había testado el tiempo máximo de aplicación del gel antes de la disminución y pérdida de su actividad. En los siguientes gráficos se ve el resultado del tiempo que necesita el gel preparado con tampón acetato antes de la disminución de su efectividad.



Graphique/ Gráfico 60. Résultats des deux premiers jours du gel enzymatique réalisé avec le tampon acétate/ Resultados de los dos primeros días del gel enzimático realizado con tampón acetato.



Graphique/ Gráfico 61. Résultat du troisième jour d'application du nouveau gel enzymatique réalisé avec le tampon acétate/ Resultado del tercer día de aplicación del nuevo gel enzimático con el tampón acetato.

Nous pouvons constater que ce gel préparé avec du tampon acétate semble générer de meilleurs résultats à partir du deuxième jour, alors que le gel préparé avec de l'H₂O présente de meilleurs résultats le premier jour uniquement. Pour confirmer ces résultats, nous allons procéder à de nouveaux tests des deux gels en parallèle.

Según los resultados obtenidos, el gel de tampón acetato mejora sus resultados a partir del segundo día de preparación. Sin embargo el gel H₂O funciona mejor el primer día únicamente. De todas formas, diferentes pruebas serán repetidas y contrastadas antes de poder estar completamente seguros de los resultados.

III.7.2 Comparaison de deux gels -H₂O, Tp Ac- / Comparación de dos geles -H₂O, Tp Ac-

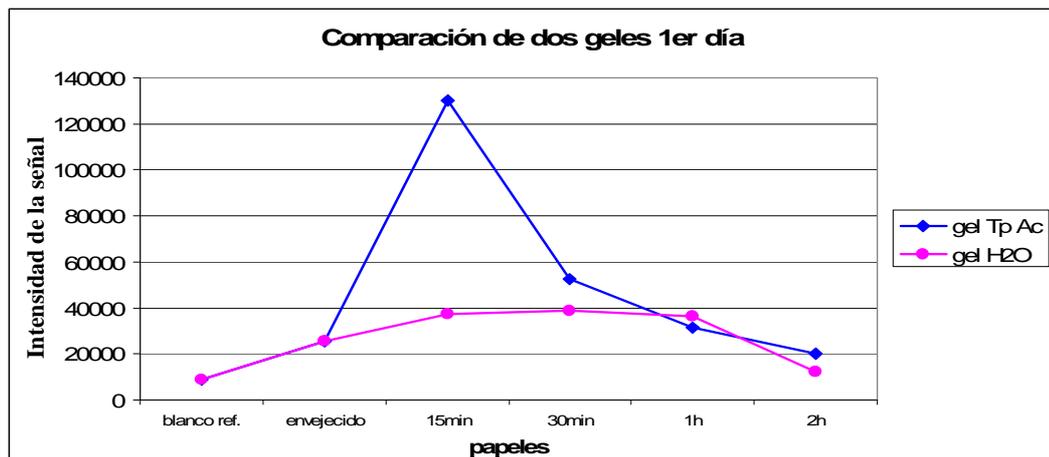
Jusqu'à présent, nous avons préparé le gel agar-agar de deux manières différentes sans avoir conclu quelle était la meilleure manière de préparer l'agar: avec le tampon acétate ou avec de l'eau. Donc, nous allons comparer les résultats des deux gels,

Hasta el momento, se ha preparado el gel agar-agar de dos maneras diferentes sin haber concluido cuál es la mejor manera de fabricar el gel: con el tampón acetato o con el agua. Por lo tanto se realizará una comparativa entre los geles de agar

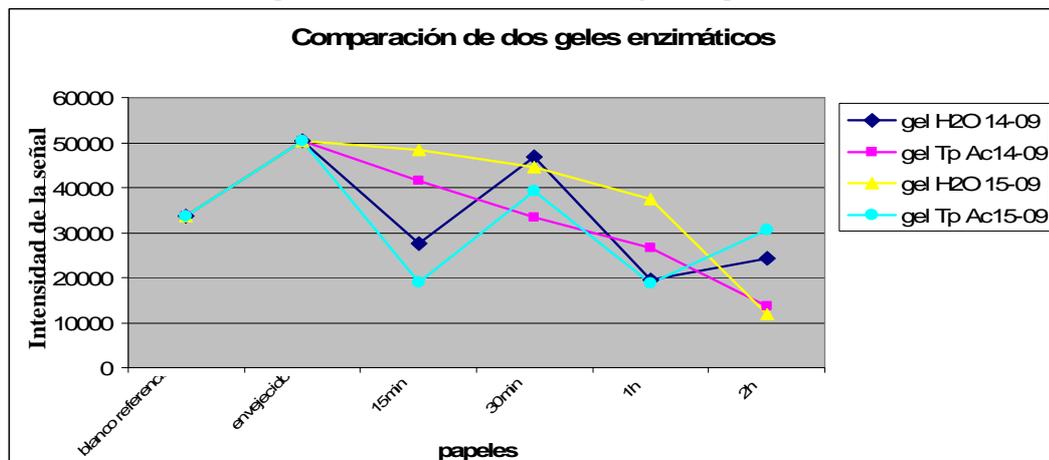
un préparé avec le tampon acétate et l'autre avec de l'eau.

preparados con el tampón acetato y el agua destilada.

Comparaison des deux gels/ Comparación de dos geles:



Graphique/ Gráfico 62. Comparaison de l'efficacité des deux gels le premier jour. Comparación de la eficacia de los dos geles el primer día.



Graphique/ Gráfico 63. Comparaison des gels, le deuxième et troisième jour/ Comparación de los dos geles en su segundo y tercer día.

Nous constatons que le gel de H₂O fonctionne mieux le premier jour. Tandis que le gel avec le tampon acétate améliore ses résultats le deuxième jour.

Ces résultats semblent ne pas être

Se constata que el gel H₂O obtiene mejores resultados el primer día mientras que el gel tampón acetato, mejora sus resultados a partir del segundo día. Estos resultados parecen no ser del todo exactos por lo que se considera

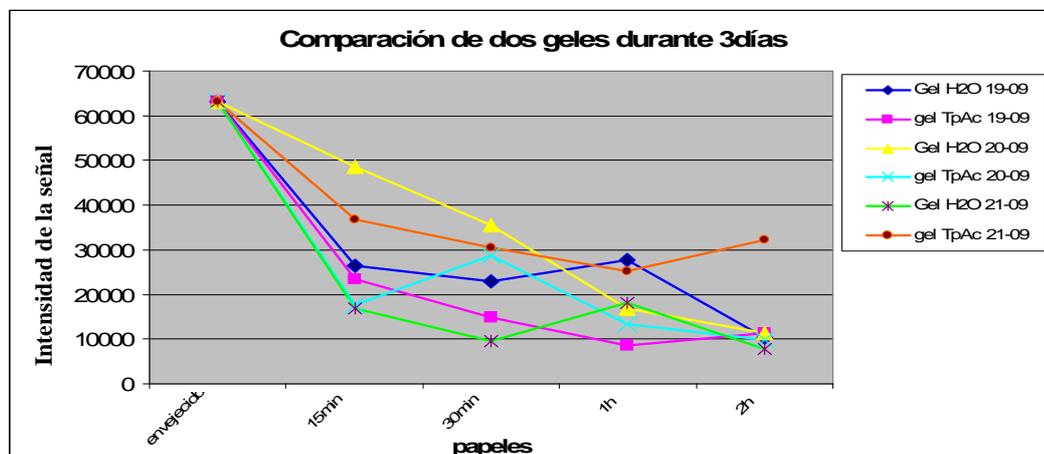
totalément exacts donc, nous allons les comparer avec d'autres méthodes de mesure de la dégradation comme le microscope électronique de balayage MEB/SEM.

necesario contrarrestarlos con otros métodos de medida de la degradación como el microscopio electrónico de barrido MEB/SEM.

III.8 Comparaison des Résultats de la caméra CCD avec la microscopie électronique à balayage MEB/SEM / Comparación de los resultados de la cámara CCD con la microscopia electrónica de barrido MEB/SEM.

La méthode utilisant le marquage par la HRP-His et la caméra CCD pour la mise en évidence de la dégradation de nos papiers, montre des résultats parfois difficile à interpreter. Pour cette raison, nous allons de nouveau comparer ces résultats avec des images de fibres de papier réalisées par microscopie électronique à balayage.

El método HRP-His y la cámara CCD para conocer la degradación de las probetas, muestra resultados variables y difíciles de interpretar. Debido a esto, se van a comparar los resultados obtenidos con fotografías de las fibras del papel realizadas con un microscopio electrónico de barrido.



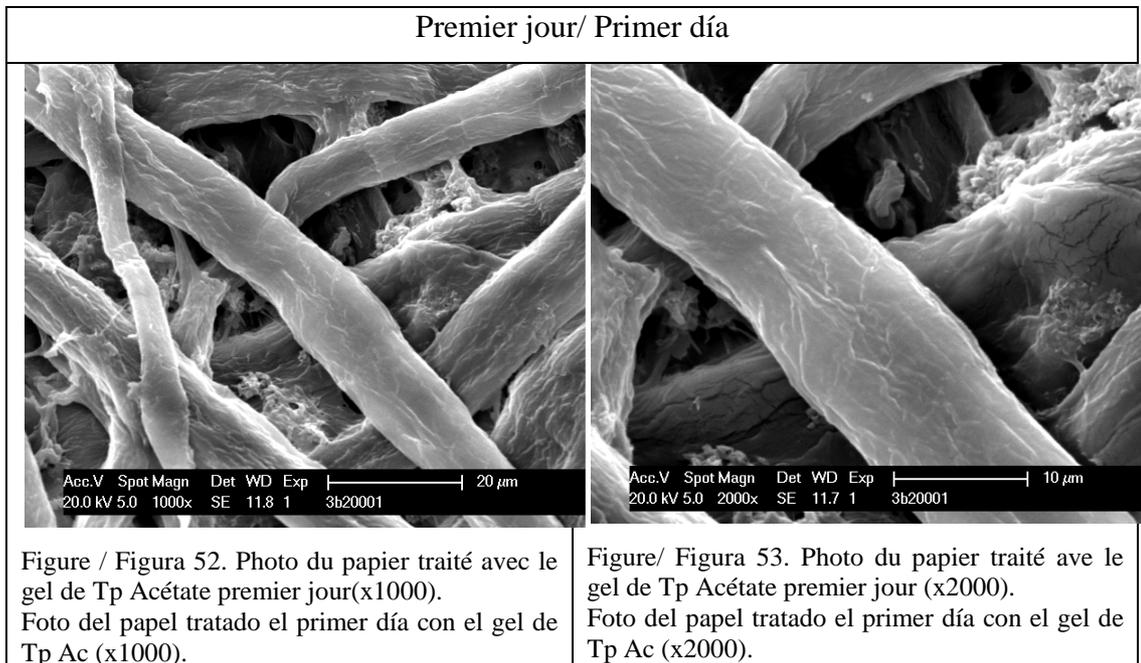
Graphique/ Gráfico 64. Comparaison des résultats de trois jours de traitement du gel H₂O et celui de TpAc/ Comparación de los resultados de tres días de tratamiento del gel H₂O y Tp Ac.

Pour ce faire, dès que nous obtenons les résultats de la méthode de marquage par la HRP-His, nous réalisons les images en microscopie électronique à balayage. Les résultats du marquage sont présentés sur le graphique 64 et les images correspondantes sont présentées sur les figures suivantes.

Les images présentées sont celles prises sur des papiers traités pendant deux heures.

Una vez obtenidos los resultados del método HRP-His y la cámara CCD se procede a la realización de las fotografías con el microscopio electrónico de barrido y posteriormente, se compararán las imágenes con los gráficos arriba expuestos.

Las siguientes imágenes muestran fibras de papel tratadas durante dos horas.



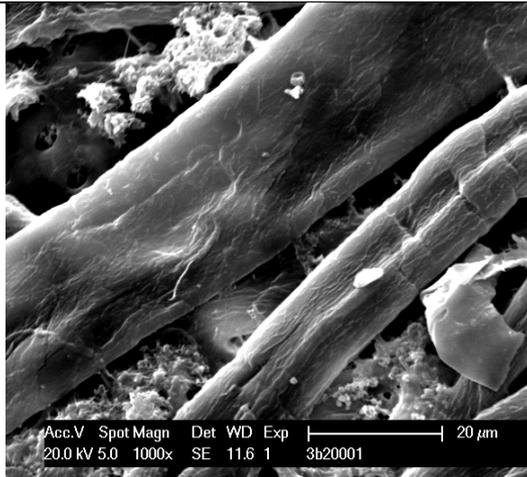


Figure /Figura 54. Photo du papier traité avec le gel H₂O, premier jour (x1000).
Foto del papel tratado el primer día con el gel de H₂O (x1000).

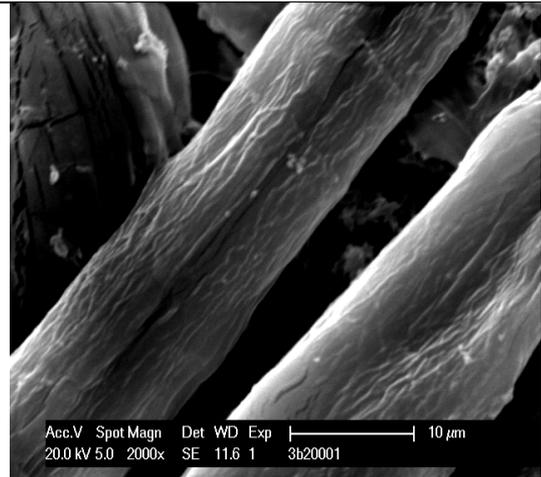


Figure /Figura 55. Photo du papier traité avec le gel H₂O, premier jour (x2000).
Foto del papel tratado el primer día con el gel de H₂O (x2000).

Deuxième jour/ Segundo día

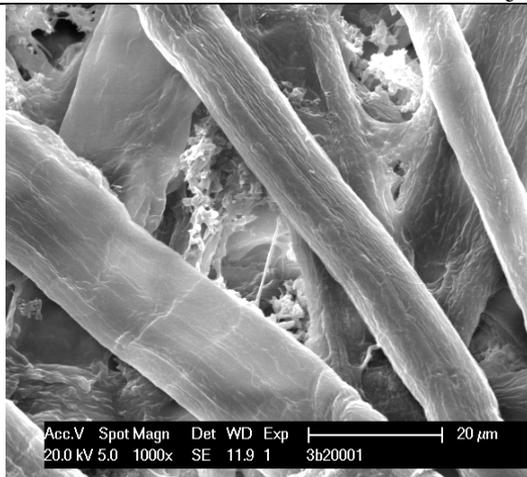


Figure /Figura 56. Photo du papier traité avec le gel de Tp Acétate deuxième jour (x1000).
Foto del papel tratado el segundo día con el gel TpAc (x1000).

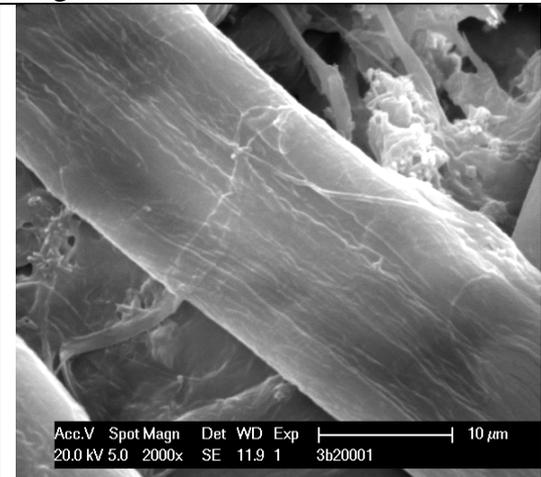


Figure /Figura 57. Photo du papier traité avec le gel de Tp Acétate deuxième jour (x2000).
Foto del papel tratado el segundo día con el gel TpAc(x2000).

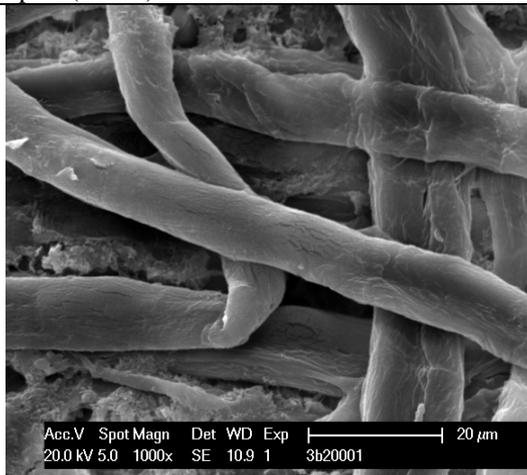


Figure /Figura 58. Photo du papier traité avec le gel H₂O, deuxième jour (x1000).
Foto del papel tratado el segundo día con el gel H₂O (x1000).

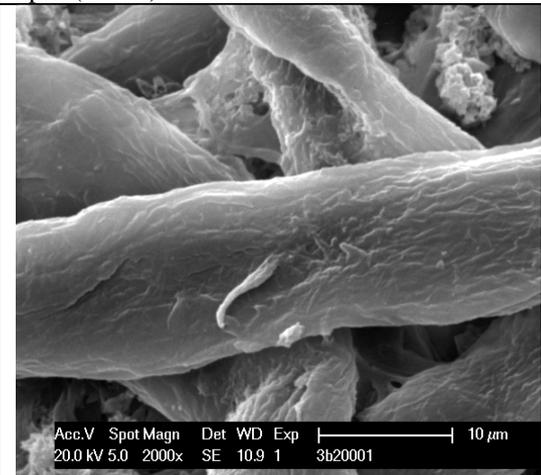
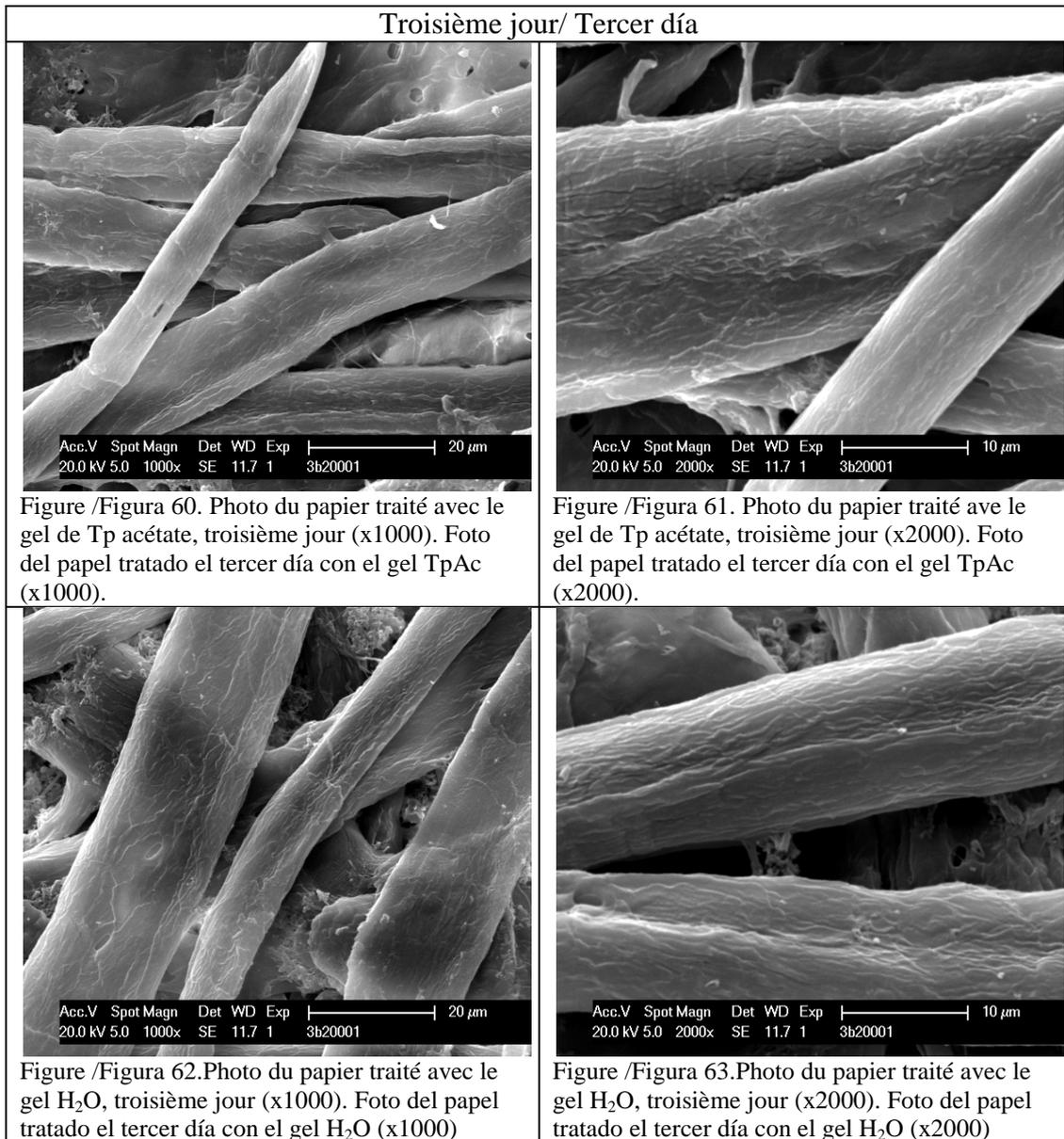


Figure /Figura 59. Photo du papier traité avec le gel H₂O, deuxième jour (x2000).
Foto del papel tratado el segundo día con el gel H₂O(x2000)



Nous observons clairement une différence entre les papiers traités avec les deux gels. Nous pouvons clairement observer que le papier traité avec le gel préparé avec le tampon acétate est mieux réparé que celui traité avec le gel H₂O. Les fibres traitées le deuxième jour, ont un meilleur aspect que le reste des fibres.

Se observa una clara diferencia entre los papeles tratados con los dos gels. Se puede afirmar que las fibras que han estado expuestas al gel TpAc poseen un mejor aspecto que las tratadas con el gel H₂O. Las fibras tratadas con el gel Ac el segundo día, presentan mejor aspecto que el resto de las fibras de otros días.

Nous constatons également qu'à partir du troisième jour les résultats sont moins bons en accord avec les résultats obtenus avec le marquage HRP-His.

Se observa que a partir del tercer día los resultados son menos buenos si los comparamos con los resultados de la prueba HRP-His.

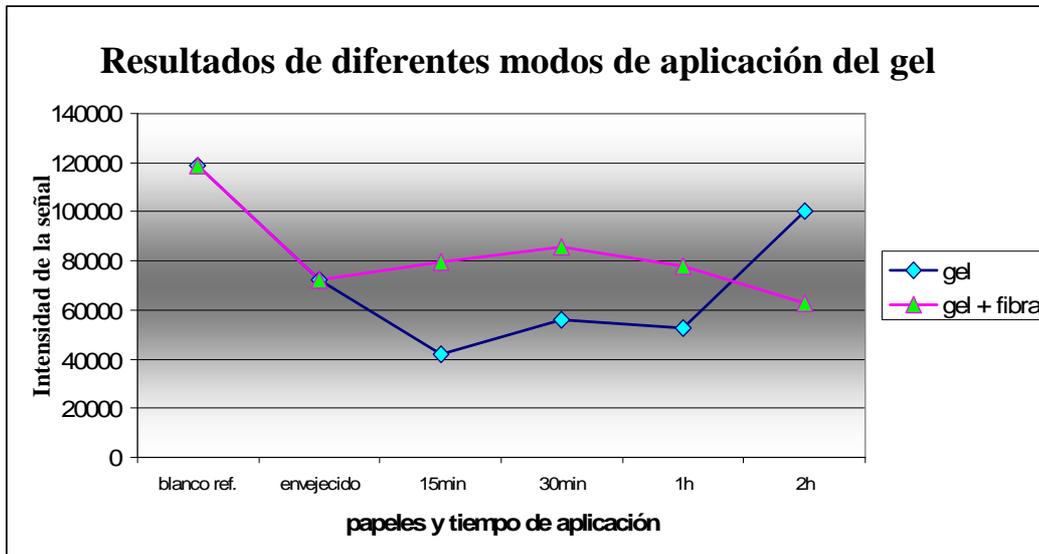
III.9 Tissu synthétique séparateur dans le traitement de la fibre / Tratamiento con tejido sintético separador.

III.9.1 Comparaison du traitement avec et sans Reemay avec la camera CCD et des photographies du microscope électronique MEB/ Comparación del tratamiento con y sin Reemay con la cámara CCD y fotografías MEB.

Les premières images obtenues par microscopie électronique nous révélaient l'existence de quelques résidus de ce qui pourrait être le gel. Pour cette raison nous allons séparer le papier et le gel à l'aide d'un tissu non tissé –Reemay, tissu de polyester-. Pour observer les résultats, nous allons utiliser à la fois le marquage par la HRP-His et la microscopie électronique.

Las primeras fotografías obtenidas con el microscopio electrónico de barrido MEB mostraban la existencia de algún residuo del gel. Por este motivo se han repetido las mismas pruebas utilizando un tejido no tejido –Reemay, tejido de poliéster- para separar el papel del gel. Para comprobar su eficacia, se emplea la técnica de HRP-His y la microscopía electrónica.

Premier jour / primer día:



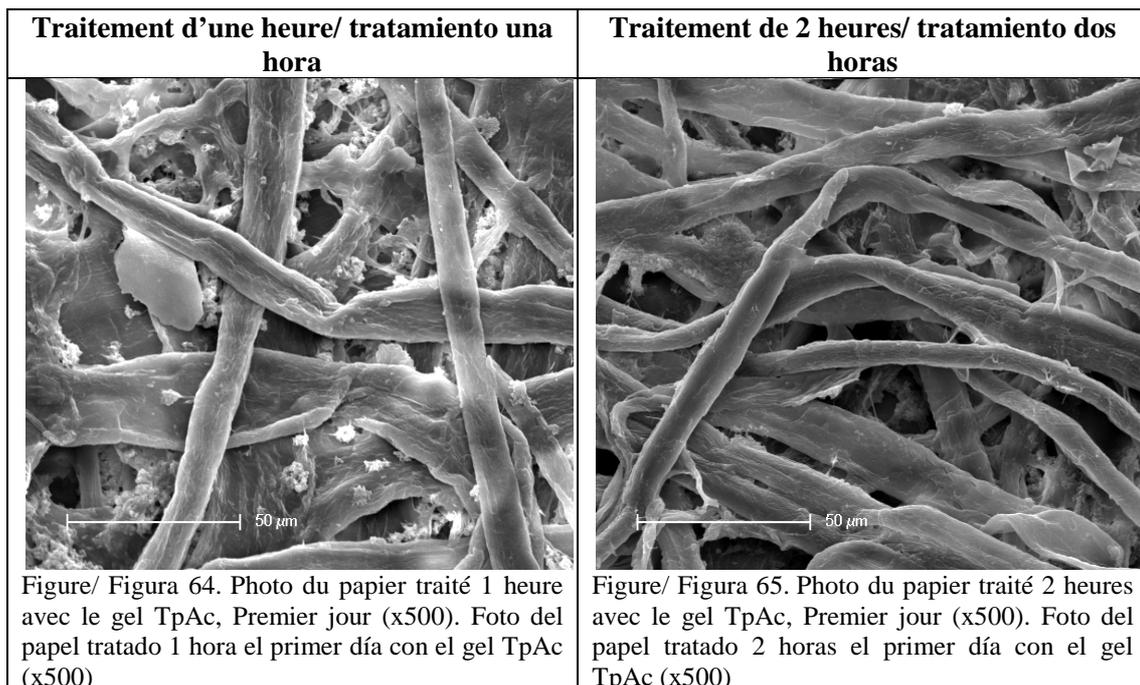
Graphique/ Gráfico 65. Resultados de la cámara CCD del tratamiento del gel enzimático con y sin tejido separador.

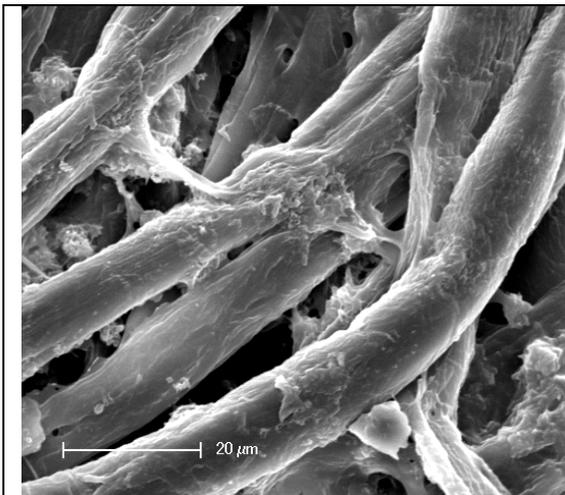
- **Photographies des fibres traitées avec le gel séparé par Reemay /**

Fotografías de las fibras tratadas con el gel separado con Reemay:

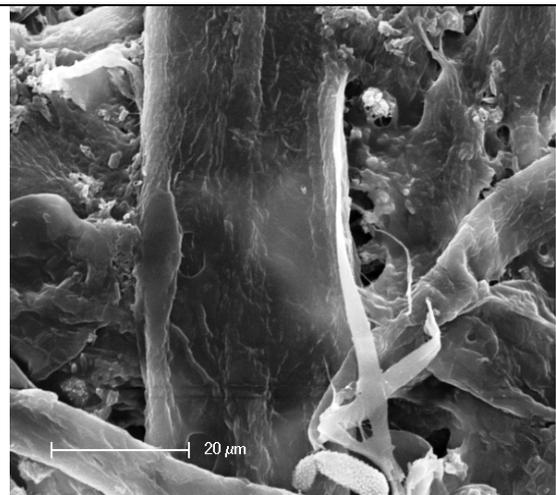
Nous comparons les images de microscopie électronique, du premier jour de traitement du gel TpAc avec le tissu pendant une et deux heures.

Se compara las imágenes de microscopio electrónico, del primer día de tratamiento con tejido, durante una y dos horas con el gel TpAc.

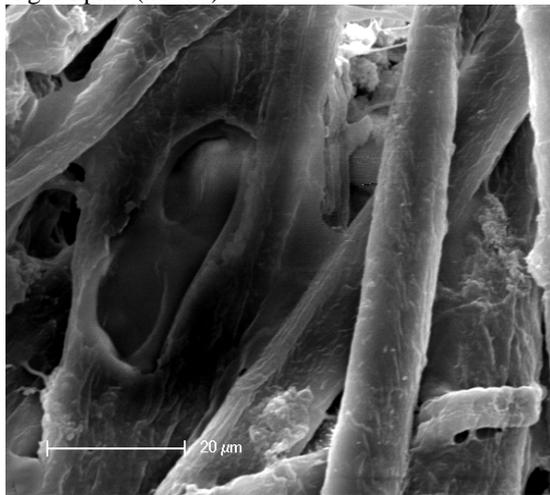




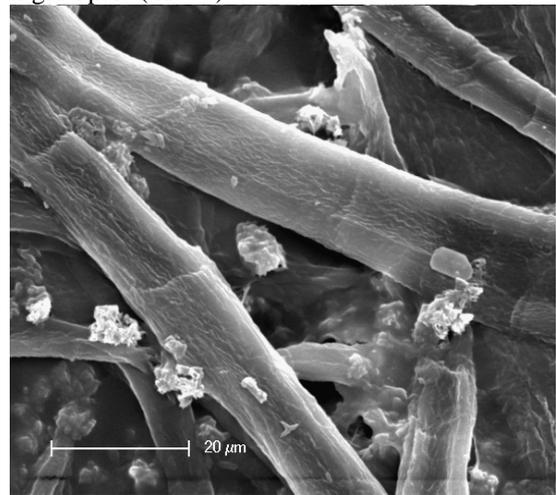
Figure/ Figura 66. Photo du papier traité une heure avec le gel Tp Ac, Premier jour (x1000). Foto del papel tratado una hora el primer día con el gel TpAc (x1000)



Figure/ Figura 67. Photo du papier traité deux heures avec le gel Tp Ac, Premier jour (x1000). Foto del papel tratado dos horas el primer día con el gel TpAc (x1000)



Figure/ Figura 68 Photo du papier traité une heure avec le gel Tp Ac, Premier jour (x1000). Foto del papel tratado una hora el primer día con el gel TpAc (x1000).



Figure/ Figura 69. Photo du papier traité deux heures avec le gel Tp Ac, Premier jour (x1000). Foto del papel tratado dos horas, el primer día con el gel TpAc (x1000).

Nous pouvons observer que les fibres traitées pendant deux heures ont un meilleur aspect que celles traitées pendant une heure. De plus, les restes de gel et les charges observées habituellement sans tissu ont ici disparu. En général, les fibres semblent plus propres qu'avec le traitement sans tissu.

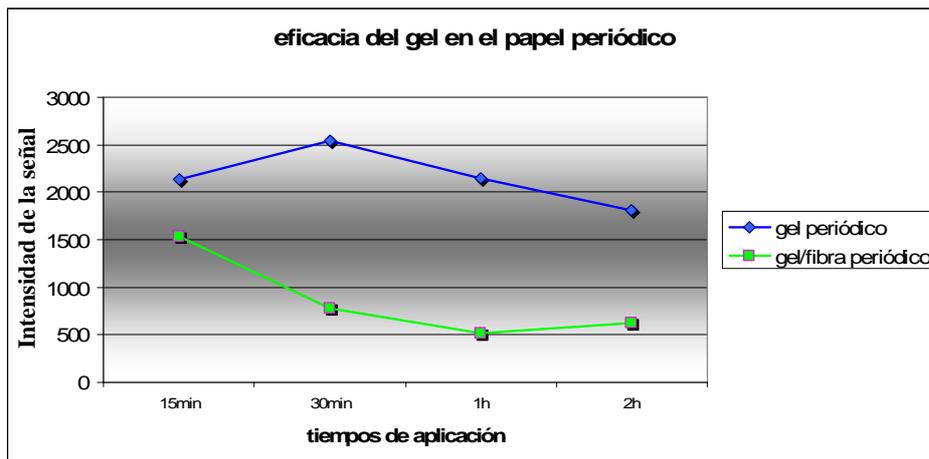
Se observa que las tratadas durante dos horas tienen mejor aspecto que las de una hora. No parece que existan restos de gel e incluso permanecen restos de las cargas que suelen desaparecer después de los lavados. En general, las fibras parecen más limpias que con el tratamiento sin tejido separador.

III.9.2 Traitement du papier journal / Tratamiento del papel de periódico

Nous allons répéter les mêmes tests pour un papier journal vieilli avec 399 joules de rayons UV. D'une part on met le papier journal en contact direct avec le gel et d'autre part, nous séparons le gel du papier avec un tissu.

Se repiten los mismos test con un papel de periódico envejecido artificialmente con 399 julios de rayos ultravioletas UV. Se aplicarán dos métodos: el gel enzimático puesto en contacto directo con el papel y el gel separado del papel con Reemay.

Résultats Caméra CCD / Resultados cámara CCD:



Graphique/ Gráfico 66. Comparaison des traitements enzymatiques sur un papier journal avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático en un papel de periódico con y sin Reemay.

Nous constatons tout d'abord que l'activité enzymatique de la HRP est beaucoup plus faible en présence des encres du papier journal. Cela pourrait être dû à l'inhibition des enzymes par les encres et/ ou les autres substances présentes dans le papier.

La respuesta de la actividad enzimática de la enzima HRP en la cámara CCD es mucho más lenta en presencia de las tintas del papel periódico. Esto puede ser causado por la inhibición de las enzimas causado por la tinta y/u otras sustancias presentes en el papel.

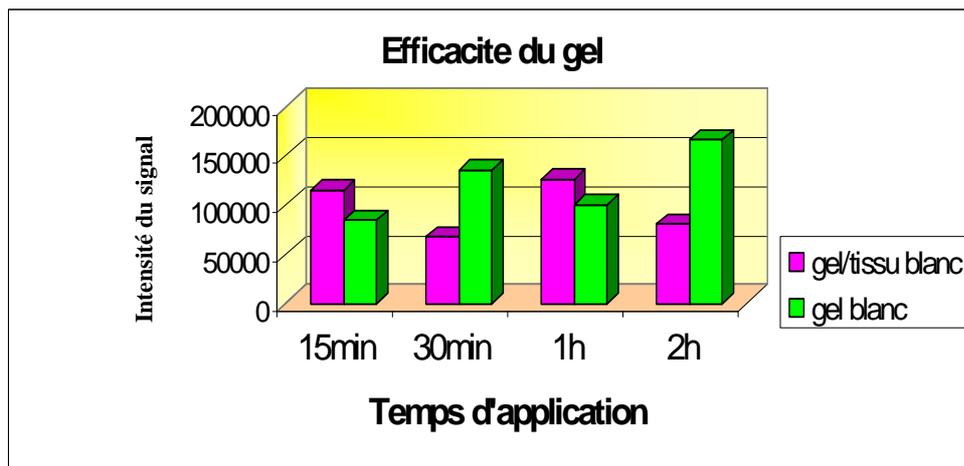
Nous observons également que le traitement fonctionne mieux en utilisant le tissu non tissé –Reemay-.

Se observa que el tratamiento funciona mejor con el tejido no tejido- Reemay.

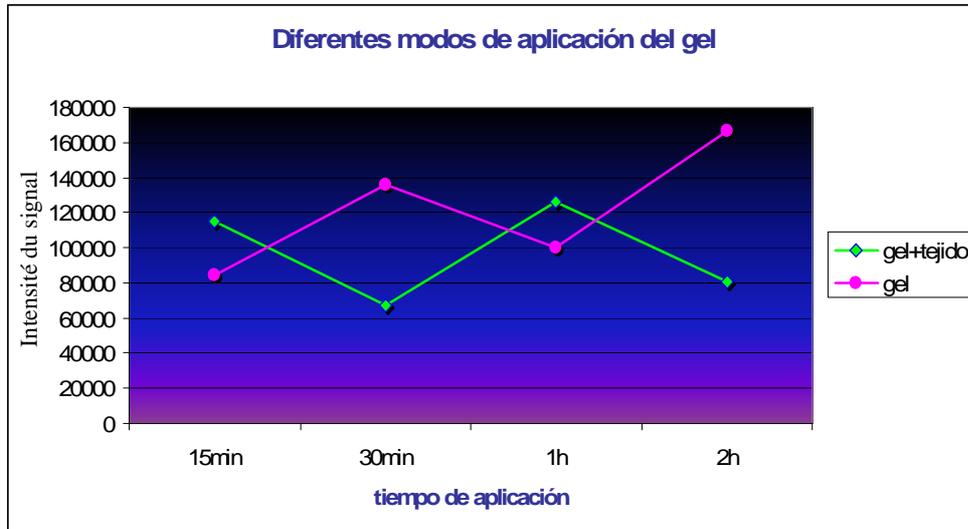
III.9.3 Comparaison des deux traitements, sur papier journal et blanc / Comparativa de dos tratamientos, en papel de periódico y blanco:

L'étude suivante compare le traitement du gel enzymatique avec et sans Reemay sur deux papiers : Un blanc de Claire Fontaine 80 g/m² (c'est le même papier utilisé auparavant) et un autre papier journal, vieilli avec 399 Joules UV. Nous allons réaliser la mesure de ce gel le premier et le dernier jour pour observer la perte d'efficacité du gel.

La siguiente prueba trata de comparar el tratamiento del gel enzymático con y sin Reemay, en dos tipos de papeles: uno blanco de Claire Fontaine 80g/m² (iguales a los que hemos utilizado hasta el momento) y otro papel de periódico, envejecido artificialmente con 399 julios UVA. Se realizará la medida el primer día y el tercero que es cuando el gel pierde eficacia.



Graphique en français/ Gráfico en francés 67. Comparaison des traitements enzymatiques sur un papier blanc avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzymático en un papel blanco con y sin Reemay.

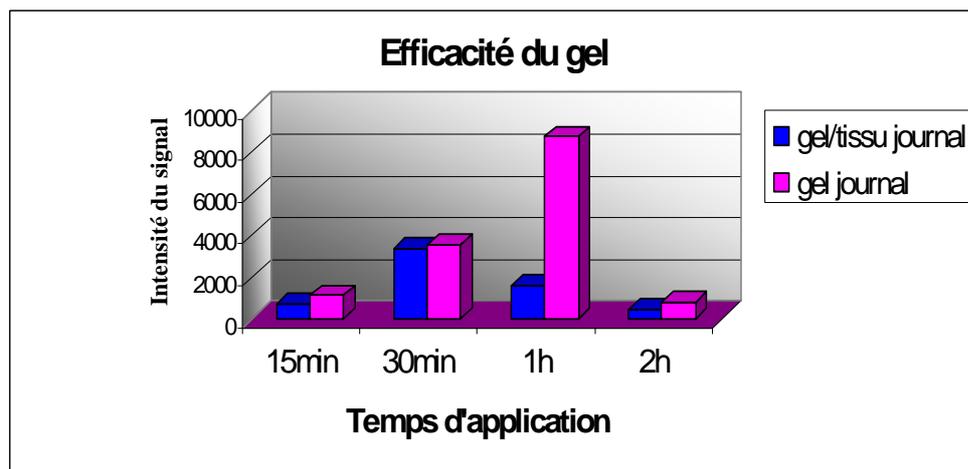


Graphique en espagnol/ Gráfico en español 68. Comparaison des traitements enzymatiques sur un papier blanc avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático en un papel blanco con y sin Reemay.

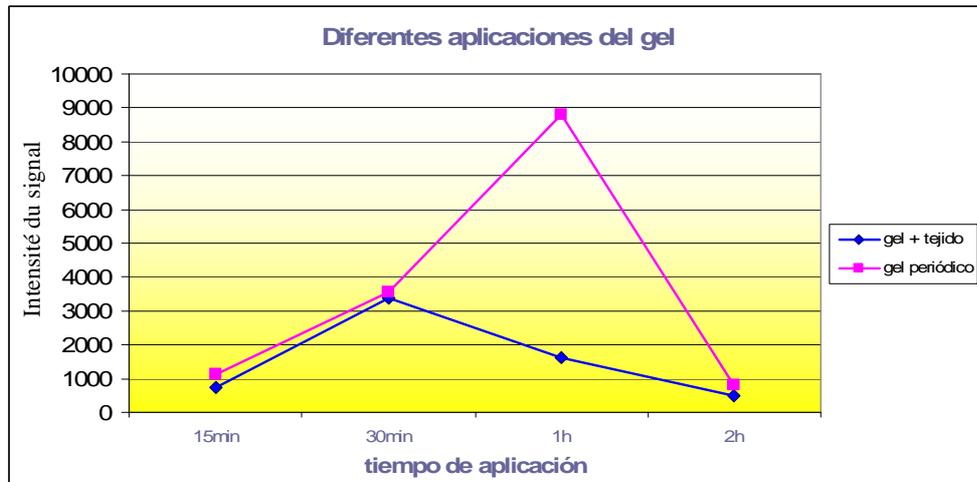
- **Résultat pour le papier journal / Resultado con el papel de periódico:**

Nous allons répéter la même étude avec le papier journal.

Se repite la misma prueba con el papel de periódico.



Graphique en français/ Gráfico en francés 69. Comparaison des traitements enzymatiques sur un papier journal avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático en un papel de periódico con y sin Reemay.



Graphique en espagnol/ Gráfico en español 70. Comparaison des traitements enzymatiques sur un papier journal avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático en un papel de periódico con y sin Reemay.

Ici encore, le traitement avec le tissu non tissé –Reemay- donne de meilleurs résultats.

L'intensité du signal est encore une fois inférieure pour le papier journal car l'activité enzymatique est inhibée avec certaines substances ou encres de ce papier.

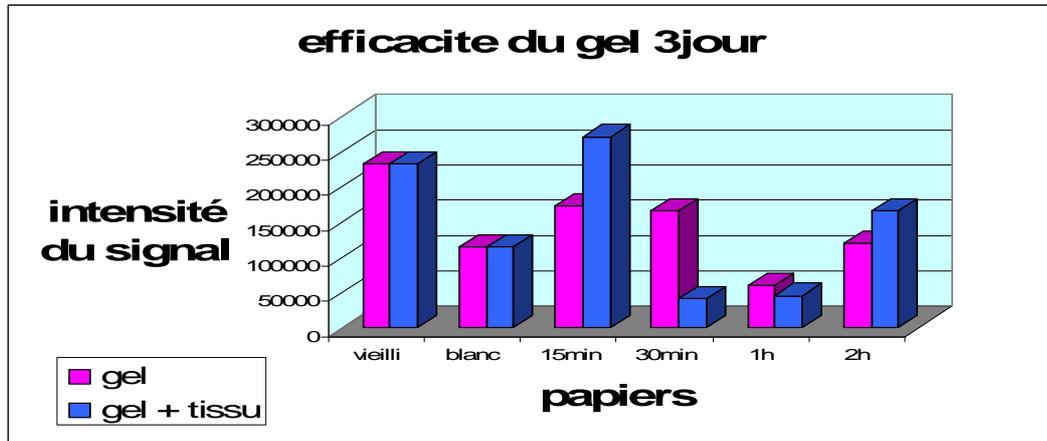
Para los dos tipos de papeles el resultado con el tejido no tejido, Reemay- es mejor. La intensidad de la señal es otra vez inferior para el papel periódico porque seguramente la actividad enzimática es inhibida con algunas sustancias o tintas de este papel.

- **Résultats du troisième jour/ Resultados del tercer día :**

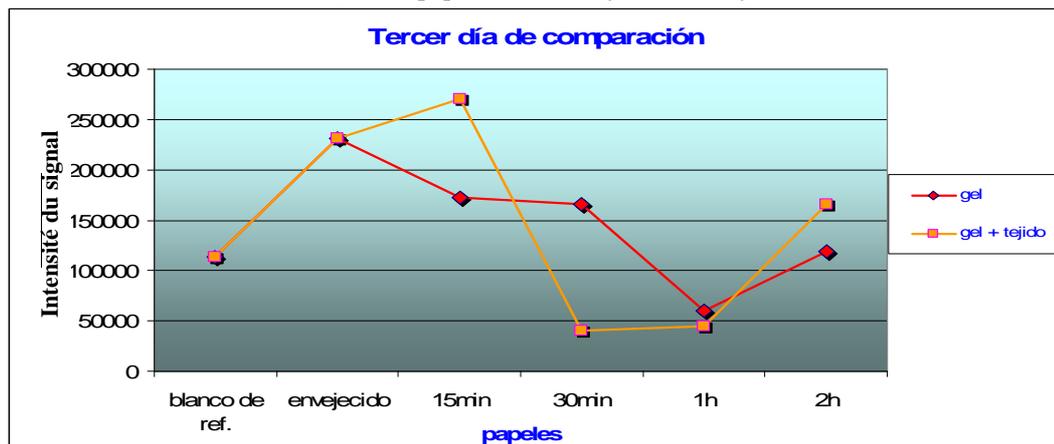
Comme nous l'avons observé précédemment, le gel reste actif jusqu'au troisième jour. Nous avons donc répété le traitement afin d'observer l'évolution de l'activité du gel avec Reemay sur le papier et sur le journal.

En pruebas anteriores el gel repara hasta el tercer día, por lo que se repitió la prueba para observar la evolución del gel con el Reemay sobre el papel blanco y de periódico.

- Résultats du troisième jour du gel pour les papiers blancs/ Resultados del tercer día del gel para el papel blanco:



Graphique en français/ Gráfico en francés 71. Comparaison du traitement enzymatique (troisième jour) sur un papier blanc avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático (tercer día) en un papel blanco con y sin Reemay.

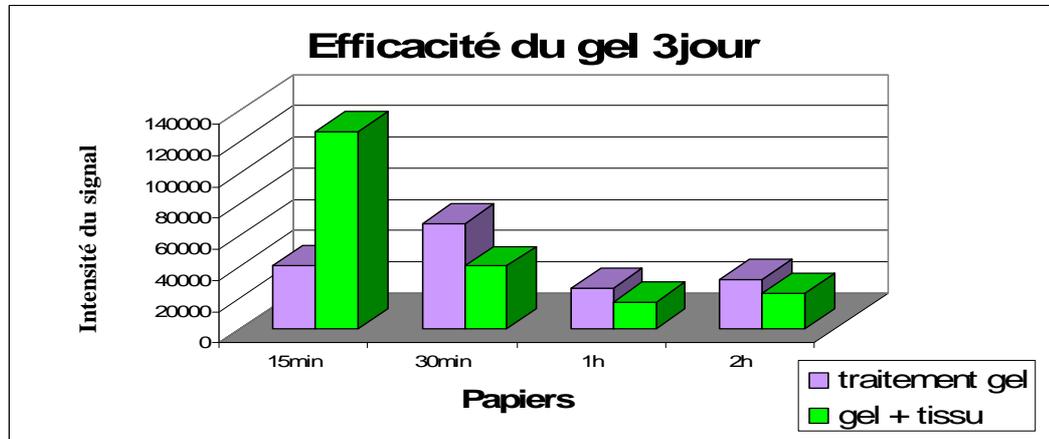


Graphique en espagnol/ Gráfico en español 72. Comparaison du traitement enzymatique (troisième jour) sur un papier blanc avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático (tercer día) en un papel blanco con y sin Reemay.

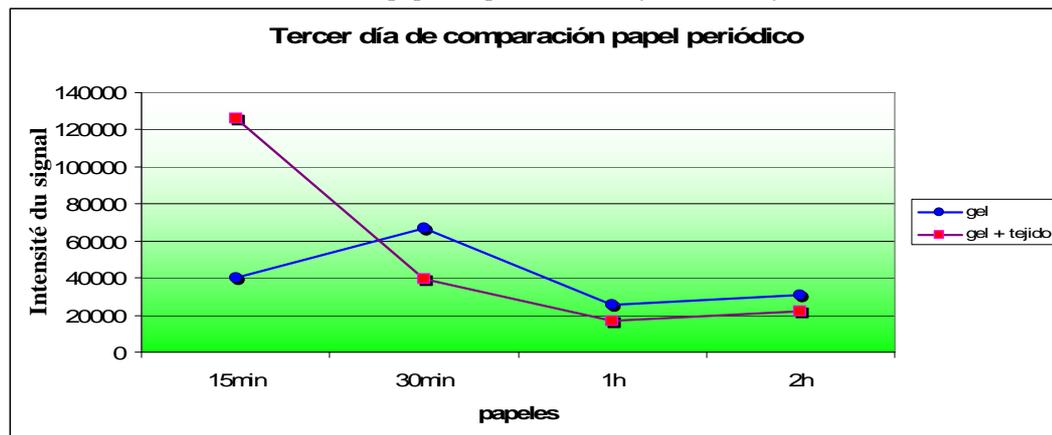
Les résultats du gel enzymatique avec et sans le tissu, démontrent que le gel répare le papier pendant la première heure de traitement. Par contre, pour des temps plus longs, le papier se dégrade. Le temps de contact avec le gel enzymatique doit donc être restreint à deux heures.

Los resultados muestran que tanto el gel con tejido como sin él, repara el papel transcurrida una hora. Sin embargo, a las dos horas el papel empieza a ser deteriorado y por lo tanto, no se debería exponer este gel enzimático al papel, a partir de ese tiempo.

- Résultats du troisième jour du gel pour le papier journal/ Resultados del tercer día del gel para el papel de periódico:



Graphique en français/ Gráfico en francés 73. Comparaison du traitement enzymatique (troisième jour) sur un papier journal avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático (tercer día) en un papel de periódico con y sin Reemay.



Graphique en espagnol/ Gráfico en español 74. Comparaison du traitement enzymatique (troisième jour) sur un papier journal avec et sans Reemay / Comparación del tratamiento enzimático (tercer día) en un papel de periódico con y sin Reemay.

Une nouvelle fois, le gel préparé depuis 3 jours semble capable de consolider le papier journal.

En conclusion, le traitement avec le tissu Reemay permet de mieux réparer le papier. Cependant, afin de confirmer les résultats obtenus grâce au marquage HRP-His, il sera nécessaire de réaliser des tests complémentaires

Los resultados de los dos tratamientos, obtenidos con la cámara CCD muestran que el gel con el Reemay repara mejor el papel. Pero, para cerciorarse se realizará otro tipo de test.

III.10 Application d'un nouveau substrat / Aplicación de un nuevo sustrato.

Au chapitre III.6, nous avons soulevé le fait que le substrat glucose-1-phosphate, que nous étions en train d'utiliser pour le traitement enzymatique, n'était pas celui recommandé par Kobayashi *et al.* [444].

Dorénavant, nous utiliserons le substrat β -cellobiose fluoride afin de le comparer au substrat glucose-1-phosphate.

Les études réalisées seront, grâce au marquage par la HRP-His suivies de la microscopie électronique.

En el capítulo III.6, se ha comentado que el sustrato glucosa-1-fosfato que se estaba utilizando para el tratamiento enzimático, no era el recomendado en el artículo de Kobayashi *et al.* [444].

A partir de ahora, se usará el sustrato β -celobiosa fluorada y se comparará al de glucosa-1-fosfato para ver las diferencias que existen. Las pruebas realizadas serán en primer lugar con la cámara CCD y posteriormente con el microscopio electrónico de barrido

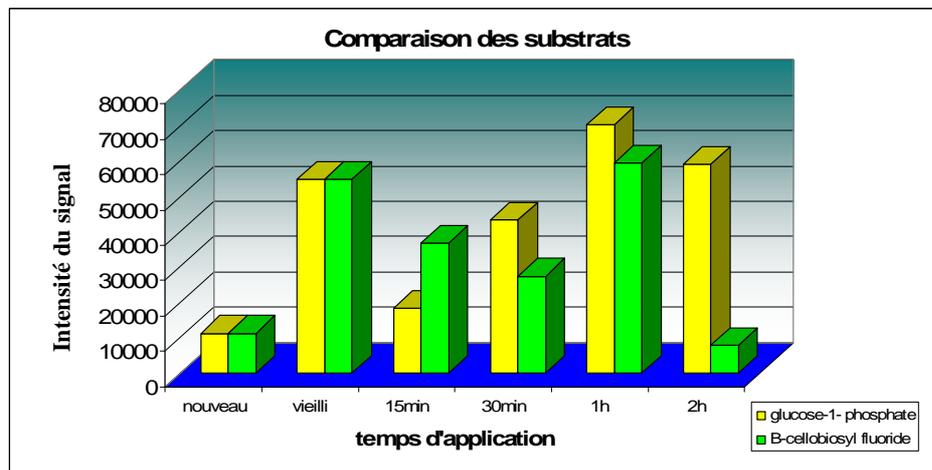
⁴⁴⁴ KOBAYASHI S., SHODA S., "Chemical síntesis of cellulose and cello-oligomers using a hydrolysis enzyme as a catalyst" Int. J. Biol. Macromol, Volume 17, number 6, (1995), p.373-379.

III.10.1 Comparaison des résultats des deux substrats avec la camera CCD/ Comparación de los resultados de los dos sustratos con la cámara CCD.

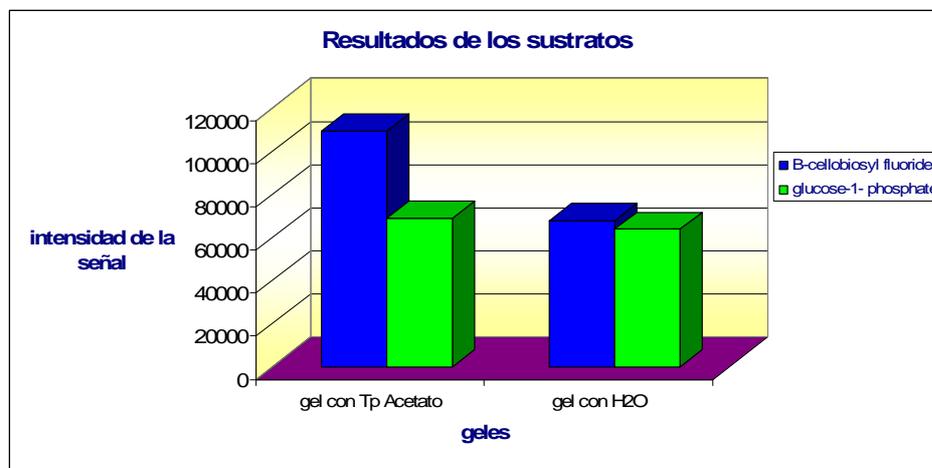
Pour vérifier quel substrat était le meilleur pour notre traitement de consolidation, nous avons comparé l'activité de consolidation de deux gels préparés avec chacun des substrats.

Para verificar cuál es el mejor sustrato para el tratamiento de consolidación se repetirán diversas veces las mismas pruebas.

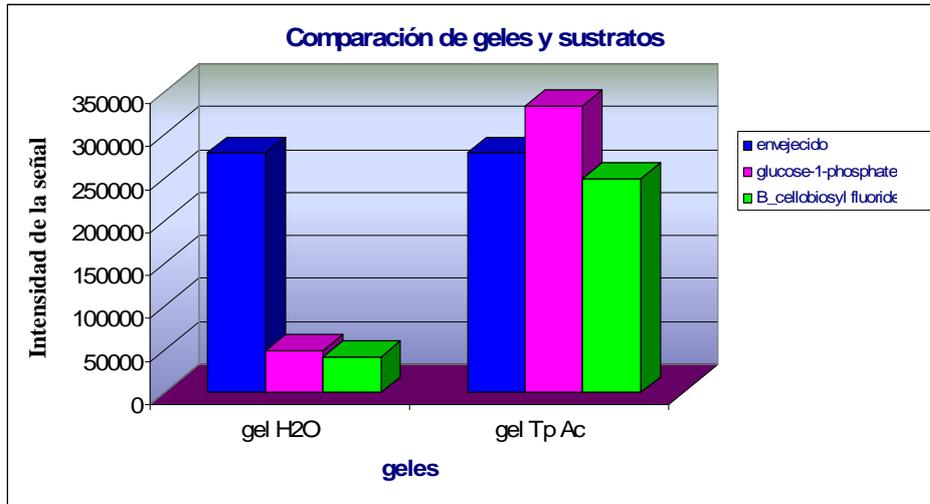
Los gráficos siguientes muestran los resultados.



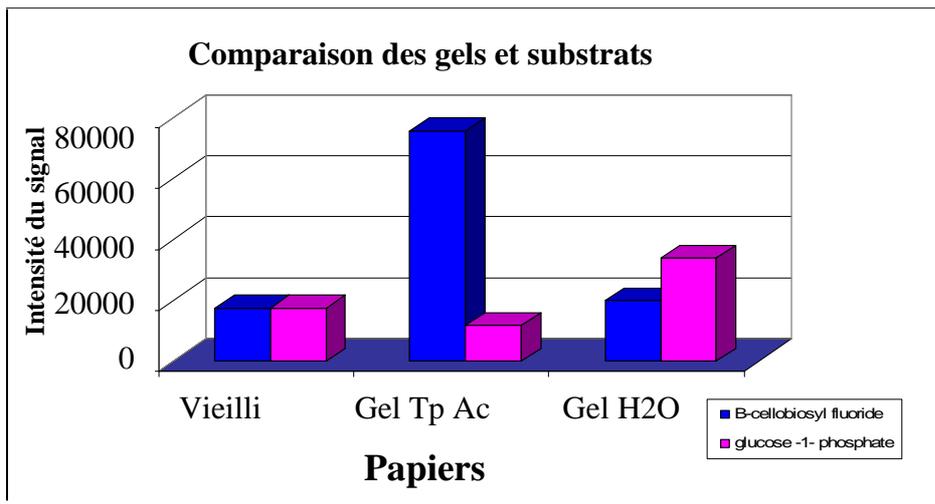
Graphique en français/ Gráfico en francés 75. Première comparaison du traitement enzymatique avec deux substrats différents/ Comparación del tratamiento enzimático con dos sustratos diferentes.



Graphique en espagnol/ Gráfico en español 76. Deuxième comparaison du traitement enzymatique avec deux gels différents (deux substrats et deux gels avec H₂O et TpAc)/Segunda comparación del tratamiento enzimático con dos sustratos y dos geles con H₂O y TpAc).



Graphique en espagnol/ Gráfico en español 77. Troisième comparaison du traitement enzymatique avec deux gels différents (deux substrats et deux gels avec H₂O et TpAc)/ Tercera comparación del tratamiento enzimático con dos geles diferentes (dos sustratos y dos geles con H₂O y TpAc).



Graphique en français/ Gráfico en francés 78. Quatrième comparaison du traitement enzymatique avec deux gels différents (deux substrats et deux gels avec H₂O et TpAc)/ Cuarta comparación del tratamiento enzimático con dos geles diferentes (dos sustratos y dos geles con H₂O y TpAc).

De cette étude nous pouvons déduire

que le meilleur substrat pour notre traitement est le β -cellobiosyl fluoride.

Nous allons maintenant réaliser quelques images de microscopie électronique pour observer les fibres physiquement.

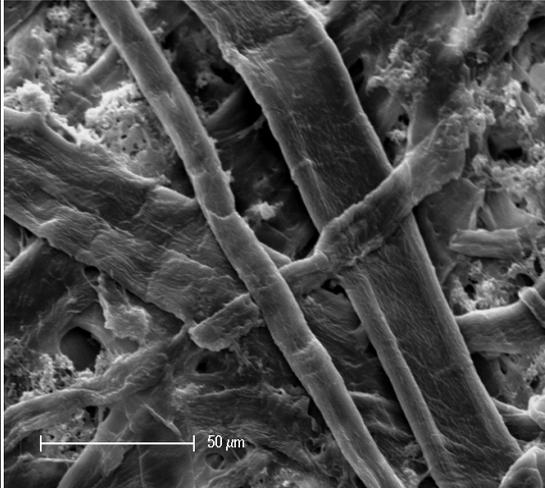
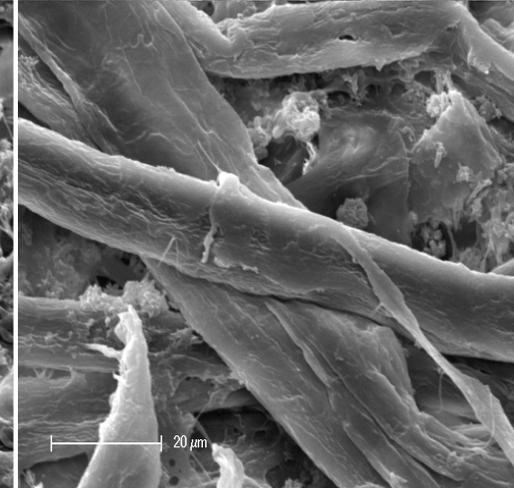
De este estudio se concluye que el mejor sustrato es el β -cellobiosyl fluoride.

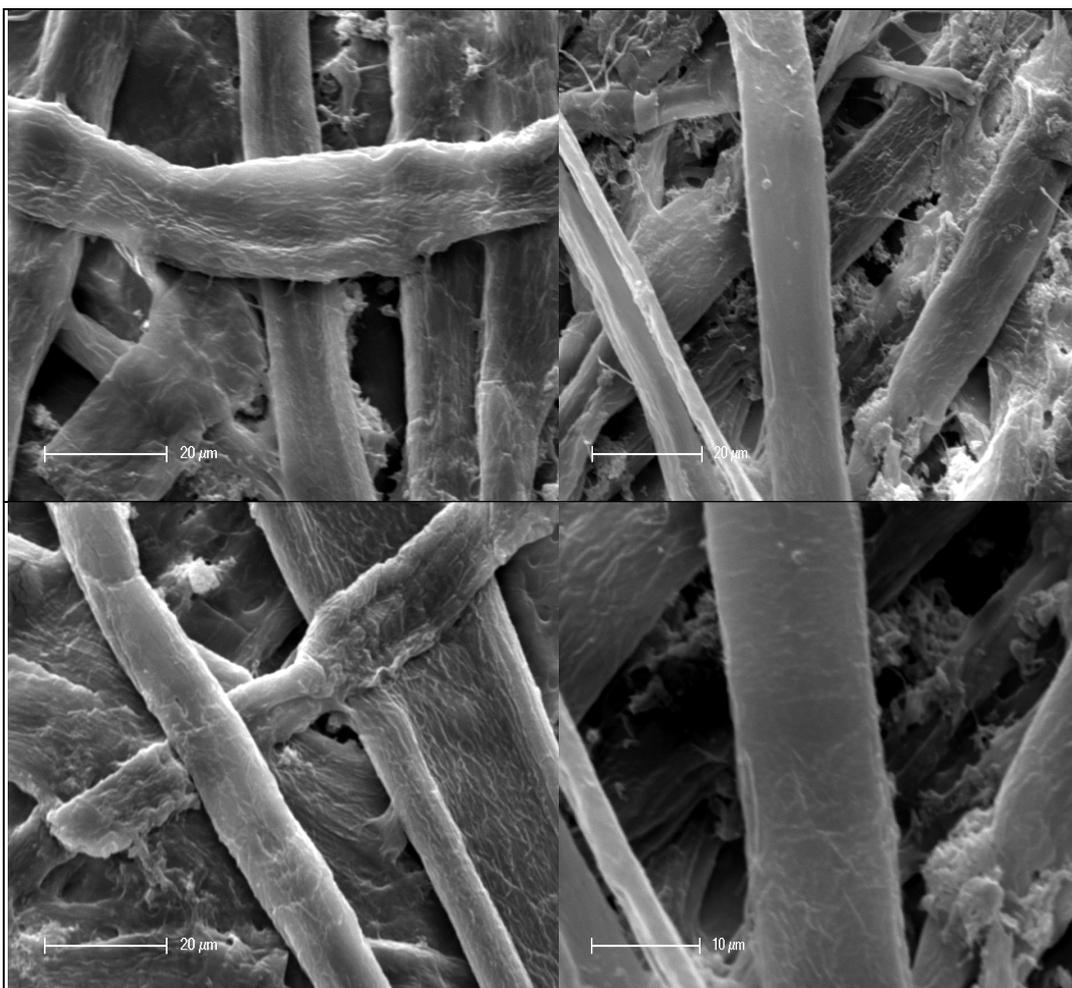
Se van a realizar algunas fotografías con microscopía electrónica para ver físicamente las fibras.

III.10.2 Images MEB des traitements des différents gel, un préparé avec tampon acétate et l'autre avec H₂O. / Fotografías MEB de los tratamientos de geles, uno preparado con tampón acetato y el otro con H₂O.

Les images sont classées selon le substrat employé et selon la préparation du gel -avec H₂O ou avec le tampon acétate Tp Ac-.

Se clasifican las fotografías según el sustrato empleado y si se ha preparado el gel con H₂O o con tampón acetato Tp Ac.

Gel avec Tp Ac et substrat β-cellobiosyl fluoride/ Gel con Tp Ac y el sustrato β-celobiosa fluorada	Gel avec H₂O et le substrat β-cellobiosyl fluoride. / Gel con H₂O y el sustrato β-celobiosa fluorada.
	
<p>Figure/ Figura 70. Fibres traités avec un gel préparé avec le tampon acétate et le substrat β-cellobiosyl fluoride/ Fibras tratadas con un gel preparado con el tampón acetato y le sustrato β-celobiosa fluorada.</p>	<p>Figure/ Figura 71. Fibres traités avec un gel préparé avec de l'eau et le substrat β-cellobiosyl fluoride/ Fibras tratadas con un gel preparado con agua y el sustrato β-celobiosa fluorada.</p>



Figures/ Figuras 72 y 74 (gauche/ izquierda.). Fibres traités avec un gel préparé avec le tampon acétate et le substrat β -cellobiosyl fluoride/ Fibras tratadas con un gel preparado con el tampón acetato y el sustrato β -celobiosa fluorada.

Figures/ Figuras 73 y 75 (droite/derecha). Fibres traités avec un gel préparé avec de l'eau et le substrat β -cellobiosyl fluoride/ Fibras tratadas con un gel preparado con agua y el sustrato β -celobiosa fluorada.



Figures/ Figuras 76 78 y 80 (Gauche/ izquierda.). Febres traites avec un gel préparé avec le tampon acétate et le glucose-1-phosphate/ Fibras tratadas con un gel preparado con el tampón acetato y el sustrato glucosa-1-fosfato.

Figures/ Figuras 77,79 y 81 (dórate/ derecha). Febres traites avec un gel préparé avec de l'eau et le substrat glucose-1-phosphate / Fibras tratadas con un gel preparado con agua y el sustrato glucose-1-fosfato.

Peu de différences apparaissent entre toutes les images. Il semble donc que les différents traitements n'ont pas d'effet visible sur l'aspect des fibres une fois consolidées.

No se aprecian grandes diferencias entre todas las fibras de las imágenes. Parece que los diferentes tratamientos no tienen un efecto visible sobre el aspecto de las fibras, una vez consolidadas.

III.11 Changement de solvant/ Cambio de disolvente

Un des objectifs de cette thèse est la recherche d'une méthode non toxique pour consolider le papier, mais l'utilisation de l'acétonitrile rend ce système très préjudiciable pour la santé.

L'emploi de deux autres solvants est proposé :

- le Diméthylsulfoxyde (DMSO)
- L'éthanol

DMSO (Diméthylsulfoxyde)

Les premiers points positifs pour ce solvant sont qu'il présente une précipitation blanchâtre lors du mélange avec tous les autres composants de la solution enzymatique, il gélifie très rapidement et en état liquide il est plutôt « huileux » et ne s'évapore pas aussi rapidement.

Uno de los objetivos de esta tesis era la búsqueda de un método inocuo o mínimamente tóxico de consolidación del papel. Pero, el empleo de acetonitrilo convierte este sistema perjudicial para la salud. Por este motivo se experimentó con otros dos disolventes:

- Dimetilsulfósido (DMSO)
- Etanol

DMSO (Dimetilsulfósido)

Las primeras apreciaciones para el disolvente son que al mezclar con todos los componentes de la solución enzimática precipita y gelifica muy rápidamente. En estado líquido es más bien oleoso y no se evapora rápidamente.

Los papeles después del tratamiento con este disolvente presentan un

Cependant l'état des papiers après le traitement avec ce solvant est plus détérioré qu'avant consolidation. Visuellement les papiers sont jaunis et il existe également une dégradation physique (séparation des couches de papier).

De plus les résultats de marquage par la HRP-His nous montrent clairement que la dégradation est importante [Figure 79].

Ethanol

Le choix du solvant éthanol est dû au fait qu'il présente une toxicité inférieure à beaucoup d'autres solvants réduisant ainsi les dangers du protocole.

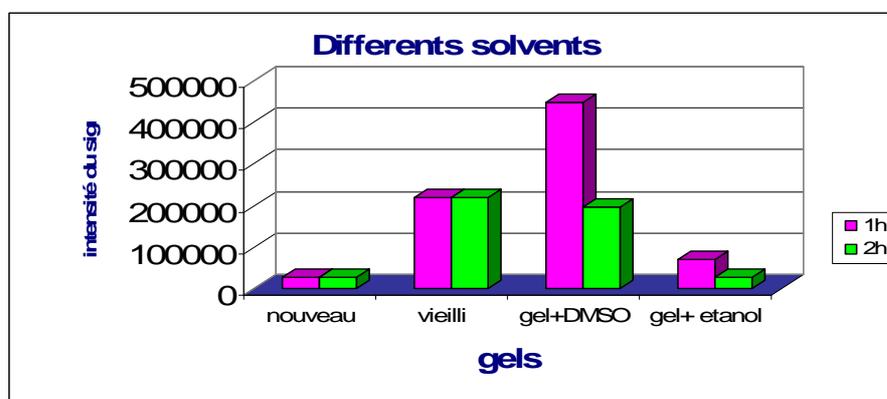
De plus, les résultats démontrent que le gel préparé avec de l'éthanol est capable de consolider le papier, nous allons donc substituer l'acétonitrile par ce solvant beaucoup moins toxique.

estado de deterioro grande, mucho mayor que antes del tratamiento. Visualmente los papeles han oscurecido de color, están más amarillos. Existe también una clara degradación física porque los papeles se separan en estratos y su aspecto es rugoso.

Además los resultados de la cámara CCD muestran la degradación de forma cuantitativa [Figura 79].

Ethanol

Se escogió este disolvente porque tiene una toxicidad inferior a muchos disolventes. Reduciendo de esta manera los peligros del protocolo. Además, los resultados demuestran que las celulasas reparan igualmente el papel en presencia del etanol. Por lo tanto se va a sustituir el acetonitrilo por este disolvente mucho menos tóxico.

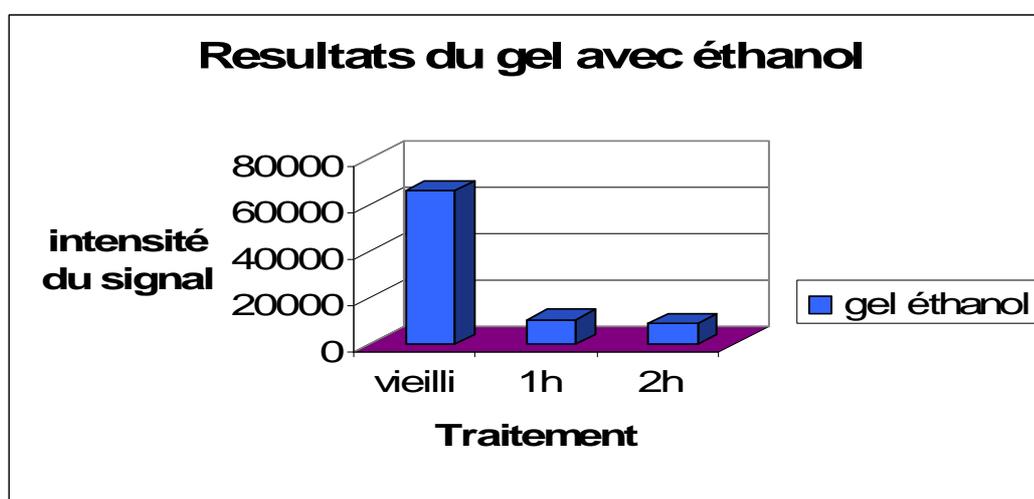


Graphique en français / gráfico en francés 79. Résultats des différents solvants / Resultados de los diferentes disolventes.

III.11.1 Répétition des mesures du gel avec éthanol/ Repetición de las medidas del gel con etanol

Pour nous assurer que les résultats obtenus sont corrects nous répétons le même traitement avec le solvant éthanol.

Para asegurarse que los resultados obtenidos son correctos, se repitió el mismo tratamiento con el disolvente etanol.



Graphique en français/ gráfico en francés 80. Résultats du gel avec ethanol au lieu d' acétonitrile / Resultados del gel con etanol en vez de acetonitrilo.

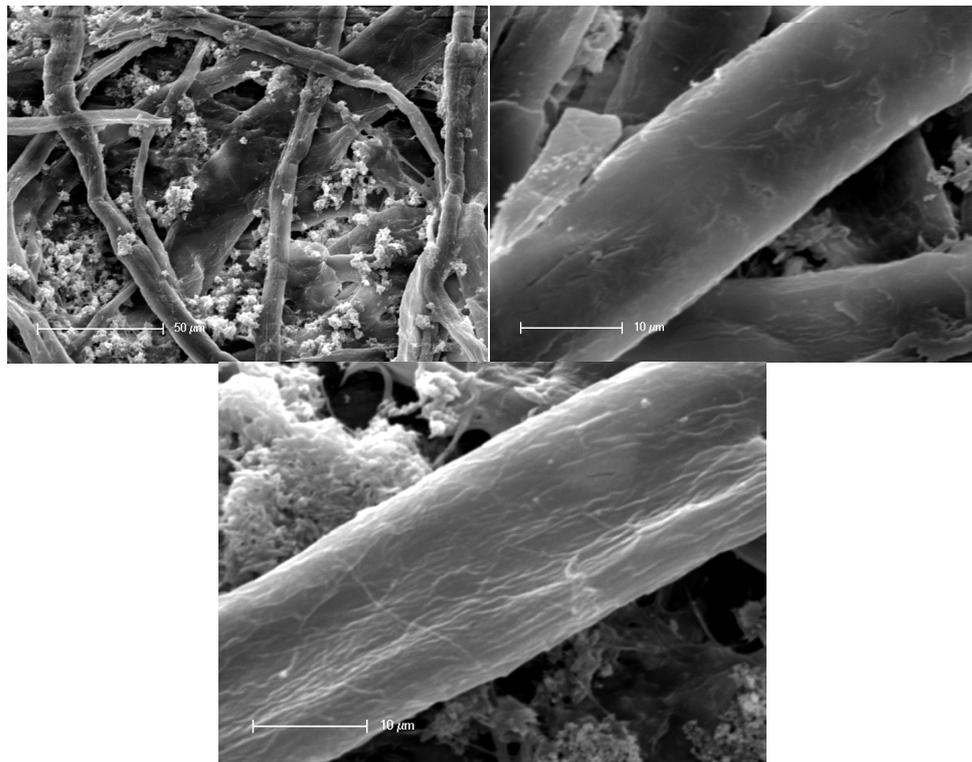
Ces résultats indiquent que le traitement fonctionne très bien. Pour s'en assurer nous avons à nouveau réalisé des images par microscopie électronique de balayage (SEM).

Estos resultados indican que el tratamiento funciona bien. Para cerciorarse de su eficacia se va a proceder a la realización de fotografías con microscopio electrónico de barrido (MEB).

I.11.2 Images par microscopie électronique du traitement du gel avec le solvant éthanol/ Fotografías MEB/SEM del tratamiento con el gel con el disolvente etanol

L'observation des fibres était nécessaire pour voir les divers effect des différents traitements que nous réalisons sur les papiers. À cette occasion, nous avons effectué des images des papiers traités avec le gel enzymatique préparé avec de l'éthanol.

La observación de las fibras era necesaria para ver los posibles efectos de los diferentes tratamientos que se realizaban a los papeles. En esta ocasión se efectuó unas fotografías a unos papeles tratados, con el gel enzimático preparado con etanol.



Figures/ Figuras 82 (x500), 83 y 84 (x2000). Fibras traités avec un gel préparé avec de l'éthanol / Fibras tratadas con un gel preparado con etanol.

Les fibres, à fort grossissement [figures 83 et 84], semblent être réparées correctement. Les images de vue générale [figure 82] font apparaître des agrégats qui ne sont

Las fibras vistas con detalle [figuras 83 y 84], parecen haber sido reparadas correctamente. Sin embargo, la fotografía general del

pas dues au traitement mais à des charges introduites pendant la fabrication du papier afin d'augmenter sa qualité d'impression.

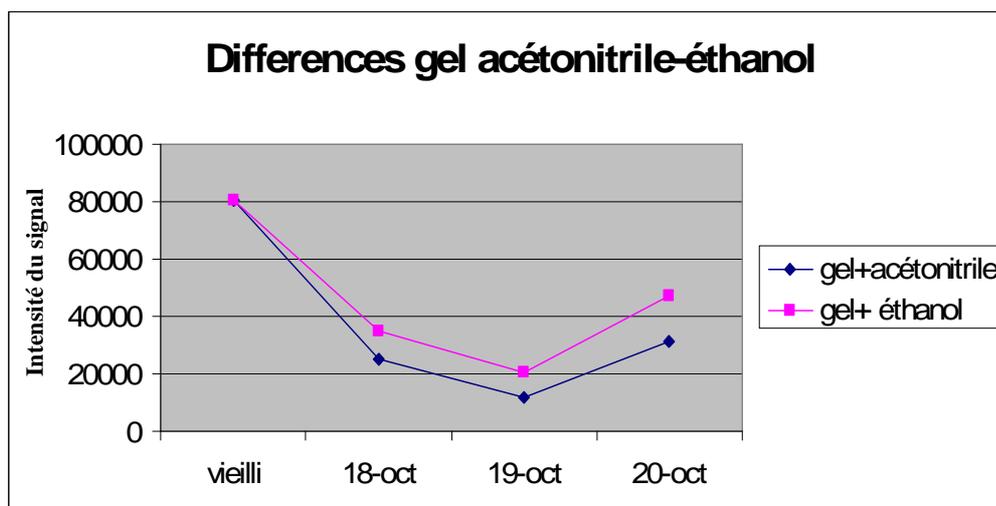
papel [figura 82] muestra que el estado del papel tiene un aspecto sucio debido a las cargas del papel introducidas durante la fabricación del papel.

III.12 Comparaison de l'efficacité des gels préparés avec de l'éthanol ou de l'acétonitrile/ Comparación de la eficacia del disolvente etanol y el acetonitrilo.

III.12.1 Marquage HRP-His/ Marcaje HRP-His

Pour connaître les différences d'efficacité de traitement entre du gel préparé avec l'éthanol et celui préparé avec l'acétonitrile, nous avons traité des papiers pendant trois jours avec chacun des gels.

Para conocer la diferencia entre el tratamiento con el gel fabricado con etanol y el gel que contiene acetonitrilo, se efectuó el tratamiento durante tres días. Los resultados son los siguientes:



Graphique/ Gráfico 85. Comparaison des résultats obtenus avec le traitement enzymatique du gel préparé avec l'acétonitrile et avec l'éthanol. / Comparativa de los resultados obtenidos con el tratamiento enzimático con acetonitrilo y con etanol.

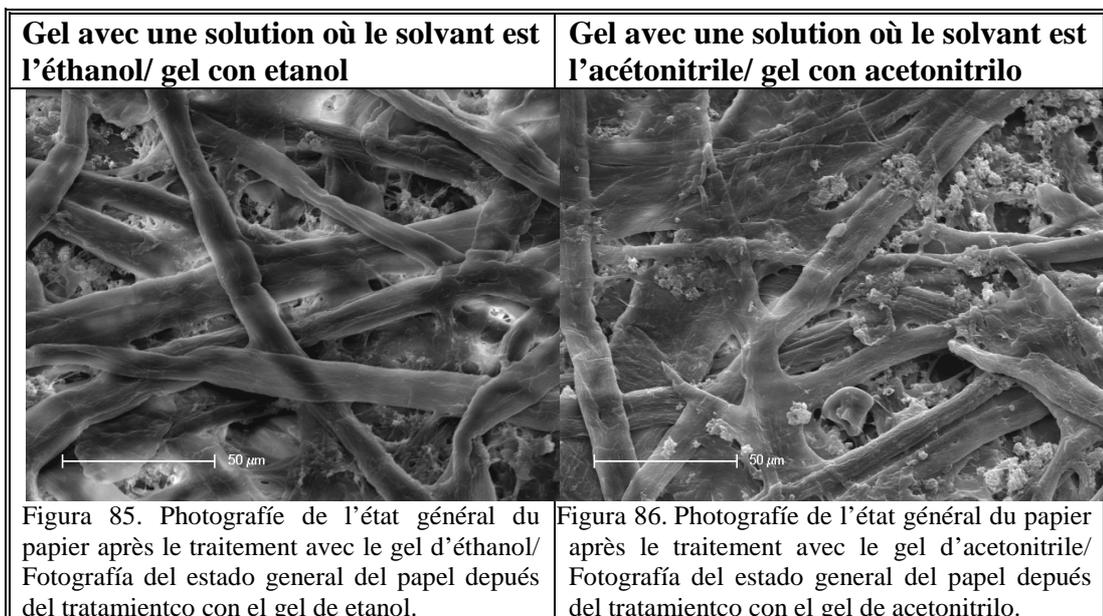
Les résultats nous permettent de mettre en évidence que le traitement ne fonctionne que légèrement mieux avec l'acétonitrile. Ainsi, même si l'effet du gel est inférieur, sa toxicité est moindre et par conséquent, le solvant éthanol sera préféré.

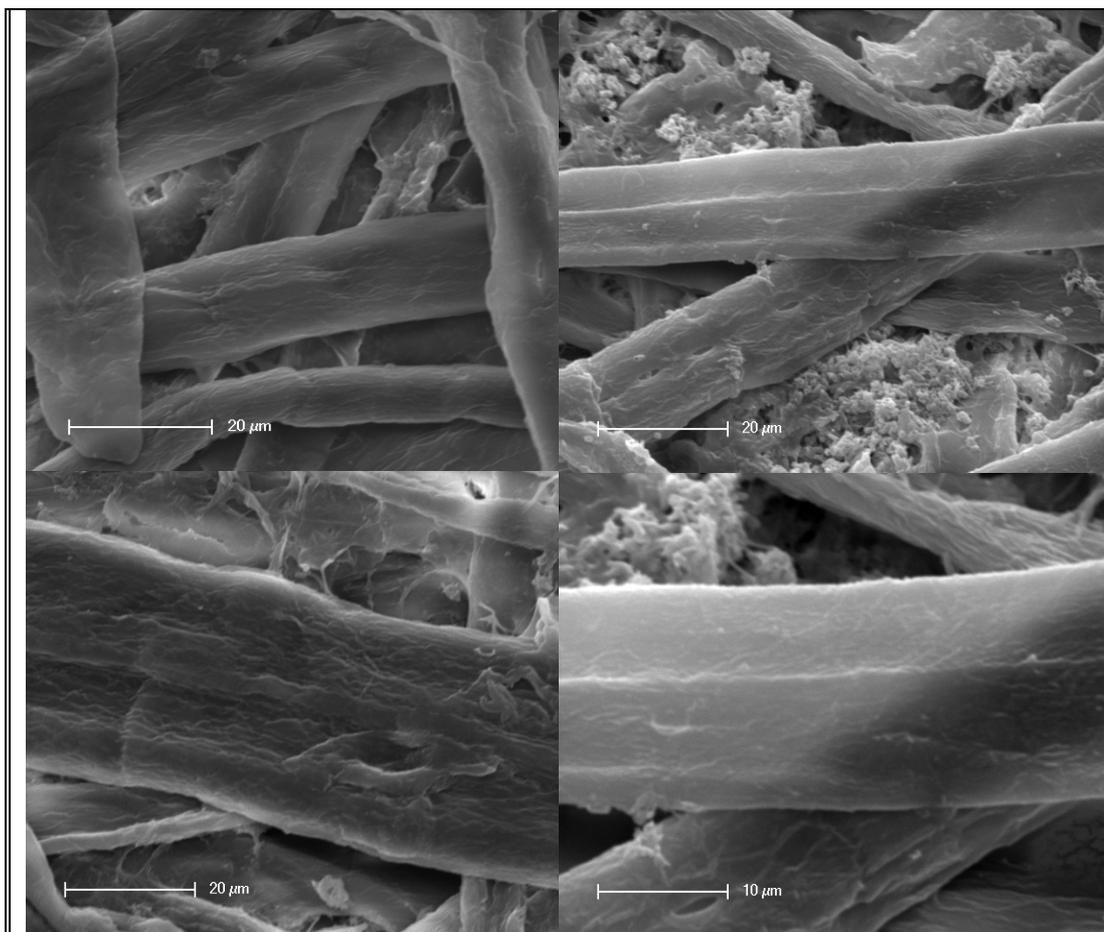
Los resultados de la cámara CCD revelan que el tratamiento con el acetonitrilo funciona mejor pero que con el etanol las enzimas también reparan; por lo tanto, a pesar de que el efecto es inferior, la toxicidad es menor y por consiguiente, el disolvente etanol es el producto elegido.

III.12.2 Comparaison physique par microscopie électronique/ Comparación física gracias a la microscopía electrónica

Nous avons comparé les papiers consolidés par les gels préparés avec deux solvants.

A continuación se hizo una comparativa de los papeles consolidados con los geles preparados con dos solventes.





Figures/ Figuras 87, 88, 89 y 90. Comparaison de l'état des fibres après les traitements enzymatiques préparés avec les différents solvants./ comparación del estado de las fibras después de los tratamientos enzimáticos preparados con diferentes disolventes.

L'état physique des fibres après les deux traitements est correct. Il n'existe pas une grande différence entre elles. Afin d'affiner encore notre étude, nous allons réaliser des tests mécaniques pour observer la résistance des papiers avant et après consolidation.

El estado físico de las fibras después de los dos tratamientos es bueno. No existe una gran diferencia entre ellas, por lo que se realizarán test mecánicos para observar la resistencia de los papeles antes y después del tratamiento y mejorar nuestro estudio.

III. 12.3 Tests mécaniques / Test mecánicos

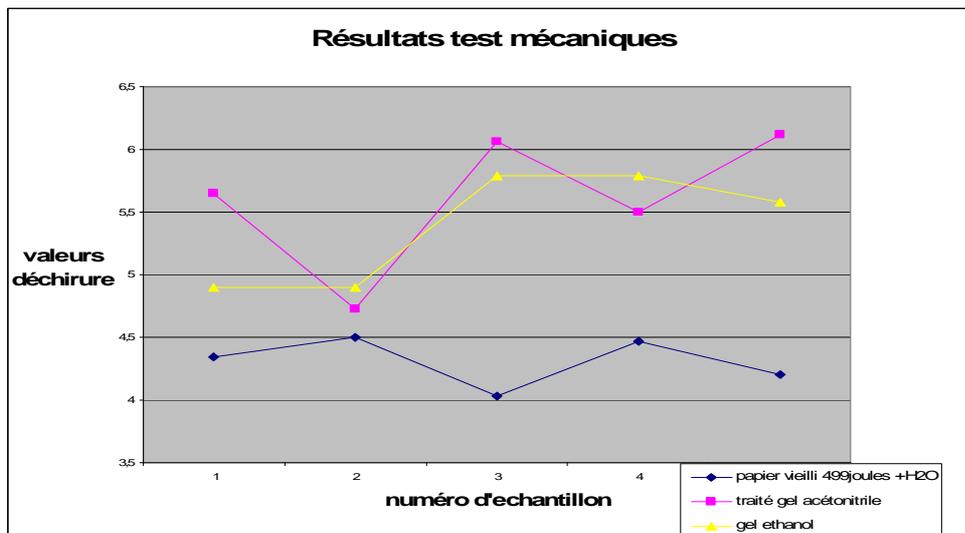
Nous avons réalisé des tests mécaniques de traction afin de connaître la résistance, et l'allongement des papiers à l'INIA, (Institut National de Recherche et Technologie Agricole d'Espagne à Madrid).

L'appareil utilisé est un ADAMEL Lhomargy ISA division D.Y.20.

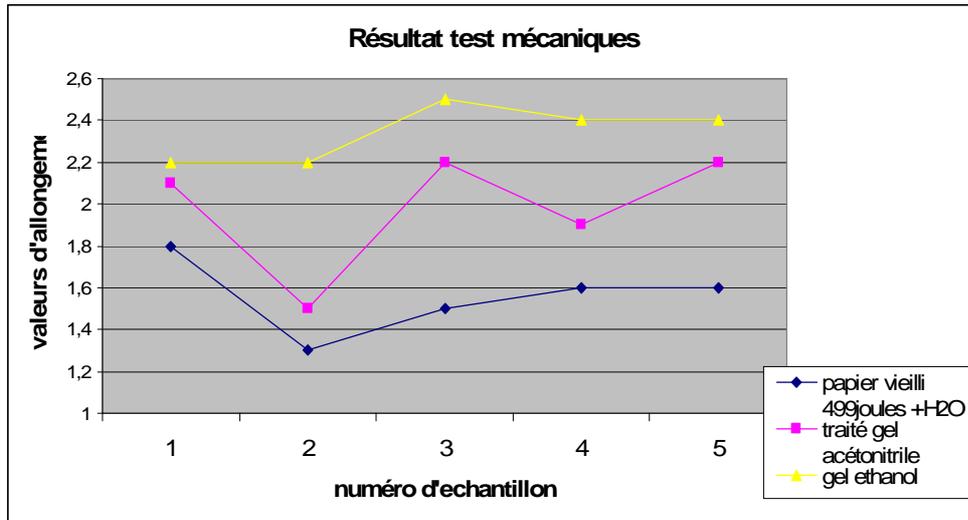
Se han realizado test mecánicos de tracción para conocer la resistencia a la tracción y alargamiento de los papeles en el INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria de España, Madrid).

La máquina utilizada es una ADAMEL Lhomargy ISA division D.Y.20.

- Les résultats sont les suivants/ Los resultados son los siguientes:

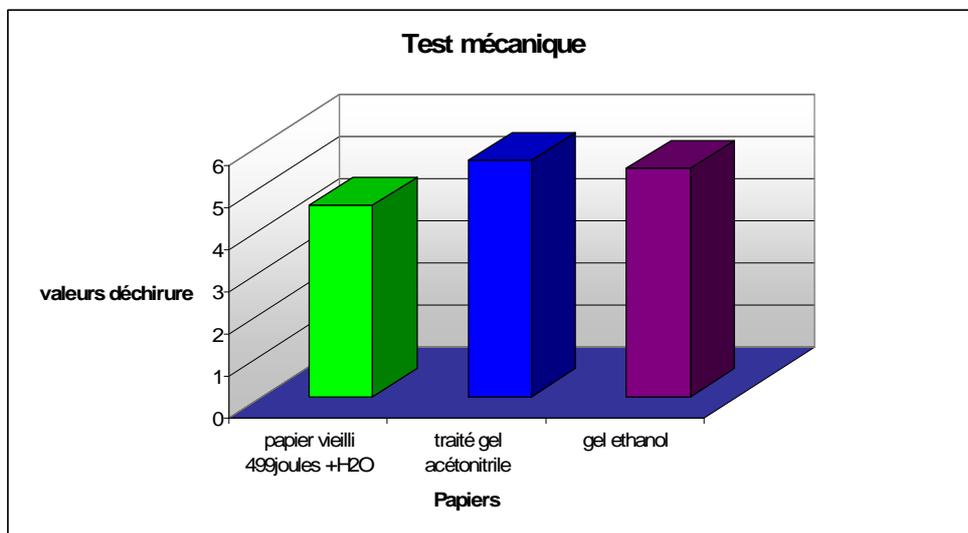


Graphique/ Gráfico 82. Résultats des test mécaniques (valeur de la résistance à la déchirure) où nous pouvons voir que le papier possède une résistance majeure après les traitements enzymatiques/ Resultados de los test mecánicos (valores de la resistencia a la rotura) donde se ve que el papel posee mayor resistencia después del tratamiento enzimático.

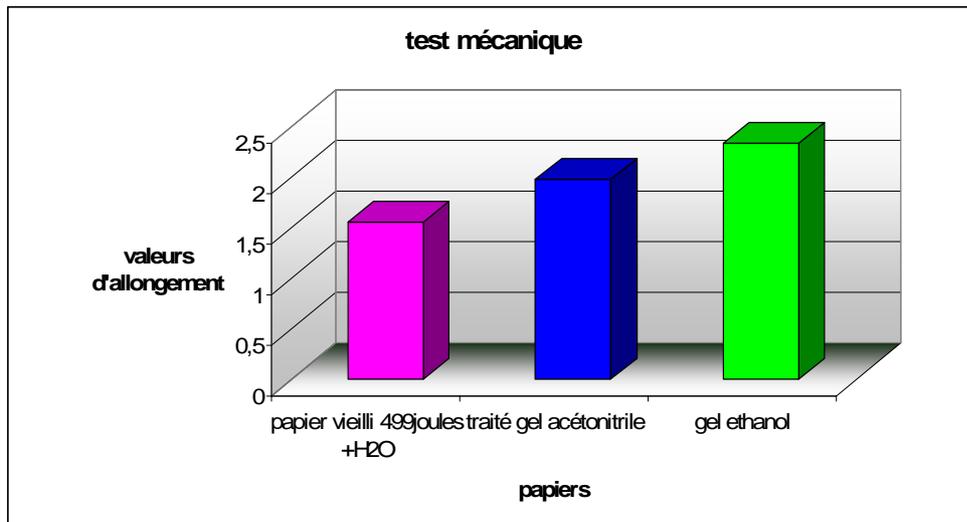


Graphique/ Gráfico 83. Résultats des test mécaniques (valeur de l'allongement jusqu'à la déchirure) où nous pouvons voir que les papiers après les traitements enzymatiques s'allongent plus, avant de se déchirer/ Resultados de los test mecánicos (valores de elongación hasta la rotura) donde se ve que el papel después del tratamiento enzimático, se estira más antes de romperse.

Valeurs généraux du test mécanique/valorem generales Del test mecánico :



Graphique/ Gráfico 84. Résultats généraux des test mécaniques (valeur de la résistance à la déchirure) où nous pouvons voir que les papiers traités avec le gel acétronitrile et le gel éthanol sont réparés/ Resultados generales de los test mecánicos (valores de la resistencia a la rotura) donde se ve que los papeles tratados con el gel de acetónitrilo y el gel de etanol son reparados.



Graphique/ Gráfico 85. Résultats généraux des test mécaniques (valeur de l'allongement jusqu'à la déchirure) où nous pouvons voir que les papiers traités avec le gel acétonitrile et le gel éthanol s'allongent plus que le papier vieilli/ Resultados generales de los test mecánicos (valores de la resistencia a la rotura) donde se ve que los papeles tratados con el gel de acetonitrilo y el gel de etanol se alargan más que el papel envejecido.

Les résultats des tests mécaniques de déchirure et d'allongement, mettent en évidence une augmentation de la résistance des papiers. Les valeurs de déchirure pour les conditions du traitement par le gel acétonitrile sont meilleures que celles du gel éthanol, mais, les résultats pour le gel éthanol demeurent positifs et nous pouvons voir une claire augmentation de la résistance des papiers.

Les tests mécaniques montrent, une fois encore, que le test enzymatique fonctionne.

Los resultados de los test mecánicos de rotura y alargamiento muestran un considerable aumento de la resistencia de los papeles. Con el gel acetonitrilo los valores de rotura son mayores que con los del gel de etanol. A pesar de esto, los resultados para el gel de etanol son positivos y podemos observar un claro aumento de resistencia.

Los test mecánicos muestran una vez más que, el test enzimático funciona.

Le traitement avec le gel enzymatique fonctionne sur des papiers préparés à partir de fibres de bois.

À partir de maintenant, nous allons appliquer le gel enzymatique sur des papiers de diverses natures (lin et coton), modifiés par différentes techniques artistiques. Nous pouvons ainsi observer l'effet du traitement enzymatique sur les différentes modifications.

El tratamiento con el gel enzimático funciona en papeles con pasta de madera.

A partir de ahora, se va a aplicar el gel enzimático sobre papeles de diferente naturaleza (lino y algodón), modificados con diferentes técnicas pictóricas para observar el efecto del tratamiento enzimático.

IV Aplicación del gel en papeles con técnicas pictóricas

IV.1 Preparación de las probetas

En la siguiente fase de la investigación, se va a aplicar el gel que se ha perfeccionado en pruebas anteriores, sobre tres tipos de papeles con diferentes técnicas pictóricas y se van a envejecer con rayos ultravioletas.

Cada muestra será dividida en dos partes. Un fragmento será tratado con el gel y el otro no. De esta manera, se podrán comparar los resultados con las diferentes pruebas que se realicen y saber si el tratamiento funciona bien en fibras de lino y algodón y también, si las técnicas pictóricas afectan a la actividad enzimática del gel.

A continuación, se vuelve a mostrar y enumerar los dibujos de las pruebas. Cada dibujo posee un número que corresponde al número de la aplicación del tratamiento [Tablas 4, 5 y 6]. Estos dibujos, se han mostrado ya en el capítulo de Materiales y Métodos:

- Lápiz



Figura 91 (chica con pelo largo-lino hecho a mano). Dibujo N° 10 A tratado y 10 B sin tratar
Figura 92. (Chica sentada en piedra-algodón hecho a mano). Dibujo N° 7 A tratado y 7 B sin tratar
Figura 93. (rostro Arches algodón). Dibujo N° 38 A tratado y 38 B sin tratar

- **Carboncillo:**



Figura 94. (cámara de fotos- lino a mano). Dibujo nº 22 A tratado y 22 B sin tratar.
Figura 95. (hoja de árbol- algodón a mano). Dibujo nº 23 A tratado y 23 B sin tratar.
Figura 96. (mesa y silla – Arches algodón). Dibujo nº 24 A tratado y 24 B sin tratar.

- **Pastel**



Figura 97. (calle-lino). Dibujo nº 25 A tratado y 25 B sin tratar
Figura 98. (perro-algodón). Dibujo nº 21 A tratado y 21 B sin tratar
Figura 99.(colores-Arches algodón). Dibujo nº 19 A tratado y 19 B sin tratar

- **Grabados**



Figura 100. (aguafuerte, vegetación-lino hecho a mano). Dibujo nº 13 A tratado y 13 B sin tratar
Figura 101. (gofrado, pareja-algodón hecho a mano -). Dibujo nº 12 A tratado y 12 B sin tratar
Figura 102. (resina blanda, mujer y caballo- lino hecho a mano -). Dibujo nº 11 A tratado y 11 B sin tratar.



Figura 103. (Paisaje de tintas-algodón hecho a mano). Dibujo n° 26 A tratado y 26 B sin tratar.

- **Acuarela**



Figura 104. (atardecer-lino). Dibujo n° 3 A tratado y 3B sin tratar

Figura 105. (playa-algodón). Dibujo n° 5 A tratado y 5 B sin tratar

Figura 106. (cúpula y mar-Arches algodón). Dibujo n° 1 A tratado y 1 B sin tratar

- **Gouache**



Figura 107 (mano-algón). Dibujo n° 20 A tratado y 20 B sin tratar

Figura 108 (color- algodón). Dibujo n° 2 A tratado y 2 B sin tratar

- **Acrílicos**



Figura 109 (izquierda-lino hecho a mano). Dibujo nº 14 A tratado y 14 B sin tratar.
Figura 110 (derecha-algodón hecho a mano). Dibujo nº 8 A tratado y 8 B sin tratar



Figura 111.(derecha. Arches Algodón). Dibujo nº 16 A tratado y 16 B sin tratar.
Figura 112.(cielo estrellado- Arches algodón). Papel Arches 100% algodón. Dibujo nº 18 A y 18 B

- **Óleo**



Figura 113. (izquierda Arches algodón). Dibujo nº 17 A tratado y 17 B sin tratar.
Figura 114. (derecha- Arches algodón.) Dibujo nº 15 A tratado y 15 B sin tratar.

- **Cera**



Figura 115. (izquierda-lino). Dibujo nº 4 A tratado y 4 B sin tratar
Figura 116. (derecha-algodón). Dibujo nº 6 A tratado y 6 B sin tratar
Figura 117. (izquierda- Arches algodón). Dibujo nº 39 A tratado y 39 B sin tratar

Los papeles con numeración del 27 al 37 son todos papeles blancos:

- Papel n°27: Arches 100% algodón,
- Papel n° 28: Arches 100% algodón,
- Papel n° 29: Arches 100% algodón,
- Papel n° 30:100% Lino hecho a mano,
- Papel n° 31:100% Lino hecho a mano,
- Papel n° 32:100% Algodón hecho a mano,
- Papel n° 33:100% Algodón hecho a mano,
- Papel n° 34:100% Lino hecho a mano,
- Papel n° 35: 100% Lino hecho a mano,
- Papel n° 36: Arches 100% algodón,
- Papel n° 37: 100% Algodón hecho a mano

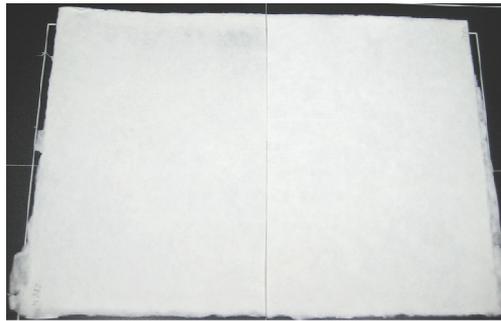


Figura 118. Papel de lino hecho a mano cortado en dos. Fotografía de un folio realizado con fibras de lino, se observan irregularidades en el gramaje en la parte superior de la hoja. Se supone que estas irregularidades darán resultados erróneos en los test mecánicos.

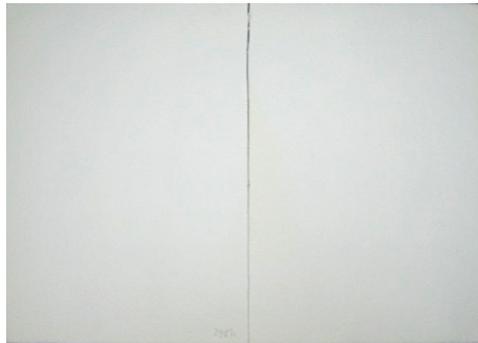


Figura 119. Papel de algodón hecho a mano y partido en dos. Hoja realizada a mano, 100% algodón. También tenía irregularidades en el gramaje: en algunas zonas la hoja de papel tenía menos grosor (menos pasta de papel). Estos defectos no fueron apreciados en un principio. Se observarán los resultados de los test mecánicos para ver las posibles diferencias.

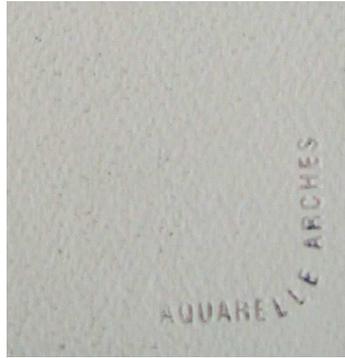


Figura 120. Fotografía de un detalle de la hoja de Arches aquarelle 100% algodón

IV.2 Envejecimiento acelerado y tratamiento

Las figuras que acabamos de ver, han sido expuestas en el capítulo III y se han vuelto a mostrar aquí para tener presente cada dibujo. Seguidamente, se han creado unas tablas que recopilan el número del dibujo tratado, la técnica pictórica que posee, el envejecimiento acelerado que se le ha realizado, las variaciones de dimensiones que ha podido sufrir, el peso antes y después del tratamiento y por último, algunas observaciones que se han podido apreciar durante el tratamiento.

Muchos detalles de los métodos, se han descrito ya, en el capítulo III de Materiales y métodos.

Nº Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Variaciones de las Dimensiones	Peso antes tratamiento	Peso después del tratamiento	Observaciones
1	acuarela	75h UVA	No	8,2 g	8,1 g	fijación de los pigmentos y algún matiz en lápiz después del tratamiento
2	Tempera	72h UVA	No	8,8g	8,82g	El papel parece estar quemado por detrás
3	Acuarela	72h UVA	No	5,3	5,28	
4	Cera	59h UVA	No	5,1	5,1	
5	acuarela	59h UVA	No	8	8	
6	cera	80h UVA	No	7,9	7,9	
7	Lápiz	96h UVA	No	7,04	7,07	
8	Acrílico	80h UVA	No	7,8	7,82	
9	Acrílico azul	50h UVA	No	7,9	7,89	
10	Lápiz	75hUVA	No	4,03	4,01	
11	Resina blanda	96h UVA	No	5,58	5,59	Primer dibujo tratado con el gel separado con el tejido no tejido
12	Gofrado	96h UVA	No	6	6	

Tabla 4. Descripción y tratamientos efectuados a los dibujos.

N° Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Variaciones de las Dimensiones	Peso antes tratamiento	Peso después del tratamiento	Observaciones
13	Aguafuerte	96h UVA	No	4,8g	4,79g	
14	Acrílico	50h UVA	No	4,9g	4,91g	
15	Óleo	75h UVA	-1mm	8,3g	8,18g	
16	Acrílico	72h UVA	-1mm	8,5g	8,45g	
17	Óleo	72h UVA	-1mm	8,19g	8,04g	
18	Acrílico	96h UVA	No	8,43g	8,33g	
19	Pastel	75h UVA	No	7,80g	7,79g	
20	Témpera	75h UVA	-0,5mm	8,6g	8,51g	
21	Pastel	76h UVA	No	8,85g	8,95g	
22	Carboncillo	59hUVA	No	4,6g	4,84g	
23	Pastel	80h UVA	No	7,5g	7,53g	
24	Carboncillo	76h UVA	-1mm	8,2g	8,16g	
25	Pastel	80hUVA	No	4,29g	4,52g	
26	Tinta	59hUVA	No	7,2g	7,2g	La tinta es absorbida por el gel (ver foto).
27	Blanco	286hUVA	0,5mm	7,9g	7,87g	Gel tratado con Reemay
28	Blanco	296hUVA	1mm	8g	7,98g	
29	Blanco	80hUVA	1mm	8,33g	8,3g	

Tabla 5. Descripción y tratamientos efectuados a los dibujos.

Nº Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Variaciones de las Dimensiones	Peso antes tratamiento	Peso después del tratamiento	Observaciones
30	Blanco	60h UVA	No	4,5g	4,69g	
31	Blanco	266h UVA	No	5g	5,14g	
32	Blanco	296h UVA	No	7,55g	7,71g	
33	Blanco	286h UVA	No	7,9g	7,71g	
34	Blanco	58h UVA	No	3,8g	3,75g	Papel se ha ondulado
35	Blanco	286h UVA	No	4,6g	4,57g	Aparecen manchas
36	Blanco	60h UVA	No	7,7g	7,38g	Manchas y ondulaciones
37	Blanco	58h UVA	No	9g	8,95g	
38	Lápiz	96h UVA	-1mm	8,85g	8,95g	
39	cera	75hUVA	No	8,24g	7,99g	

Tabla 6. Descripción y tratamientos efectuados a los dibujos.

IV.3 Resultados

Tras haber expuesto los detalles del tratamiento realizado en los dibujos, se van a mostrar los resultados obtenidos en los test mecánicos. Estos resultados son muy importantes para ir averiguando si el gel funciona o no, en este tipo de papeles y con las diferentes técnicas pictóricas realizadas. Estas técnicas pueden tener sustancias o pigmentos que inhiban la actividad reparadora del gel.

IV.3.1 Resultados de los test mecánicos

A continuación se muestran todos los resultados de los test mecánicos después del tratamiento enzimático con el gel. Se han ordenado por técnicas, según el orden expuesto con anterioridad.

- **Lápiz**

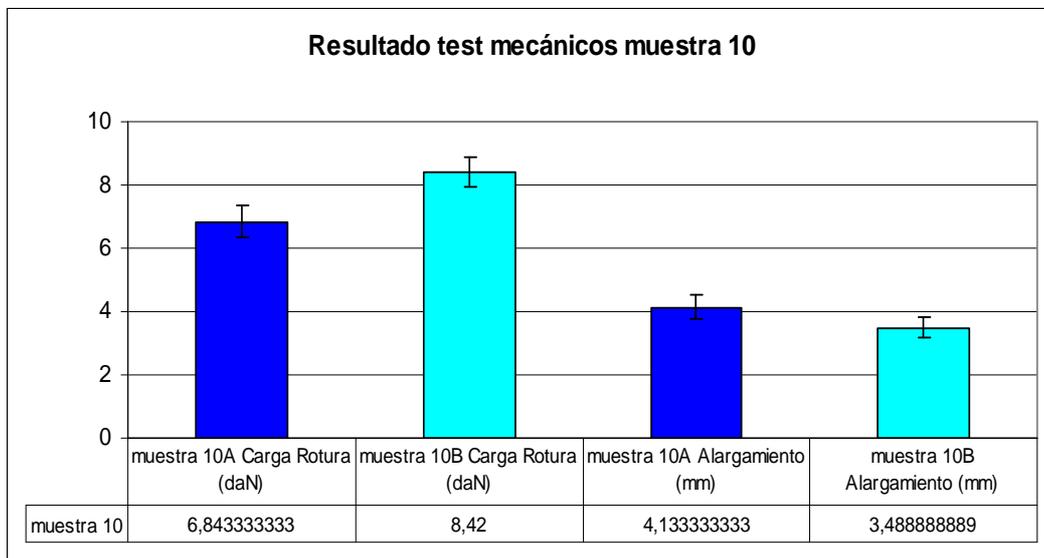


Gráfico 86. (chica con pelo largo-lino). Corresponde a la muestra10: 10 A tratado y 10 B sin tratar. Se observa que el papel tratado está más degradado que el sin tratar, porque necesita menos carga hasta su rotura. No obstante, en el alargamiento se ve que los papeles tratados se alargan más hasta la rotura que los que no han sido expuestos al gel.

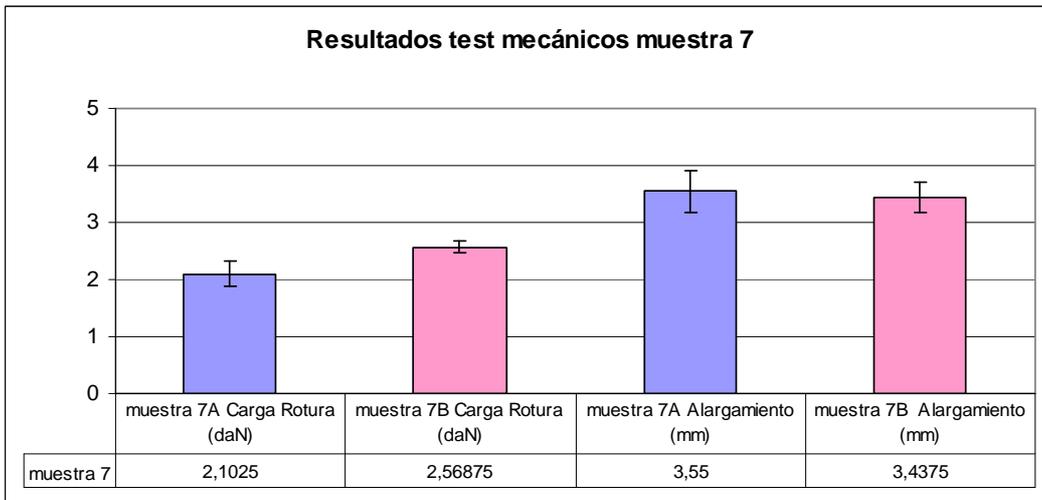


Gráfico 87. (Chica sentada en piedra-algodón). Corresponde a la muestra 7: 7 A tratado y 7 B sin tratar. El papel 7 A está más débil que el 7B.

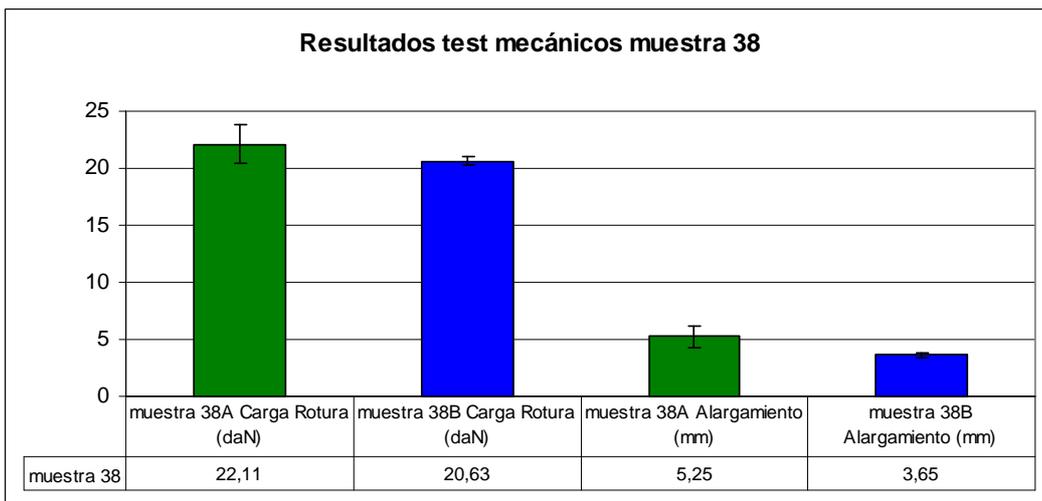


Gráfico 88 (rostro dibujado por Leticia Gaspar- Arches algodón). Corresponde a la muestra 38: 38 A tratado y 38 B sin tratar.

Para estos primeros resultados observamos que los papeles fabricados a mano y con la técnica pictórica de lápiz, no han sido consolidados y que su resistencia es inferior. Sin embargo en el papel Arches 100% algodón, la resistencia aumenta después del tratamiento. El alargamiento en los 3 dibujos tratados es mayor después de la aplicación del gel enzimático.

- **Carboncillo**

Los gráficos siguientes corresponden a los test mecánicos de las muestras de papel con carboncillo.

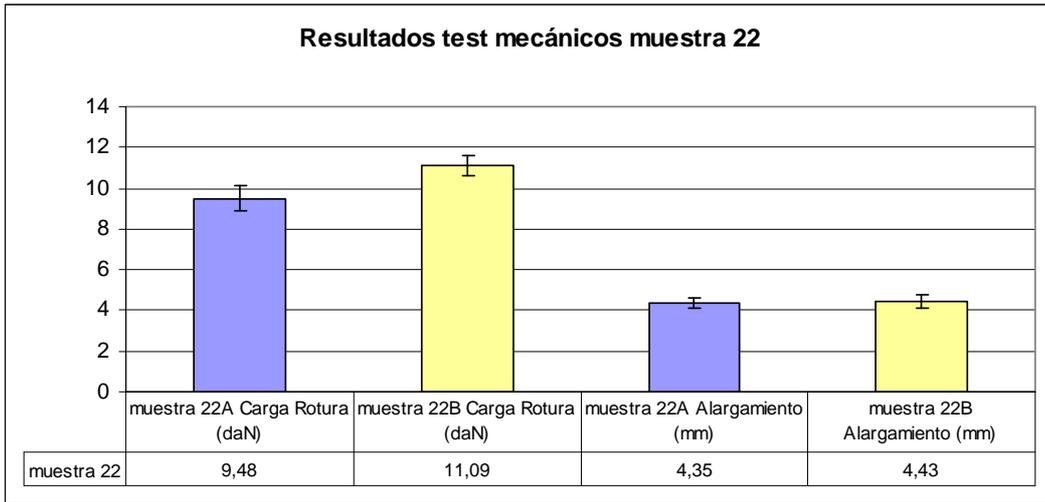


Gráfico 89 (cámara de fotos- lino). Corresponde a la muestra 22: 22 A tratado y 22 B sin tratar. La muestra tratada necesita menos carga para romperse, por lo que está más debilitado el papel.

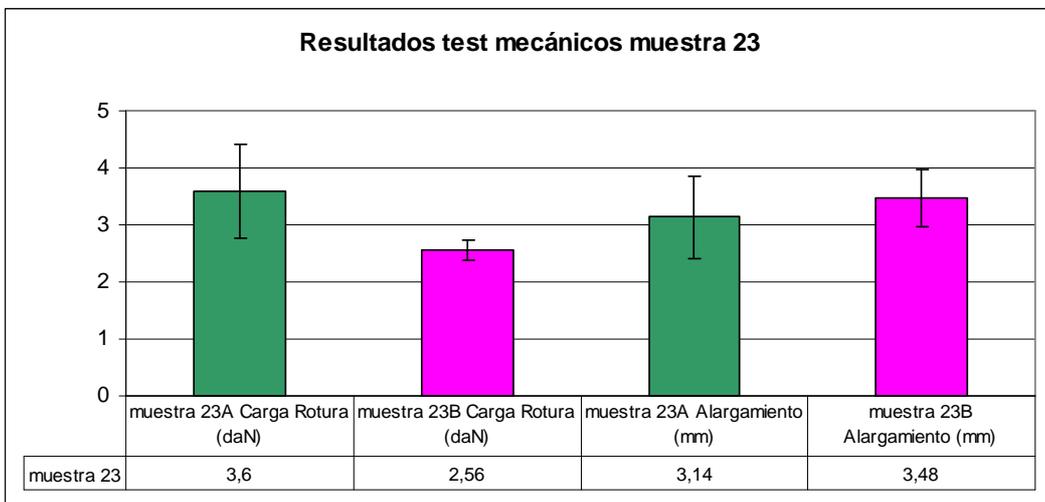


Gráfico 90 (hoja de árbol- algodón). Corresponde a la muestra 23: 23 A tratado y 23 B sin tratar. En esta ocasión vemos que el papel expuesto al gel ha sido reforzado.

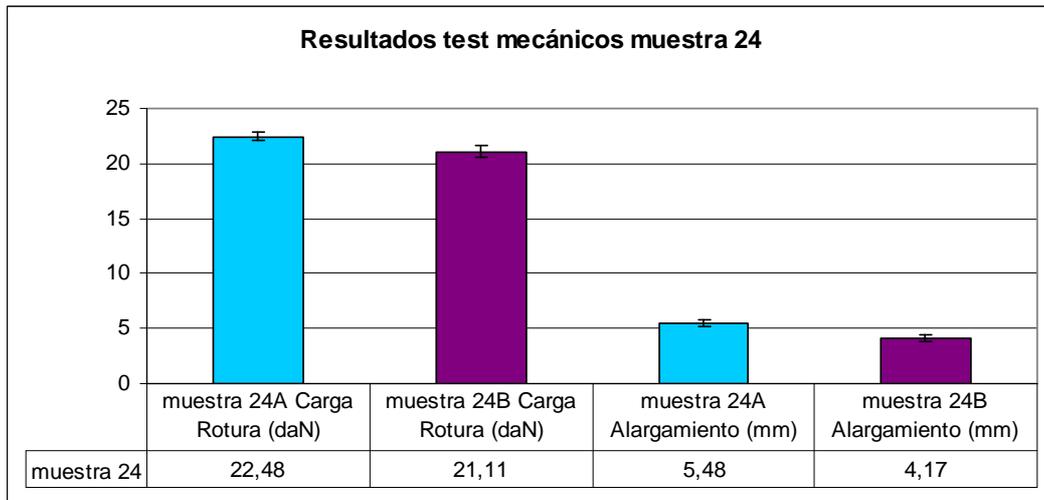


Gráfico 91 (mesa y silla – Arches algodón). Corresponde a la muestra 24: 24 A tratado y 24 B sin tratar. En esta ocasión, la muestra A también ha sido consolidada por el tratamiento llevado a cabo. Incluso su alargamiento es mayor que la muestra no tratada.

Esta vez, los resultados han sido buenos excepto para el papel de lino con carboncillo. Se desconocen las causas por las cuales, unos papeles han sido reforzados y otros no. De todas formas, los papeles fabricados a mano, son irregulares y puede que este motivo provoque estos resultados.

- **Pastel**

Se muestran a continuación, los resultados obtenidos en los test mecánicos para los papeles con la técnica pictórica pastel.

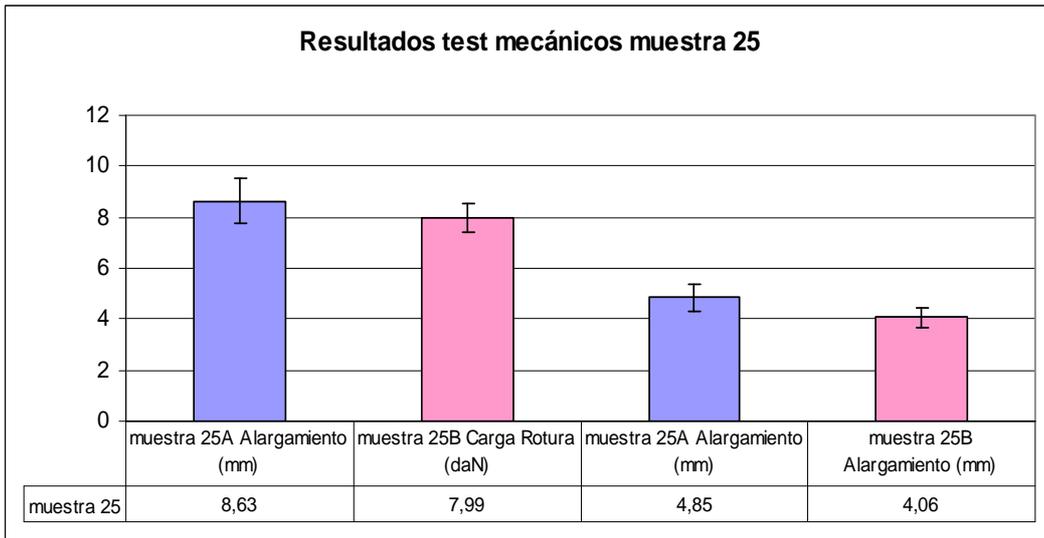


Gráfico 92 (calle-lino). Corresponde a la muestra 25: 25 A tratado y 25 B sin tratar . En esta ocasión, el papel ha sido reforzado porque necesita más fuerza para romperse.

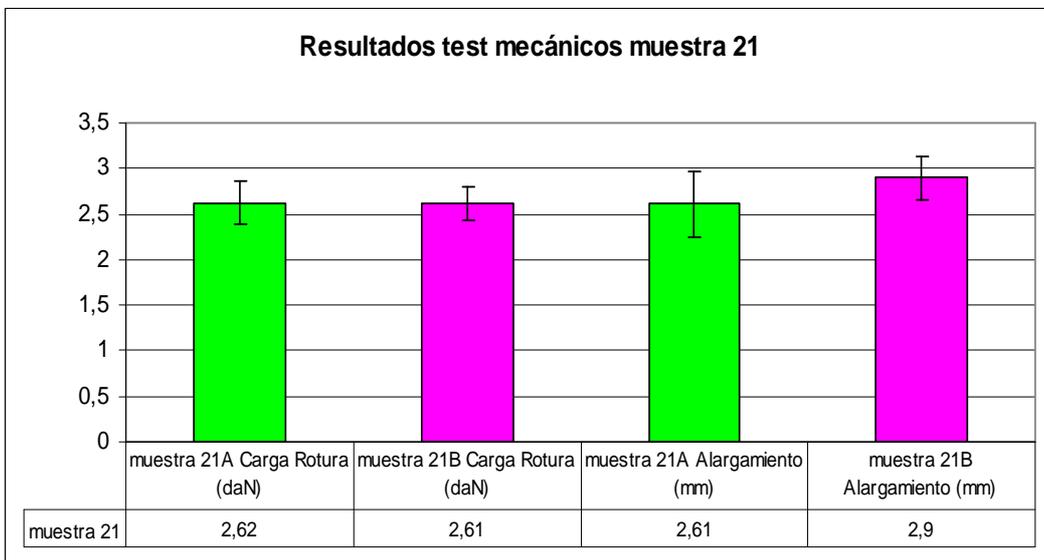


Gráfico 93 (perro-algodón). Corresponde a la muestra 21: 21 A tratado y 21 B sin tratar. En este gráfico, las dos muestras están muy igualadas. Parece que no ha tenido efecto el tratamiento enzimático.

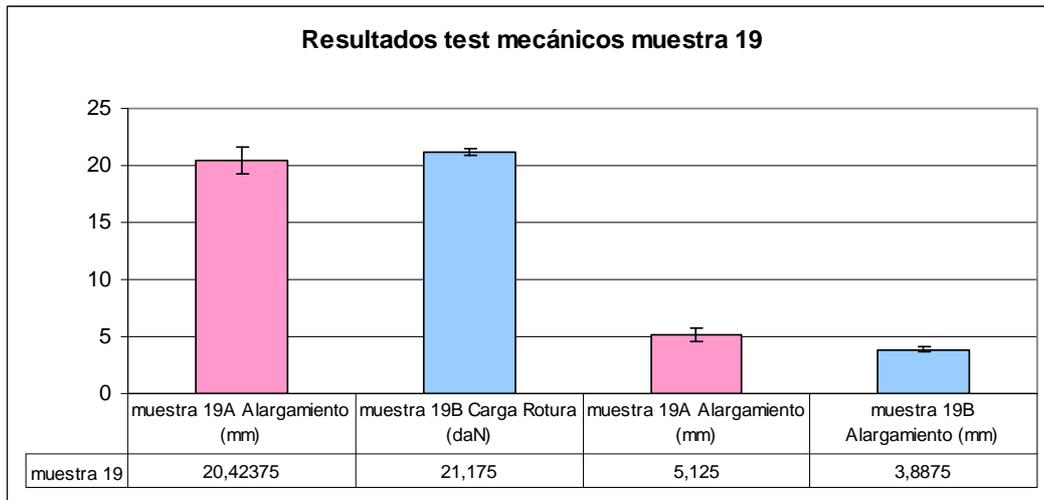


Gráfico 94 (colores-Arches 100% algodón). Corresponde a la muestra 19: 19 A tratado y 19 B sin tratar. El papel A tratado, ha perdido resistencia comparado con el no tratado.

Para los dibujos con la técnica de pastel, la mejora es leve en los papeles realizados a mano y existe una pérdida de resistencia en el papel Arches. Por el momento los papeles de algodón realizados a mano pierden resistencia en el alargamiento.

- Grabados

Los grabados se realizaron sobre los papeles fabricados a mano. Con estos resultados se comprobará si existe siempre en los papeles hechos a mano, no funciona el tratamiento.

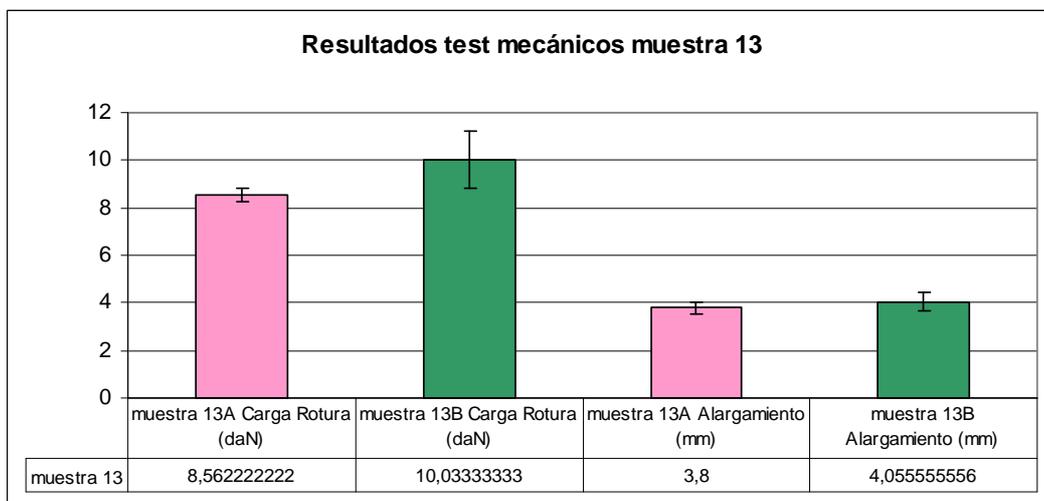


Gráfico 95 (vegetación-lino aguafuerte). Corresponde a la muestra 13: 13 A tratado y 13 B sin tratar. Aquí el tratamiento no ha funcionado y vuelve a ser en papeles hechos a mano.

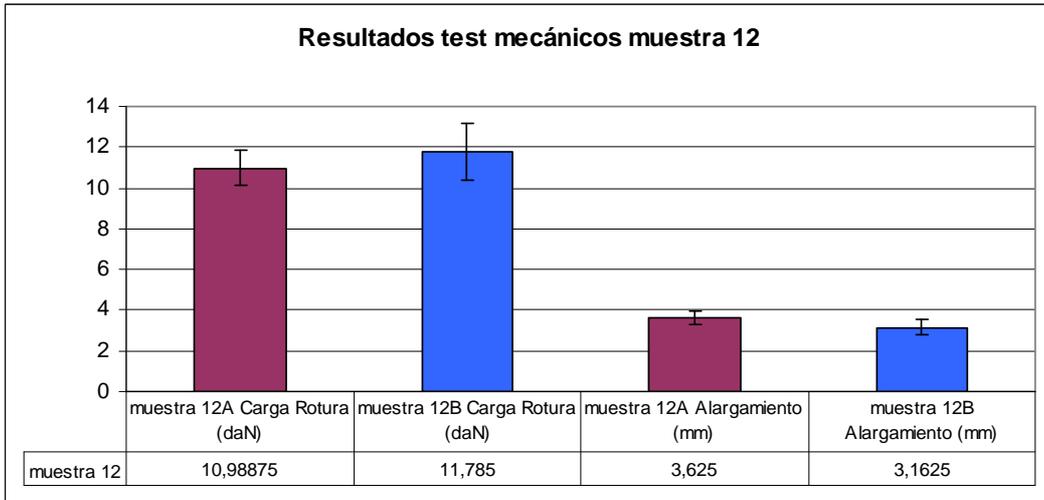


Gráfico 96 (pareja-algodón-gofrado por Teresa Escohotado). Corresponde a la muestra 12: 12 A tratado y 12 B sin tratar

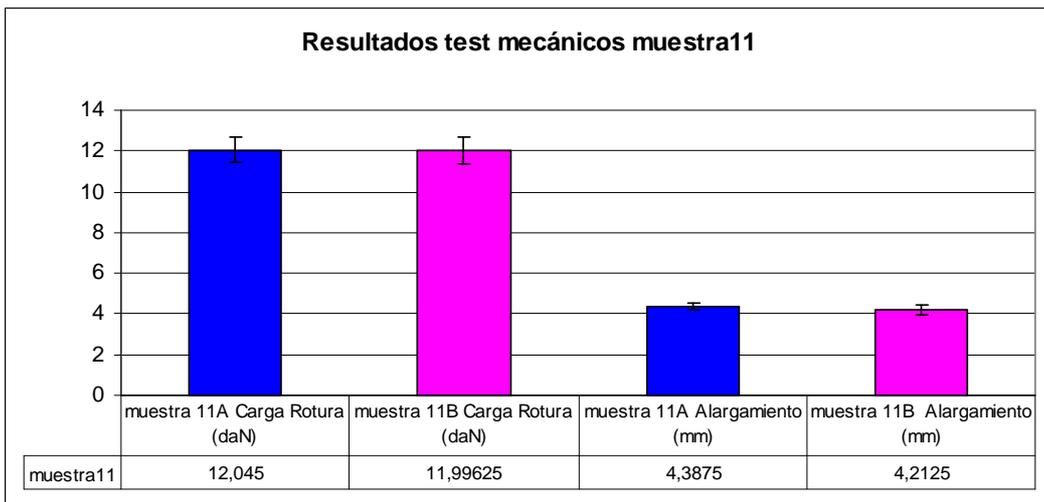


Gráfico 97 (mujer y caballo- lino-resina blanda por Teresa Escohotado). Corresponde a la muestra11: 11 A tratado y 11 B sin tratar. En este test no parece que el tratamiento haya tenido efecto.

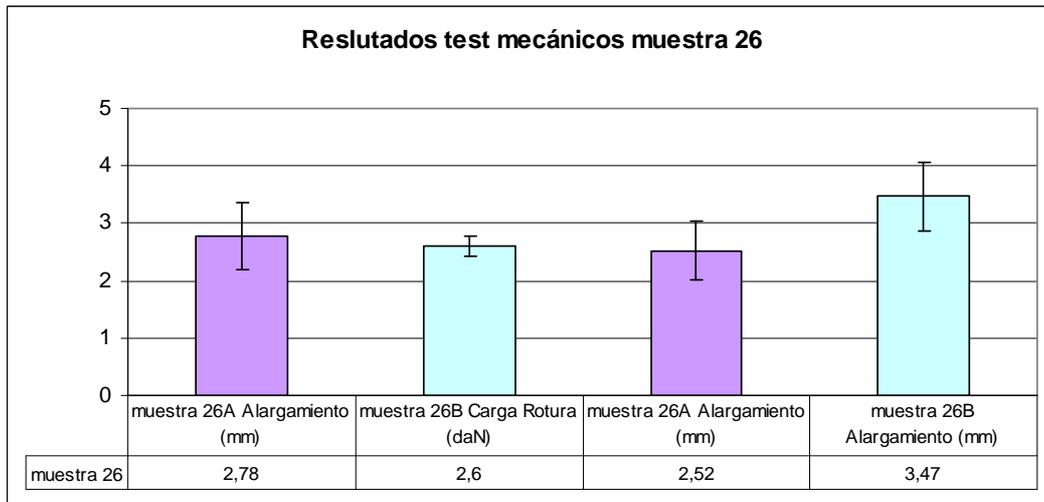


Gráfico 98 (Paisaje de tintas-algodón). Corresponde a la muestra 26: 26 A tratado y 26 B sin tratar. En esta ocasión, existe una ligera mejoría de los papeles

Los resultados no son muy buenos, se aprecia una pequeña mejoría en los dibujos 11 y 26. Puede que el hecho, de que los papeles tengan irregularmente las fibras esparcidas en toda la hoja de papel, afecte a los test mecánicos. Habrá que observar los resultados de los papeles hechos a mano y sacar conclusiones.

- **Acuarela**

El tratamiento en la acuarela era más difícil al ser una técnica sensible al agua. Se consiguió que no se movieran los pigmentos y estos son los resultados:

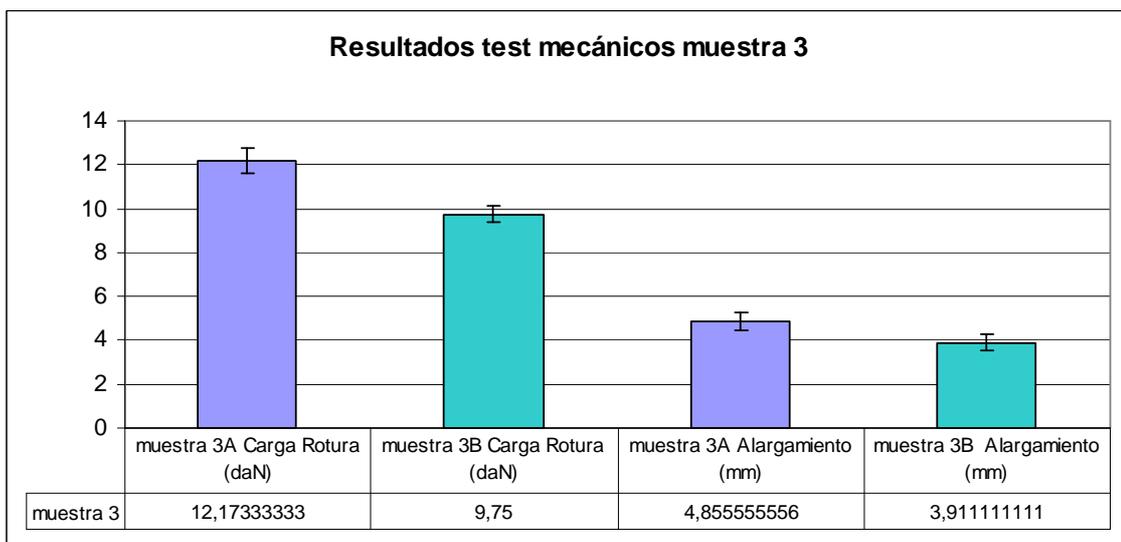


Gráfico 99. (atardecer-lino). Corresponde a la muestra3: 3 A tratado y 3B sin tratar. En esta ocasión, el papel ha sido reforzado. Su resistencia y su alargamiento hasta la rotura son mayores.

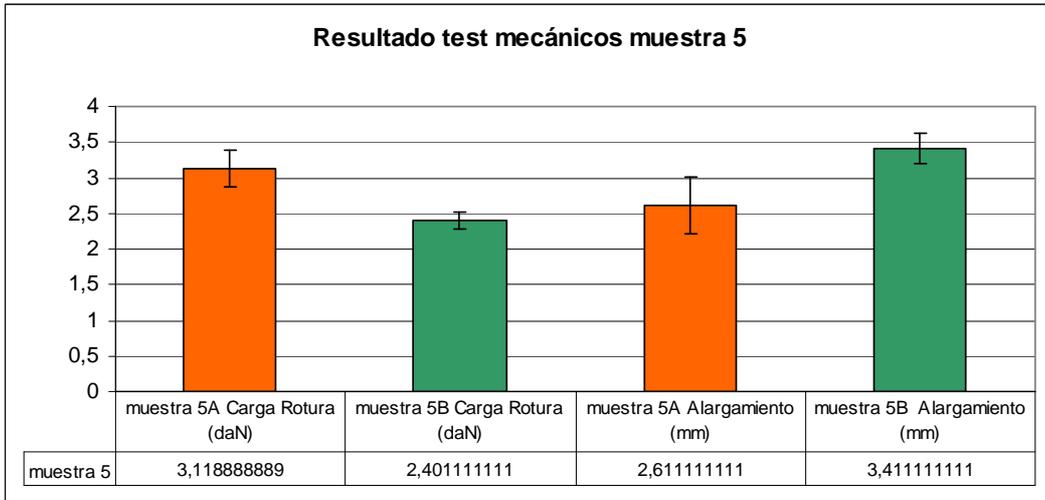


Gráfico 100 (playa-algodón). Corresponde a la muestra 5: 5 A tratado y 5 B sin tratar. En esta muestra el tratamiento enzimático ha reforzado el papel. No obstante, el alargamiento hasta la rotura es inferior al no tratado.

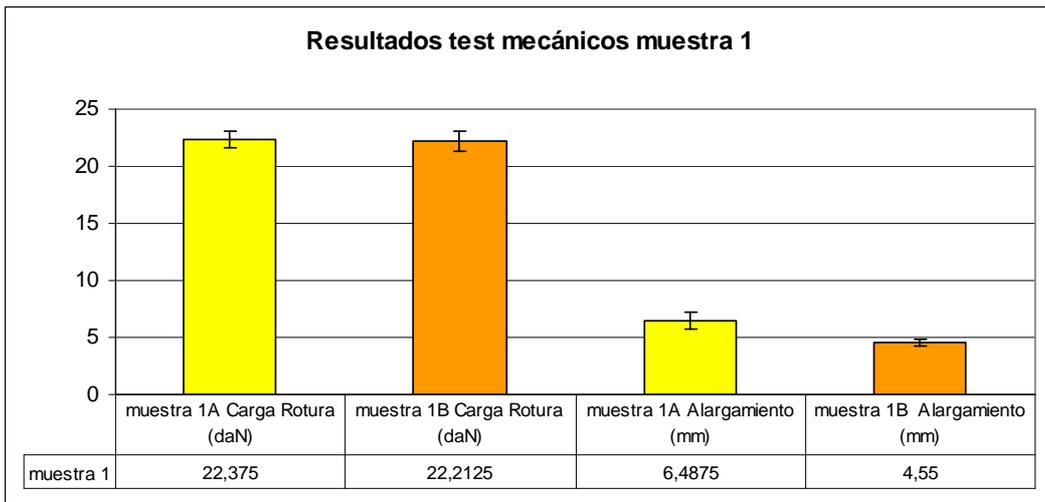


Gráfico 101 (cúpula y mar-Arches algodón). Corresponde a la muestra 1: 1 A tratado y 1 B sin tratar.

En los dibujos con acuarelas, el refuerzo ha sido efectivo menos en la acuarela realizada sobre el papel Arches, donde la consolidación ha sido mínima. Se había dicho que quizá en papeles hechos a mano, los resultados podían ser negativos, sin embargo en las acuarelas los test han sido buenos.

- **Gouache**

Los dibujos de gouache son también sensibles al agua. El tratamiento en los papeles parece visiblemente haber sido efectivo y los resultados de los test mecánicos son los siguientes:

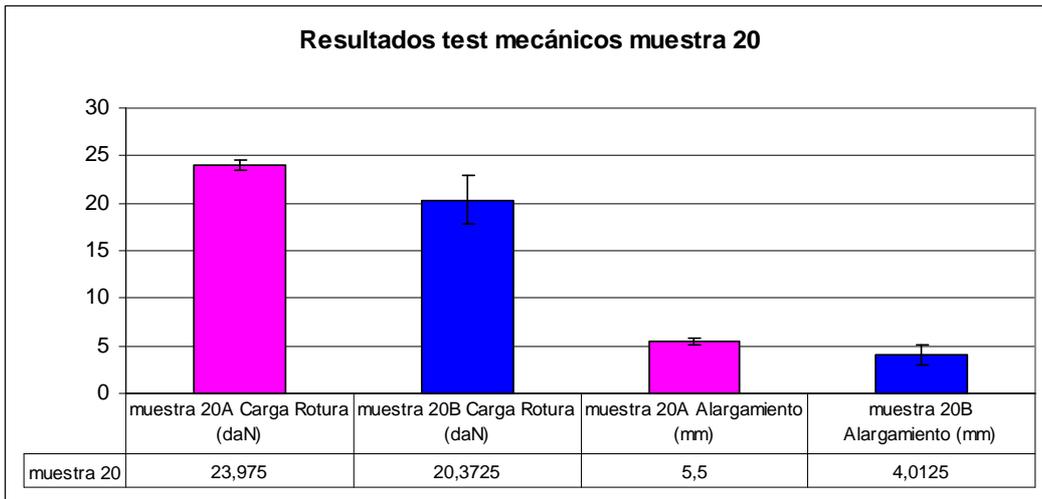


Gráfico 102 (mano-algón) que corresponde a la muestra 20: 20 A tratado y 20 B sin tratar.

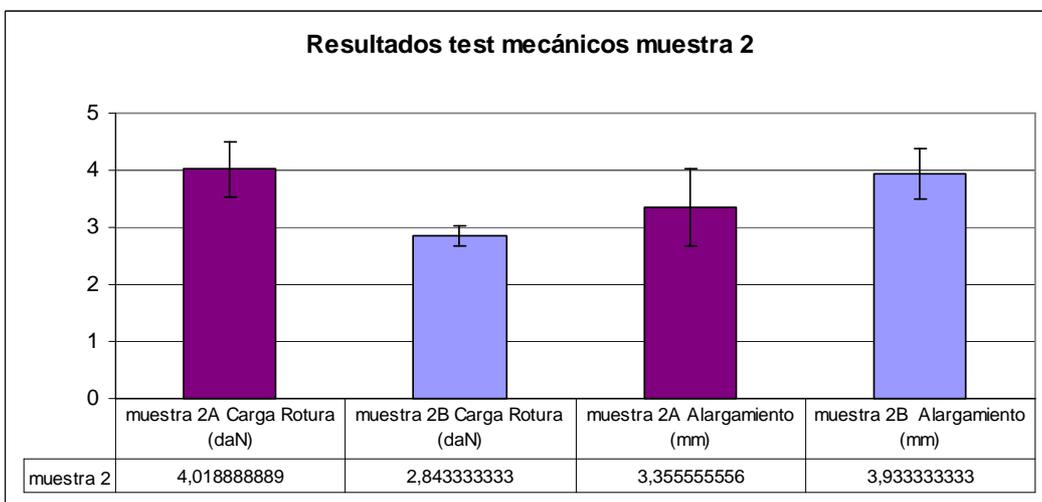


Gráfico 103 (color- algodón) que corresponde a la muestra 2: 2 A tratado y 2 B sin tratar.

En este caso hemos obtenido un aumento de resistencia. Esta técnica parece admitir el tratamiento pero aún no sabemos si estos resultados son debidos a cada técnica o a los lavados posteriores o la temperatura ambiental.

- **Acrílicos:**

Los dibujos acrílicos no muestran ningún inconveniente a la hora de ponerlos en contacto con el gel. Sin embargo, se debe observar si la pintura sintética tiene algún efecto inhibitor en las enzimas.

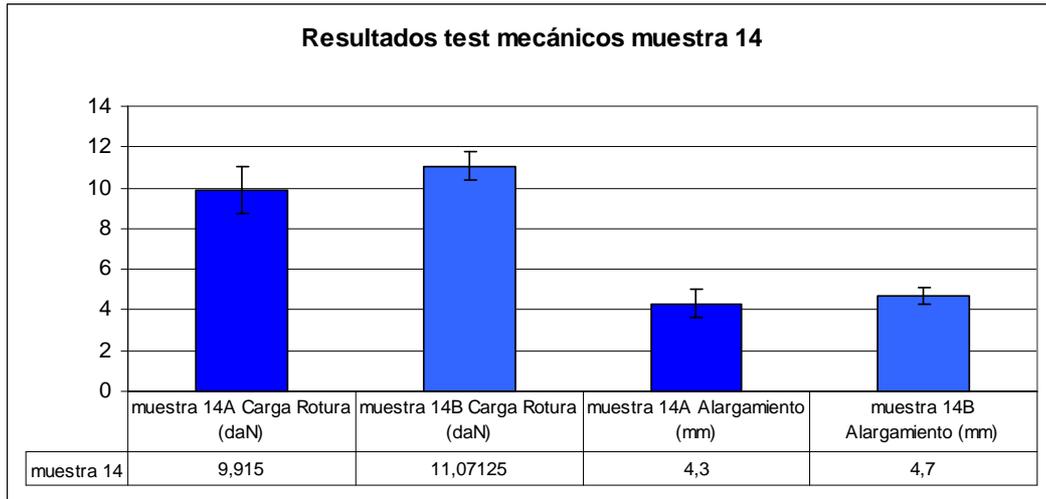


Gráfico 104 (lino) que corresponde a la muestra 14: 14 A tratado y 14 B sin tratar. Se ve una pérdida de resistencia en el papel tratado.

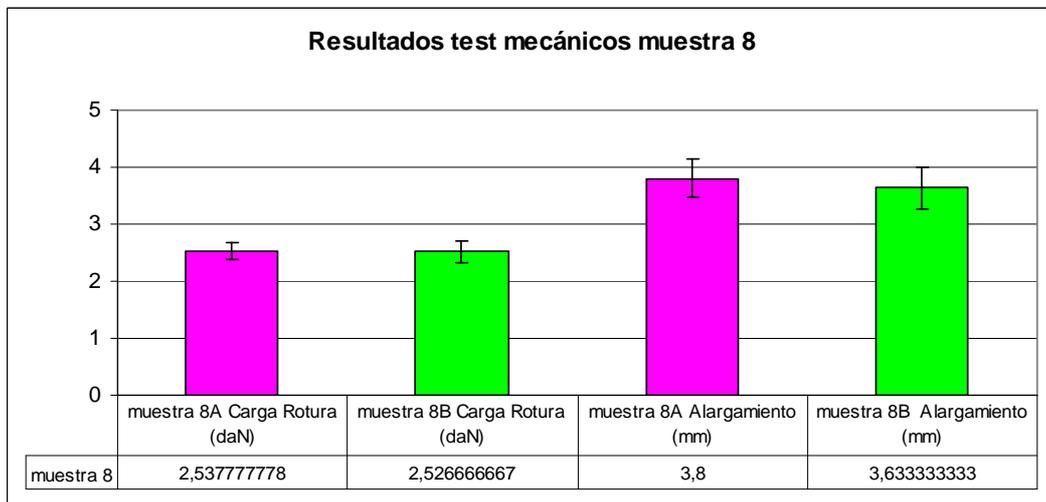


Gráfico 105 (100% Algodón) que corresponde a la muestra 8: 8 A tratado y 8 B sin tratar. En esta muestra, el tratamiento no ha tenido efecto.

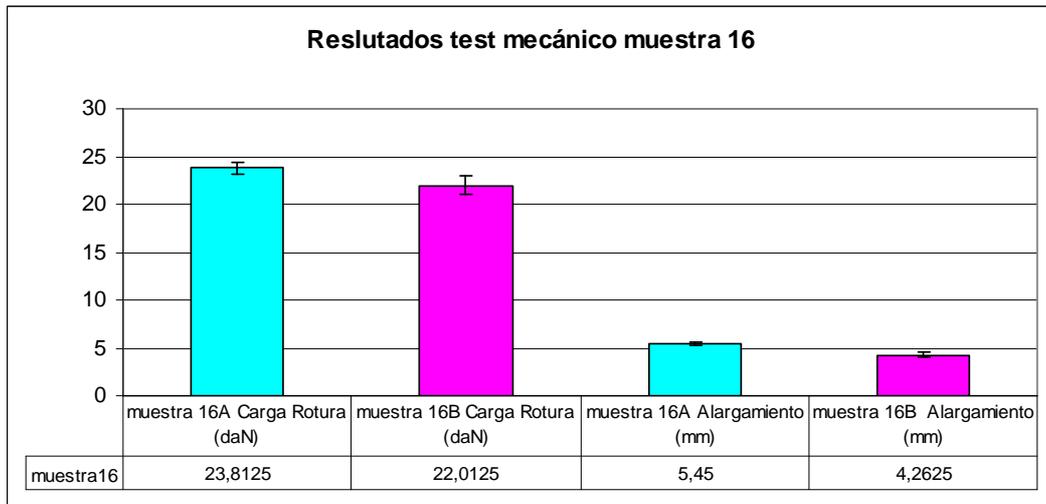


Gráfico 106 (100% Algodón). Corresponde a la muestra 16: 16 A tratado y 16 B sin tratar. En este dibujo parece haber un ligero aumento de la resistencia.

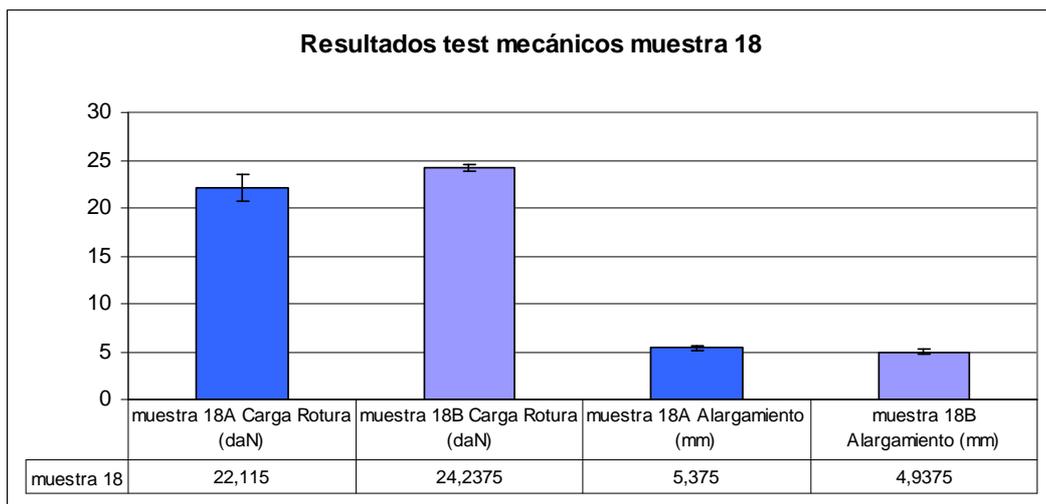


Gráfico 107 (Arches 100% Algodón) que corresponde a la muestra 18: 18 A tratada y 18 B sin tratar.

En los dibujos acrílicos se observa un empeoramiento en la resistencia de los papeles, excepto en la muestra 16. Puede que la pintura acrílica tenga algún efecto inhibitor sobre las celulasas o que el gel enzimático funcione peor en las fibras vegetales de lino y algodón.

- **Óleo**

Las muestras de óleo físicamente parecen reforzadas. No obstante, se deben observar los test mecánicos para cerciorarse de la eficacia del gel.

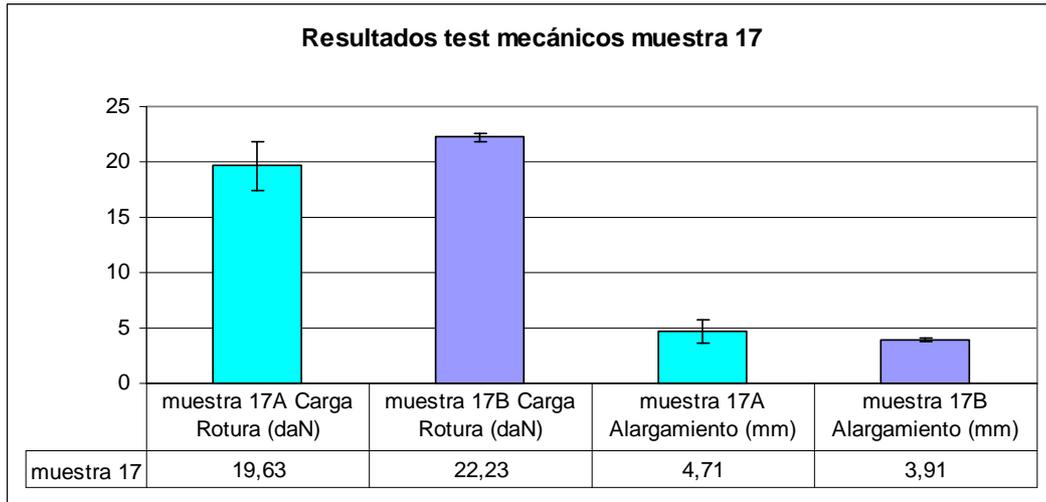


Gráfico 108 (Arches 100% algodón) que corresponde a la muestra 17: 17 A tratado y 17 B sin tratar. El papel se ha debilitado tras el tratamiento.

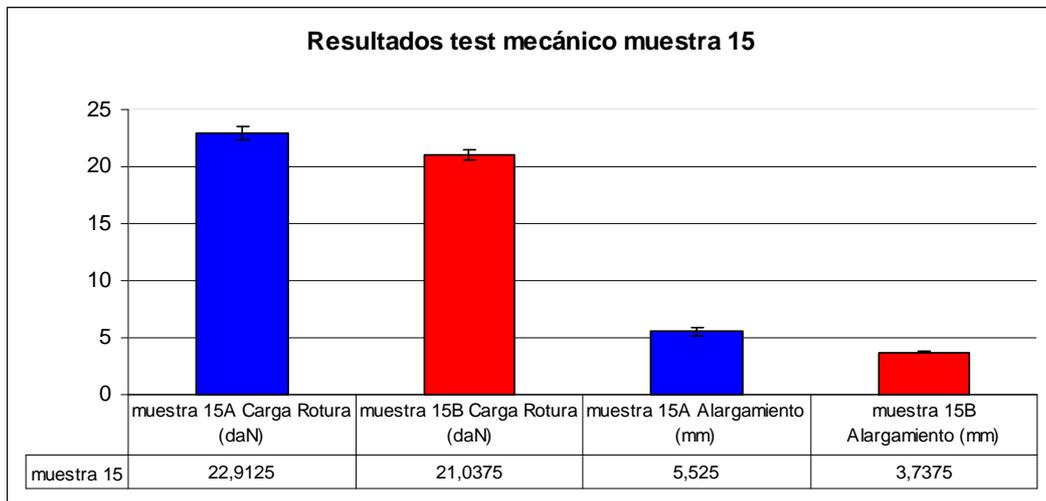


Gráfico 109 (Arches 100% algodón). Corresponde a la muestra 15: 15 A tratado y 15 B sin tratar. Se observa un aumento de la resistencia mecánica en la muestra tratada con el gel.

En los dibujos realizados a óleo, se ve que en un papel de Arches, el tratamiento ha funcionado pero en el otro no. No se sabe porqué en unos funciona el gel enzimático y en otros no.

Se debe por tanto observar los factores que rodean a cada muestra y tratamiento.

- **Cera**

Las ceras mancharon durante el tratamiento enzimático, el tejido no tejido. No parece que el dibujo haya sido afectado por el tratamiento. Pero, como siempre, es mejor esperar a las pruebas mecánicas:

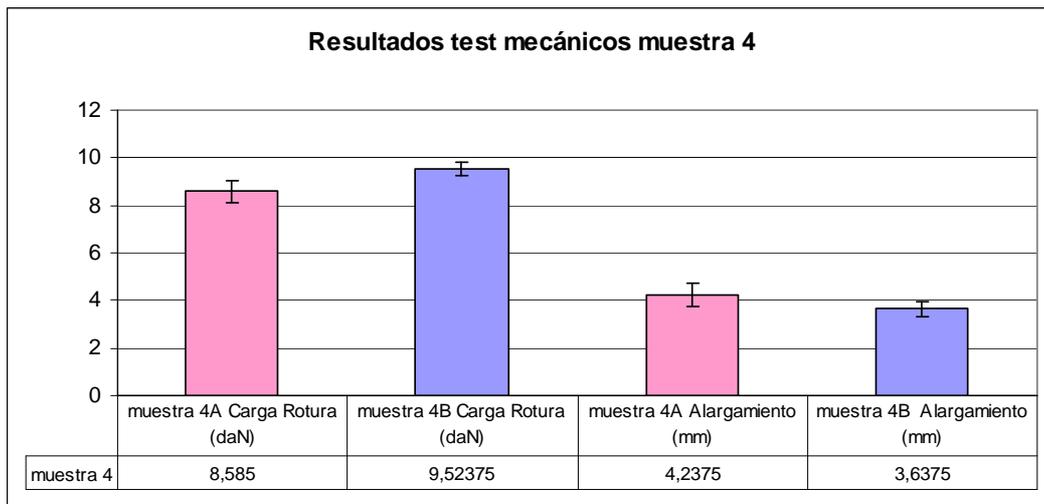


Gráfico 110 (lino). Corresponde a la muestra4: 4 A tratado y 4 B sin tratar. Se puede ver que el papel pierde resistencia, por lo que el tratamiento no ha funcionado bien en esta muestra.

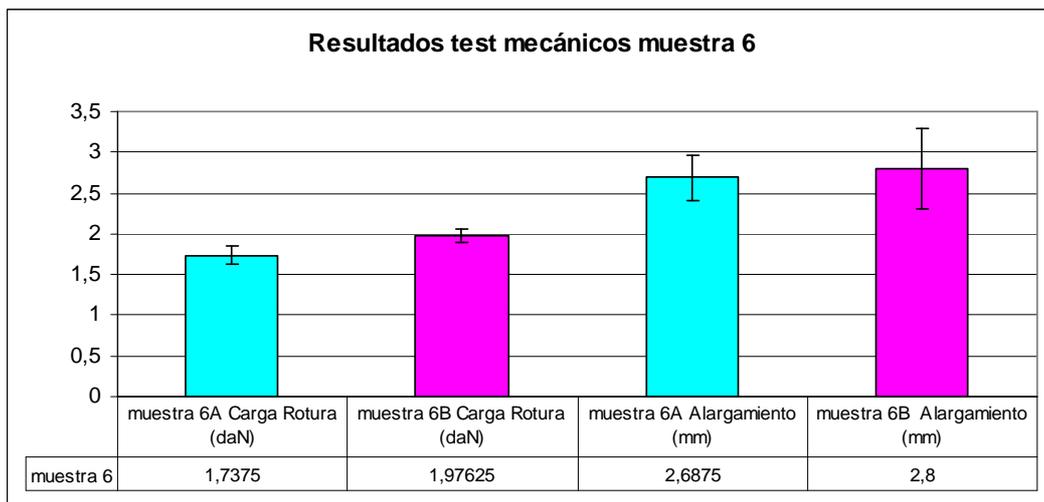


Gráfico 111 (100% algodón). Corresponde a la muestra 6 A tratado y 6 B sin tratar. En esta ocasión, el papel tampoco ha sido consolidado.

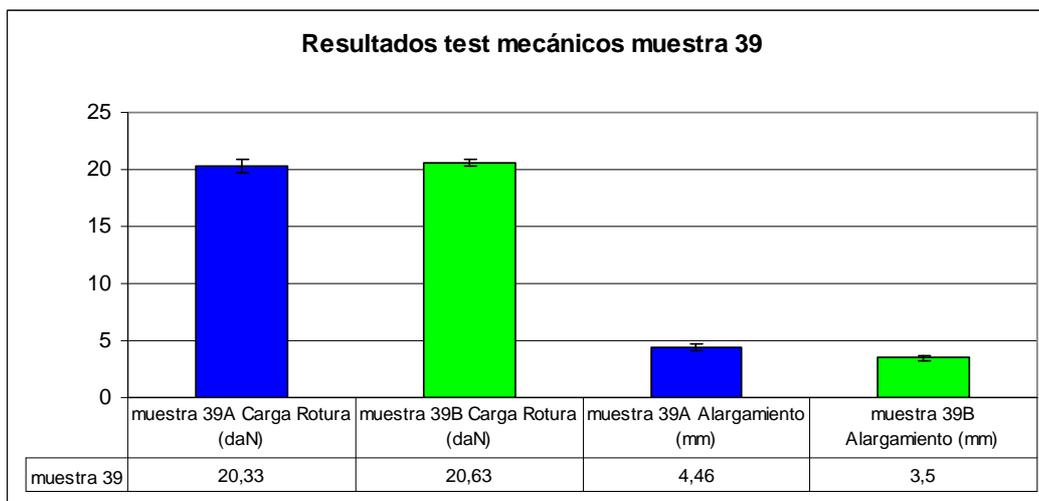


Gráfico 112 (Arches 100% algodón). Corresponde a la muestra 39: 39 A tratado y 39 B sin tratar.

En todos los gráficos de los dibujos realizados a cera, el papel ha perdido resistencia. No se sabe a ciencia cierta, cuál es el motivo por el que en esta ocasión, el tratamiento no ha funcionado. Se puede pensar que en la técnica pictórica, existan elementos que inhiben la actividad enzimática.

- **Papeles sin técnicas pictóricas (Blanco de referencia)**

Lo que se busca con el tratamiento de estos papeles es, saber si el gel enzimático funciona con este tipo de fibras vegetales que componen el papel o, si el problema de la inactividad enzimática viene producida por las técnicas pictóricas. Se clasifican los papeles en: Archès 100% algodón, lino y algodón hechos a mano.

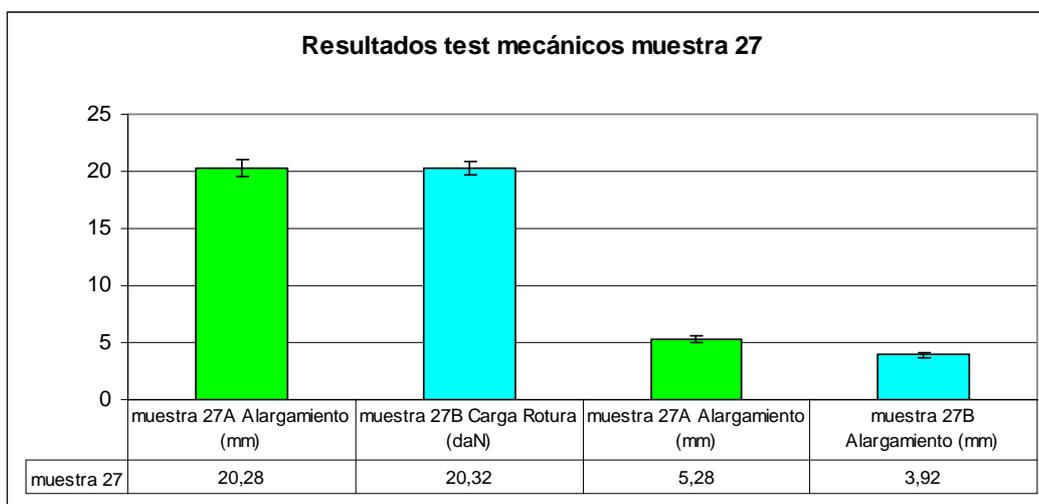


Gráfico 113. Papel en blanco n°27: Arches 100% algodón

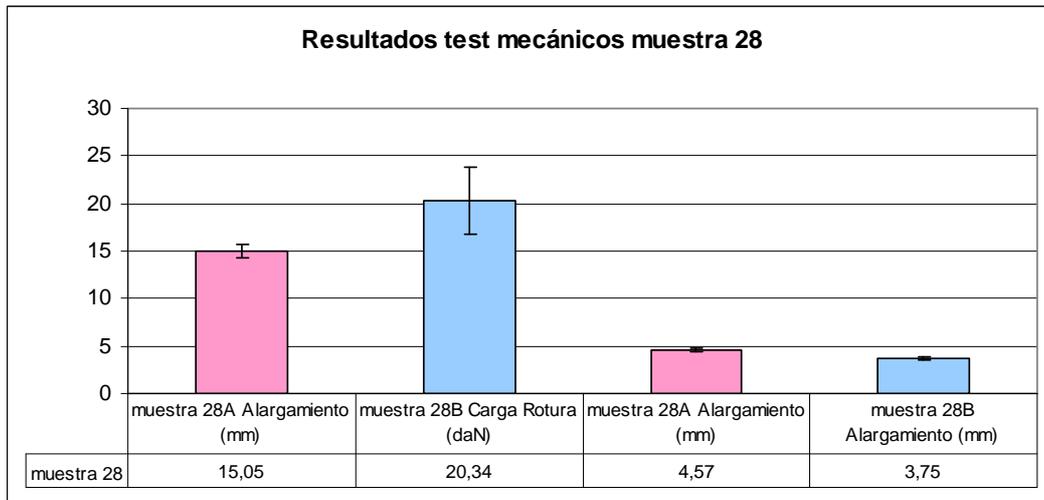


Gráfico 114. Papel en blanco n° 28: Arches 100% algodón.

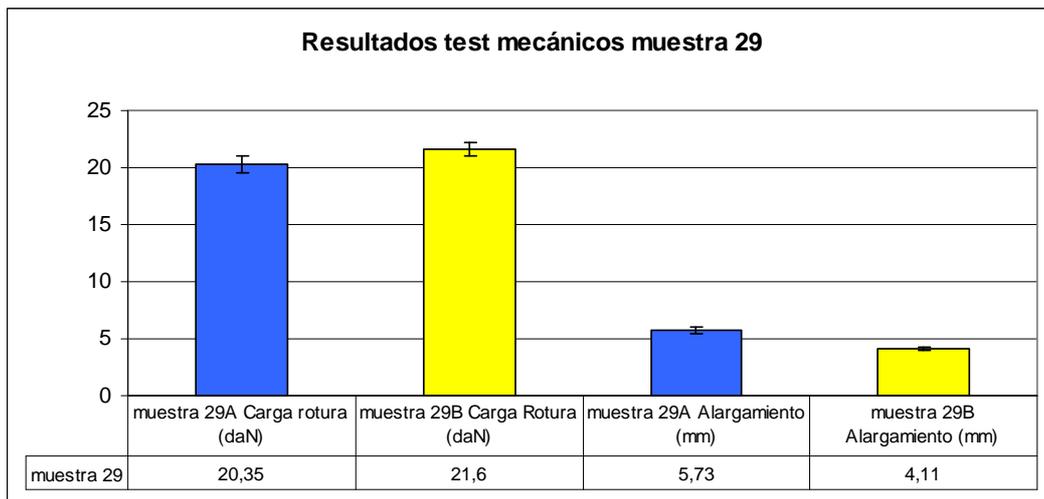


Gráfico 115. Papel en blanco n° 29: Arches 100% algodón.

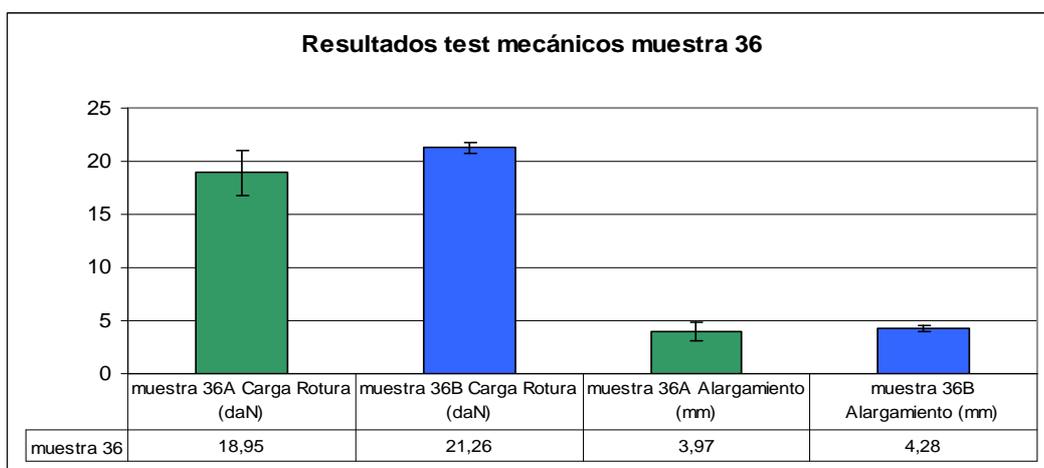


Gráfico 116. Papel en blanco n° 36: Arches 100% algodón.

- Papeles de 100% lino, fabricados a mano.

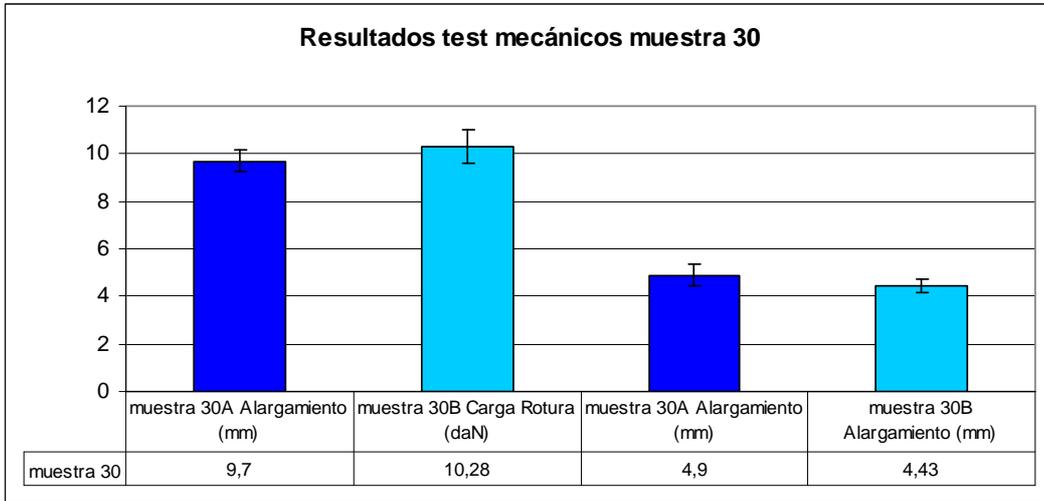


Gráfico 117. Papel en blanco n° 30:100% Lino hecho a mano.

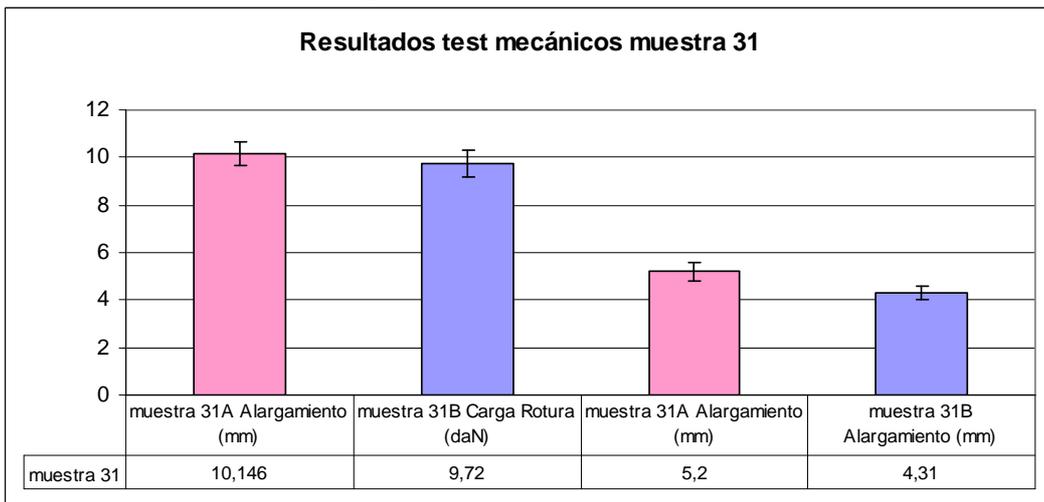


Gráfico 118. Papel en blanco n° 31:100% Lino hecho a mano.

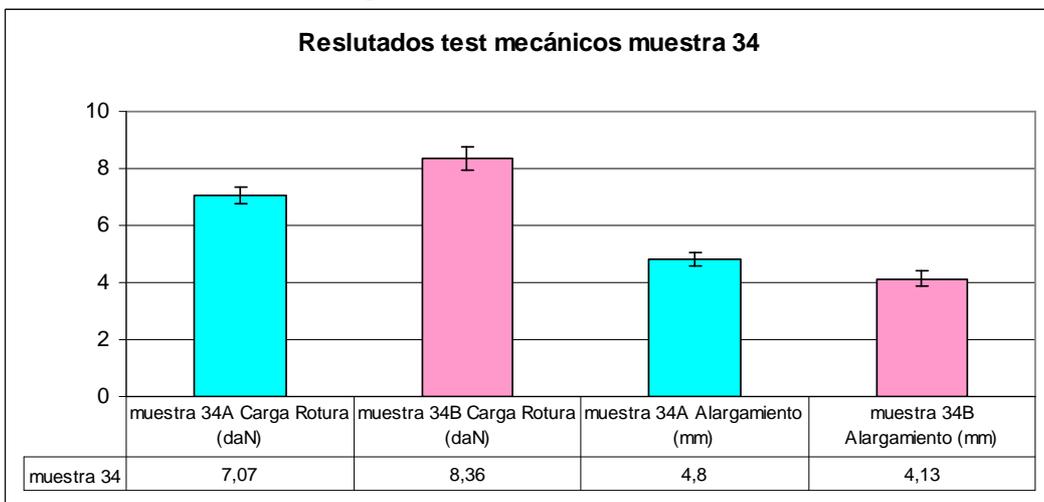


Gráfico 119. Papel en blanco n° 34:100% Lino hecho a mano.

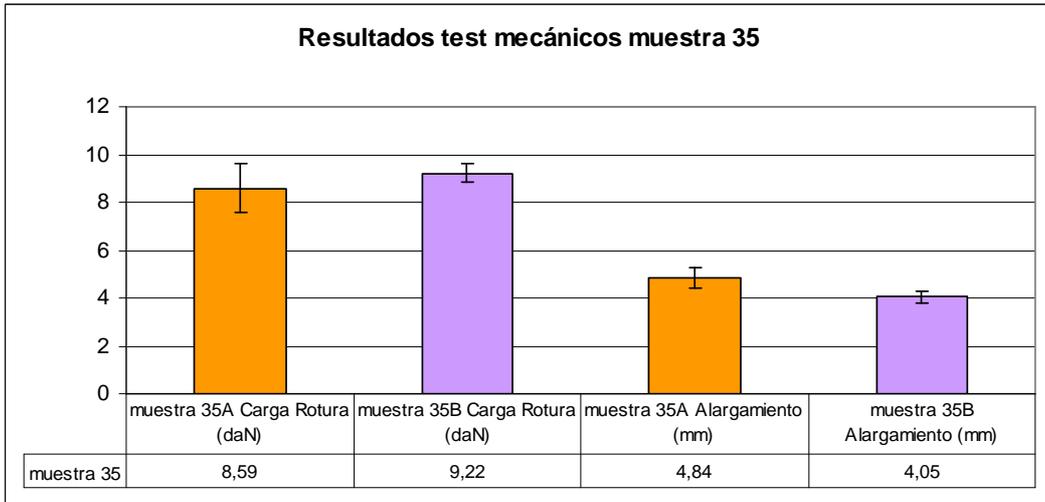


Gráfico 120. Papel en blanco nº 35: 100% Lino hecho a mano.

- Papeles 100% algodón, realizados a mano.

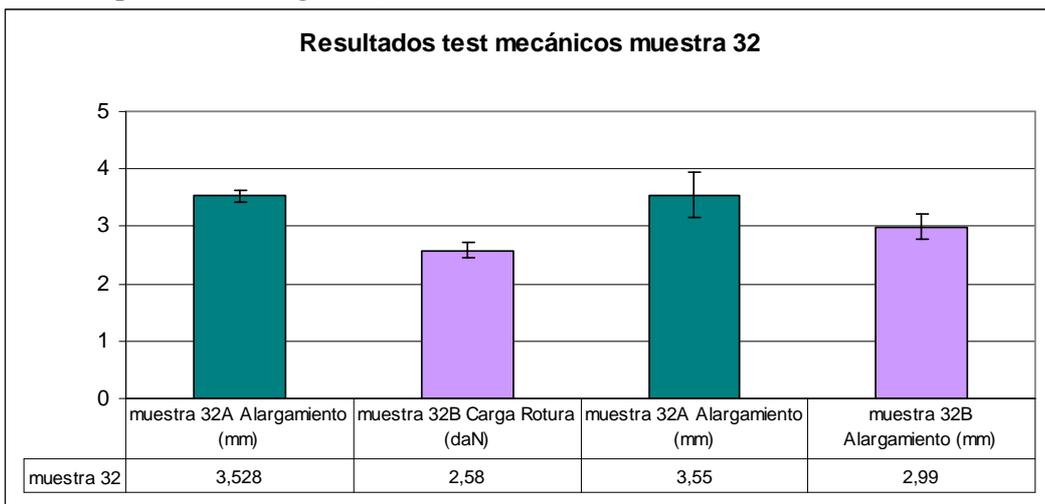


Gráfico 121. Papel en blanco nº 32:100% Algodón hecho a mano.

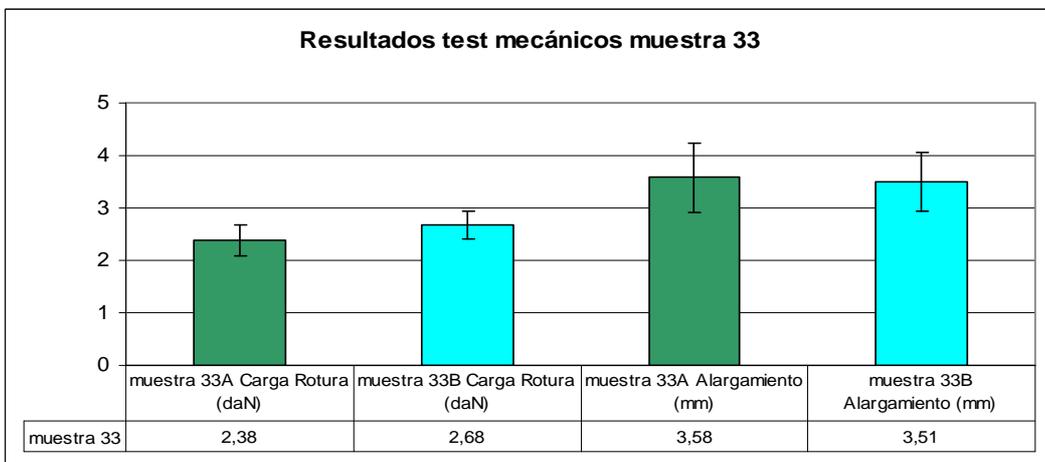


Gráfico 122. Papel en blanco nº 33:100% Algodón hecho a mano.

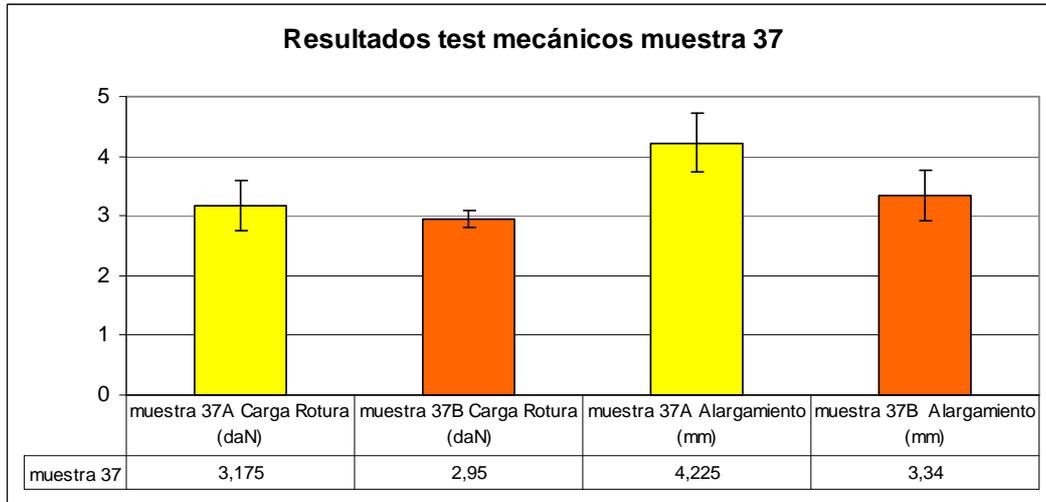


Gráfico 123. Papel en blanco n° 37: 100% Algodón hecho a mano

En general, excepto para algunos papeles en blanco, la aplicación del gel enzimático ha disminuido la resistencia mecánica de los papeles. Esto quiere decir que el tratamiento ha degradado el papel y que hay que buscar las causas de este efecto.

- **Resultado general del tratamiento enzimático con el gel de enzimas.**

Realizando un promedio de los resultados obtenidos en todas las muestras, observamos lo siguiente:

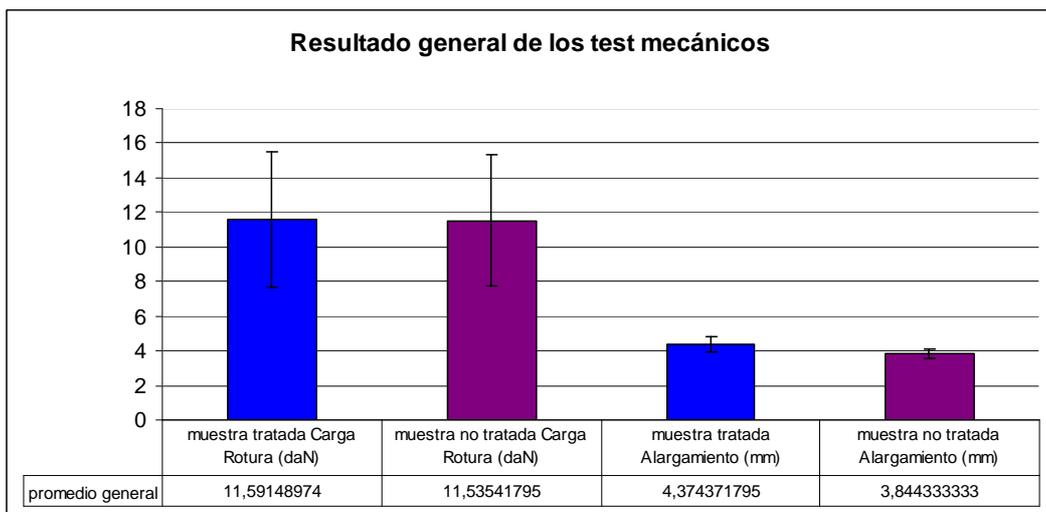


Gráfico 124. Resultado general de los test mecánicos. Se observa que la resistencia mecánica de los papeles tratados es prácticamente la misma que en los papeles sin tratar. El tratamiento parece no haber tenido efecto.

Discusión

Los resultados de los gráficos de los test mecánicos muestran que en muchos de los dibujos tratados, el gel no ha consolidado el papel e incluso ha llegado a disminuir su resistencia mecánica. El tratamiento con el gel ha sido el mismo que en pruebas anteriores, no obstante el resultado ha sido diferente. Esto puede ser debido al cambio de papel con diferentes fibras y envejecido en otra máquina de fotodegradar, y quizá también, a la aplicación de las diferentes técnicas pictóricas, que pueden inhibir la actividad enzimática. Teóricamente no debería variar la eficacia del tratamiento, sin embargo los resultados revelan que el tratamiento no es eficaz al cien por cien.

A partir de ahora, se debe averiguar el por qué de estos resultados. Se pensó que las técnicas pictóricas podían inhibir el efecto de las celulasas, pero si esto fuera verdad en los papeles en blanco los resultados hubieran sido satisfactorios. Sin embargo en muchos de ellos ha sucedido lo mismo: la degradación del papel. Otra posibilidad es que los lavados no fueran lo demasiado eficaces después de la exposición al gel. Por último se pensó que el envejecimiento acelerado del papel no había sido suficientemente y que en papeles nuevos, el efecto del gel podía ser perjudicial.

En pruebas sucesivas se estudiará si el método de envejecimiento acelerado es el adecuado, se cambiarán los lavados y se volverán a pintar los papeles para ver el efecto del gel sobre ellos.

IV.3.2 Resultados del espectrofotómetro de reflectancia

Para la realización de los gráficos de espectroscopia de reflectancia, se eligieron las muestras que habían obtenido un resultado positivo en los test mecánicos. De esta forma se observa el efecto del gel en las muestras consolidadas y las posibles variaciones que ha sufrido el color del papel.

A continuación exponemos los espectros de las muestras tratadas (A) y sin tratar (B).

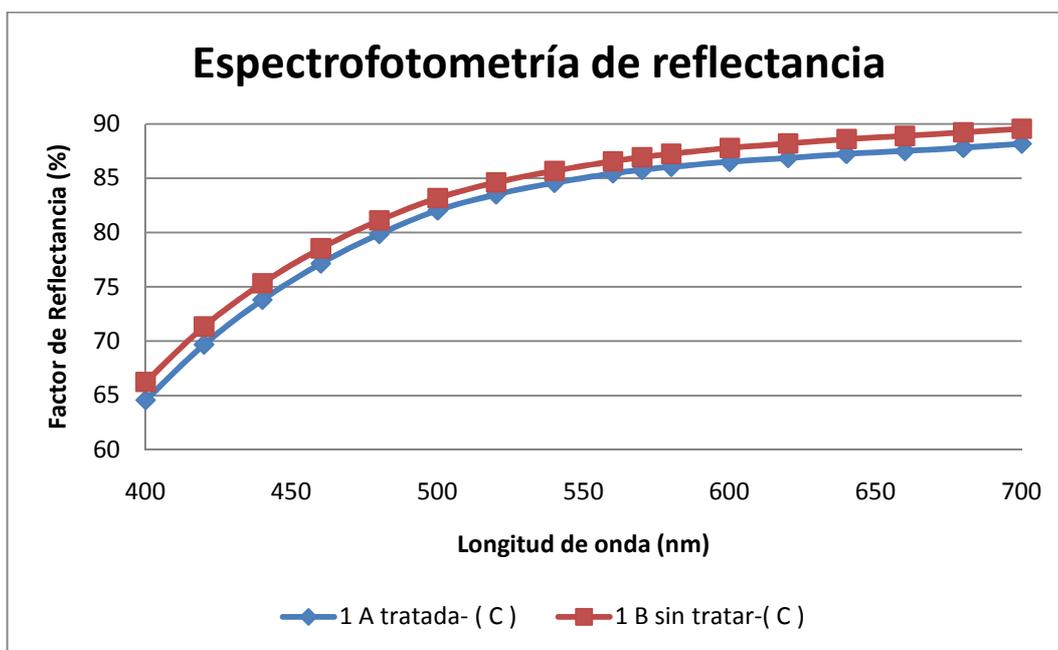


Gráfico 125. Espectrofotometría de reflectancia. Aquí el factor de reflectancia (blancura) de la muestra tratada es inferior a la no tratada. Pero la diferencia es mínima, no es significativa y puede haber sido producida por un lavado.

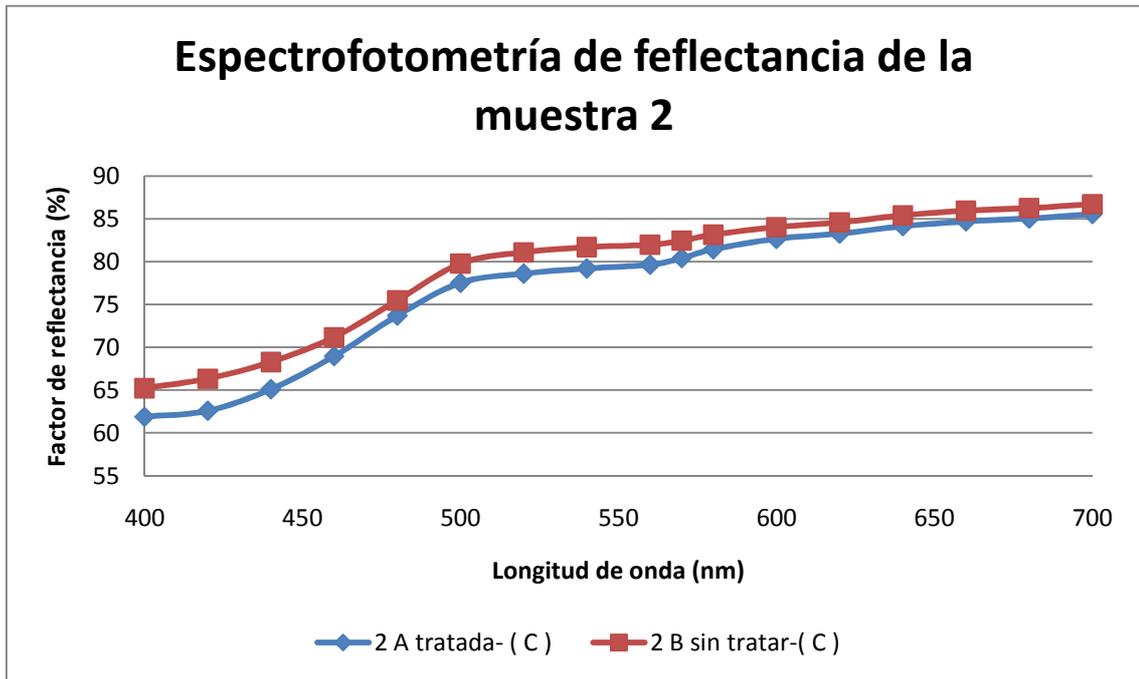


Gráfico 126. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 2.

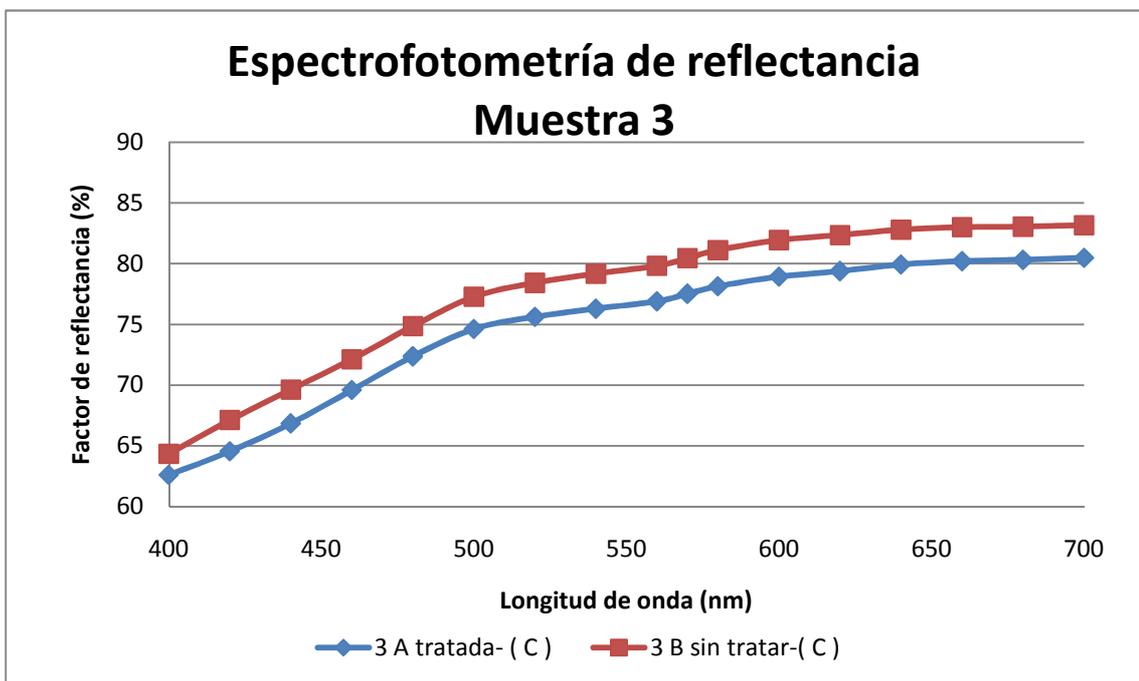


Gráfico 127. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 3.

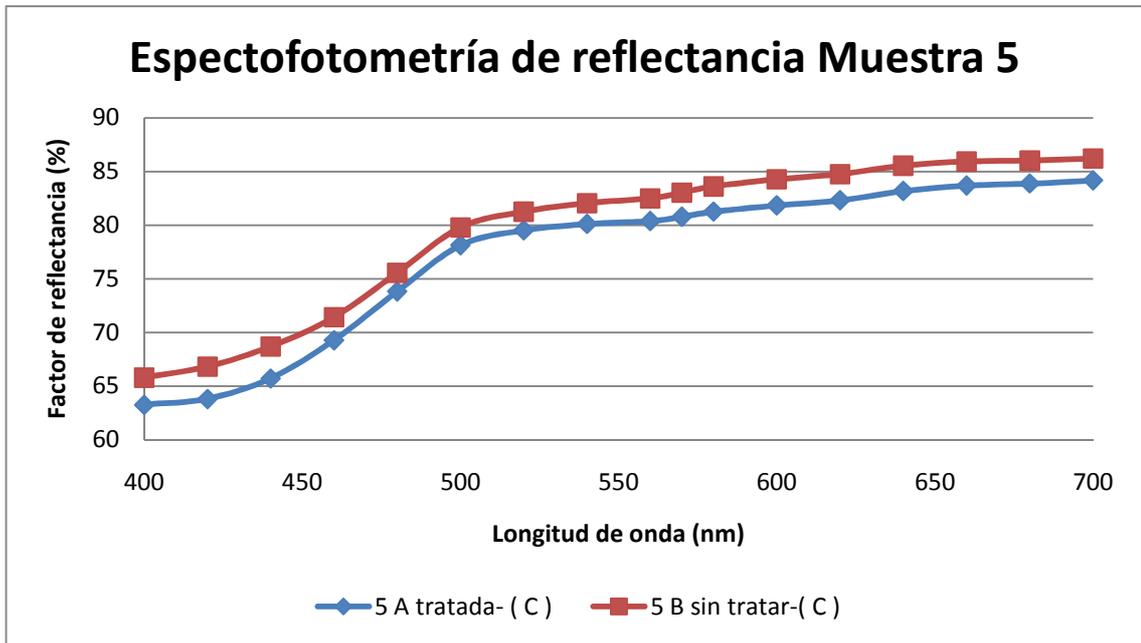


Gráfico 128. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 5.

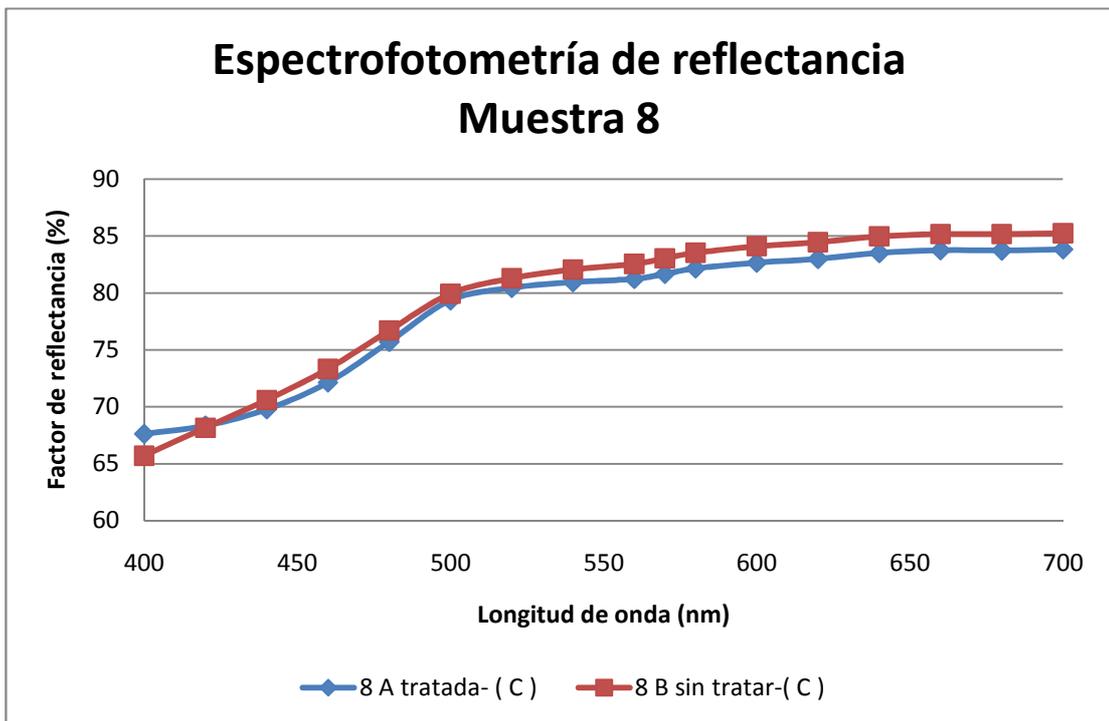


Gráfico 129. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 8.

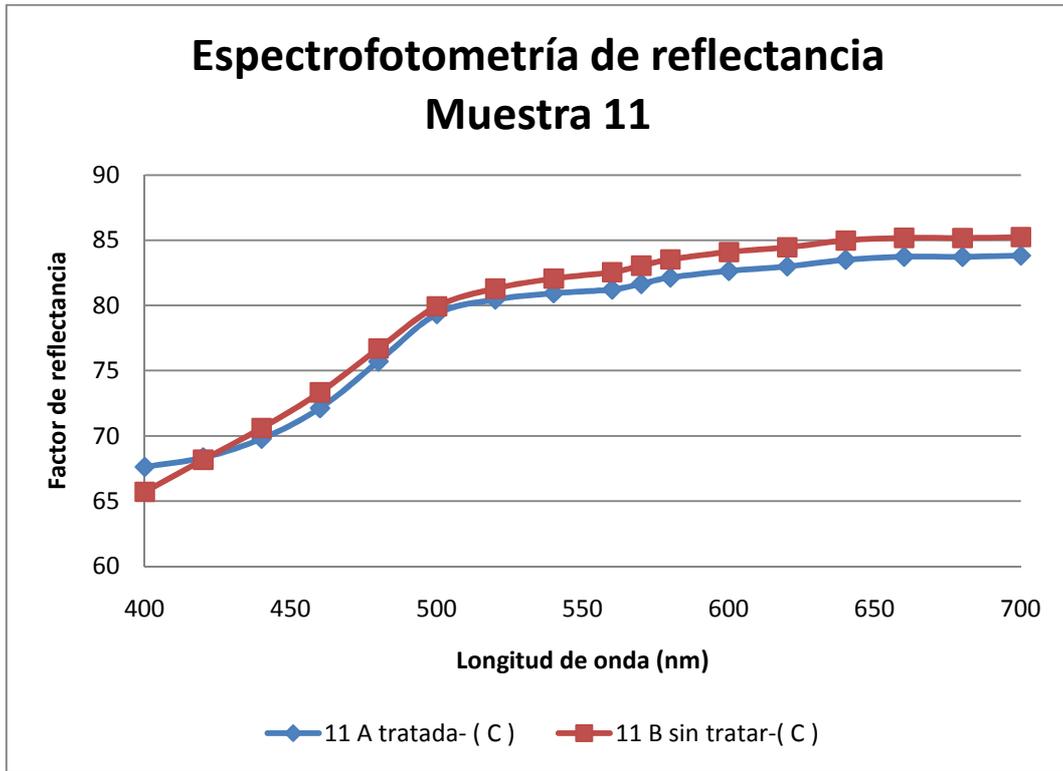


Gráfico 130. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 11.

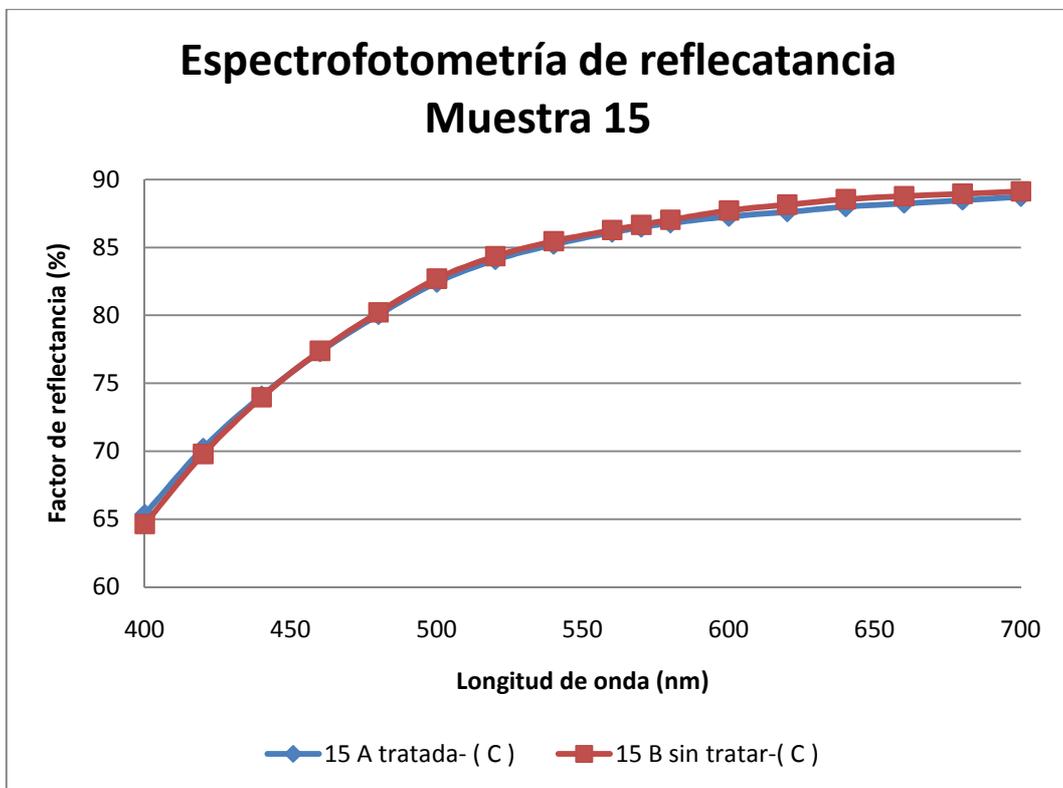


Gráfico 131. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 15. Se ve cómo las curvas del factor de reflectancia(blanco) de las dos muestras son prácticamente iguales.

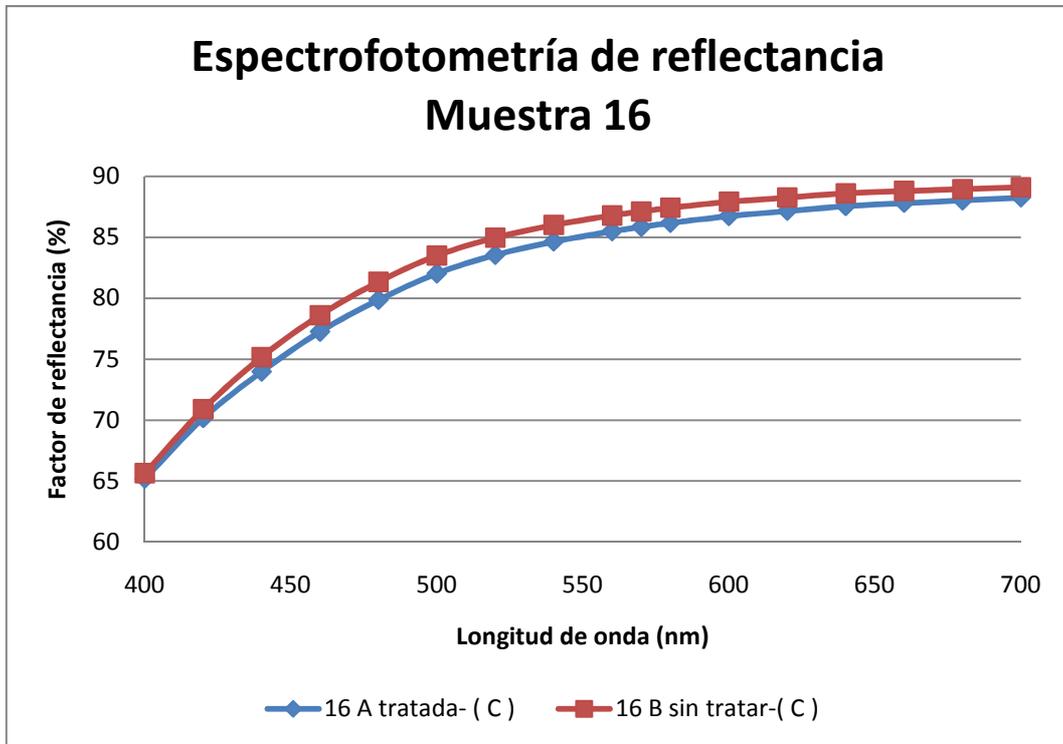


Gráfico 132. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 16.

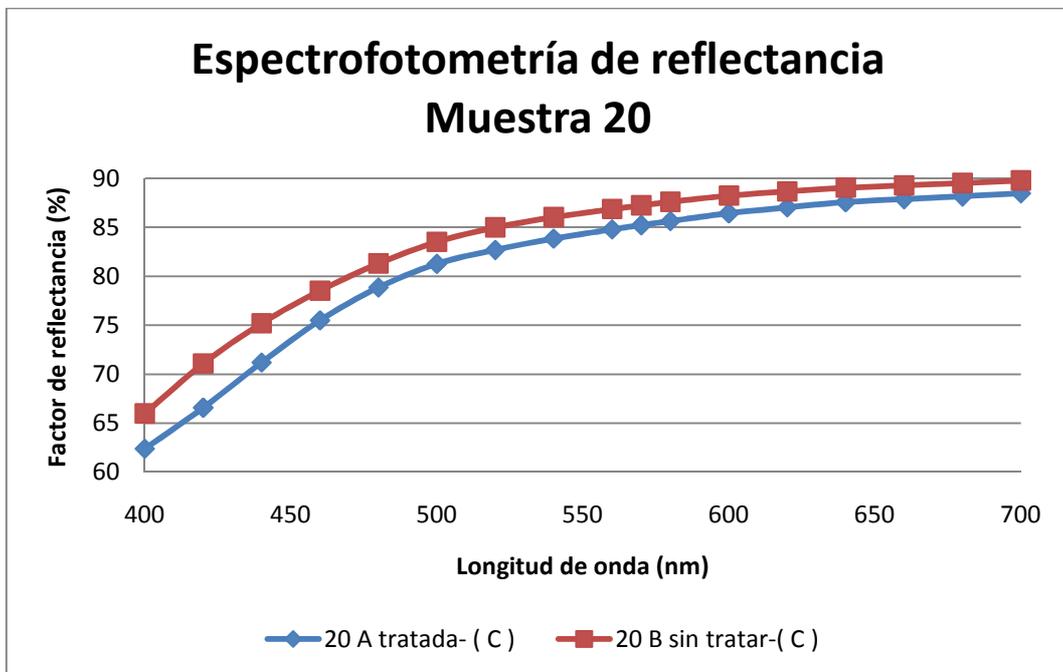


Gráfico 133. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 20.

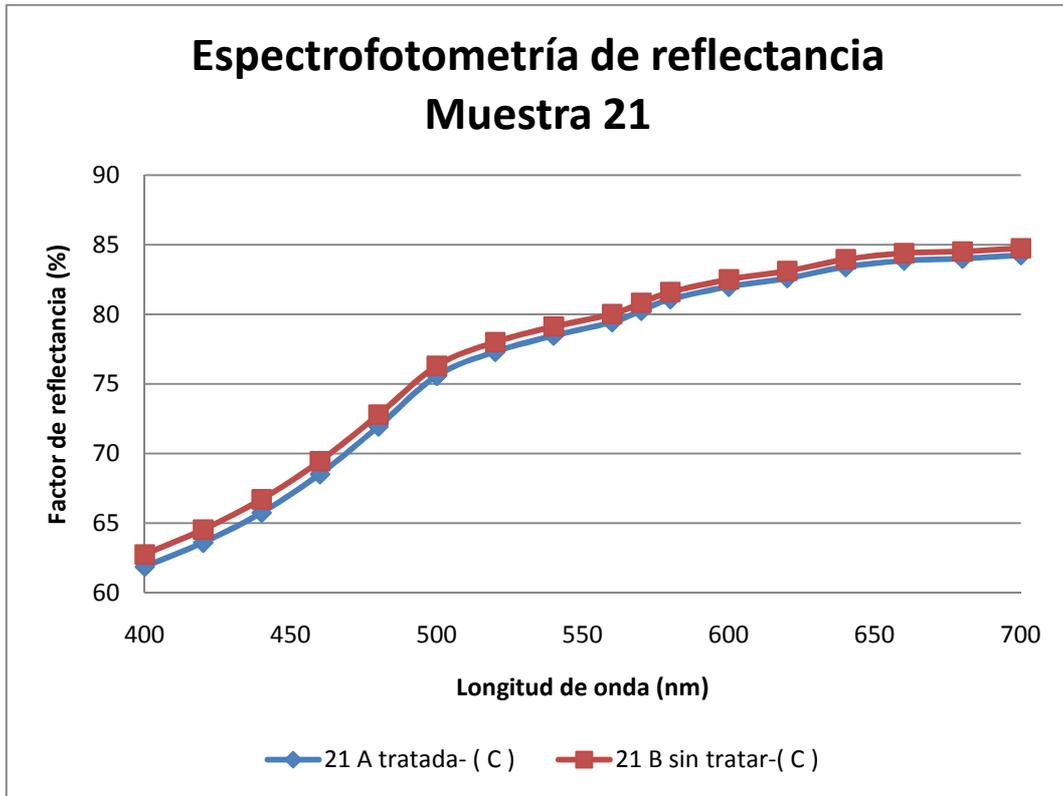


Gráfico 134. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 21.

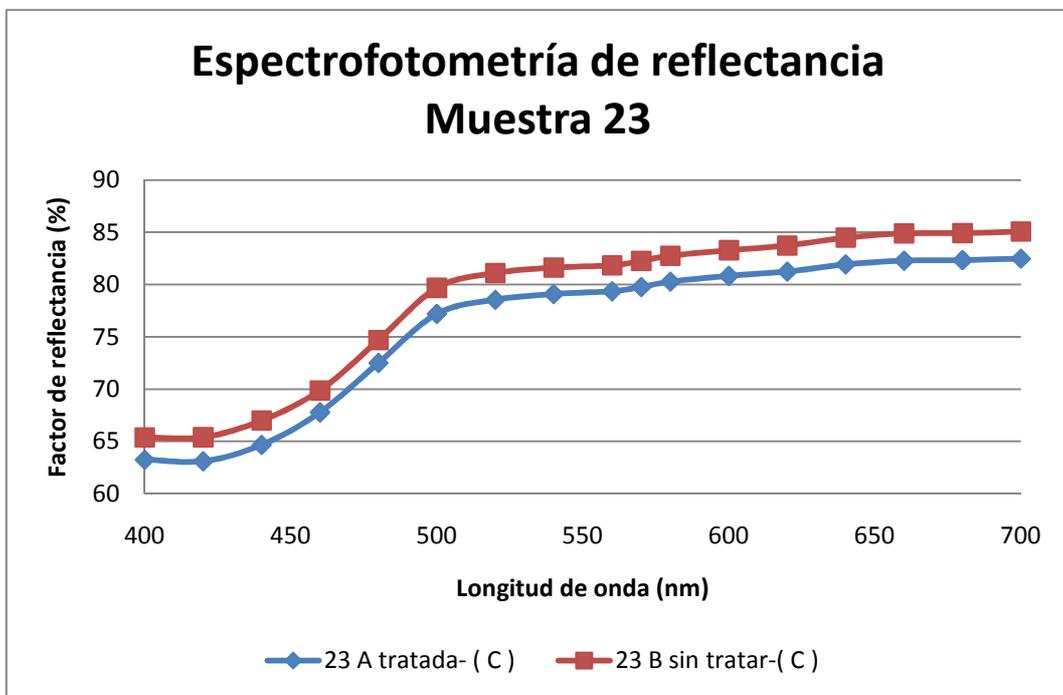


Gráfico 135. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 23.

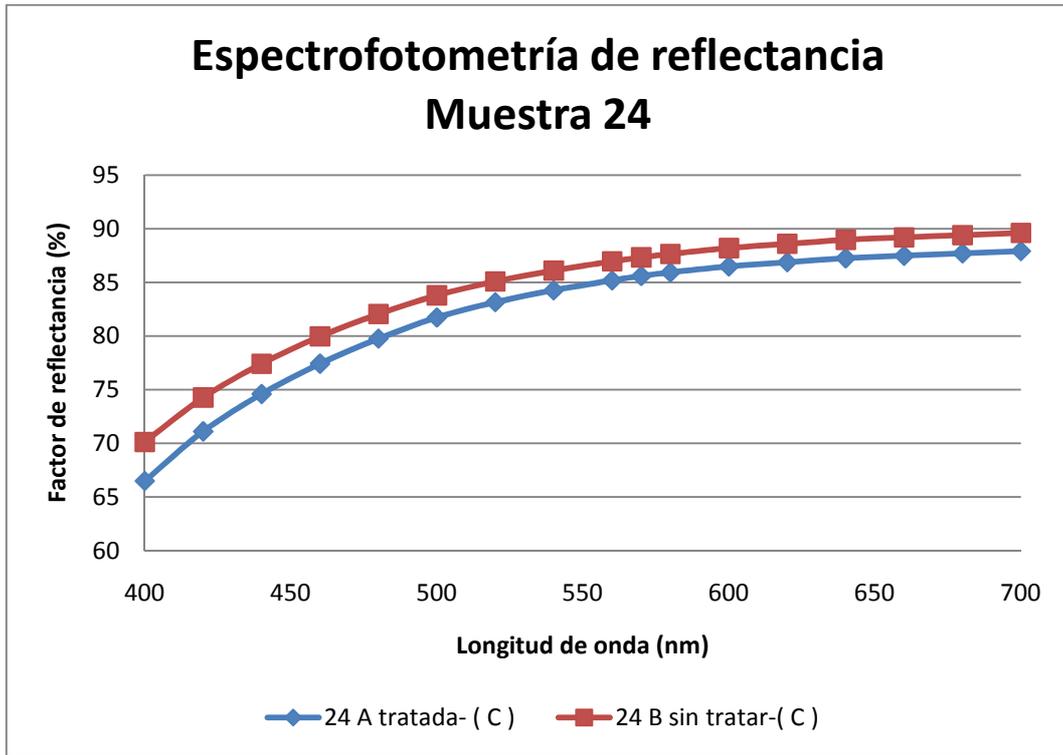


Gráfico 136. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 24.

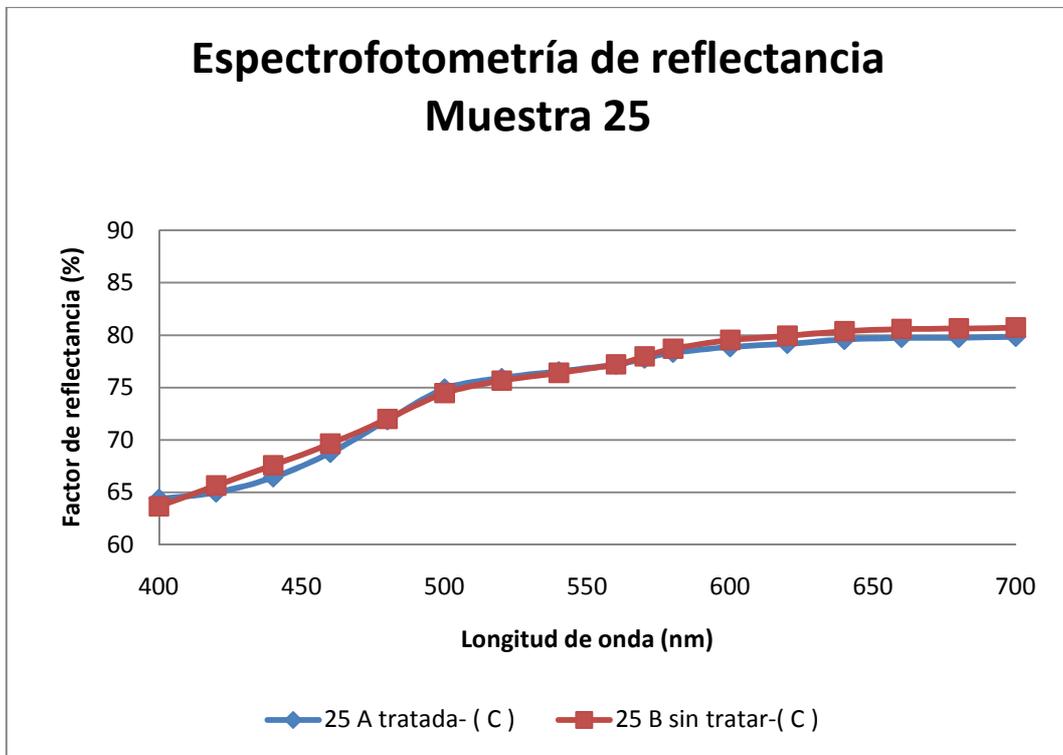


Gráfico 137. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 25.

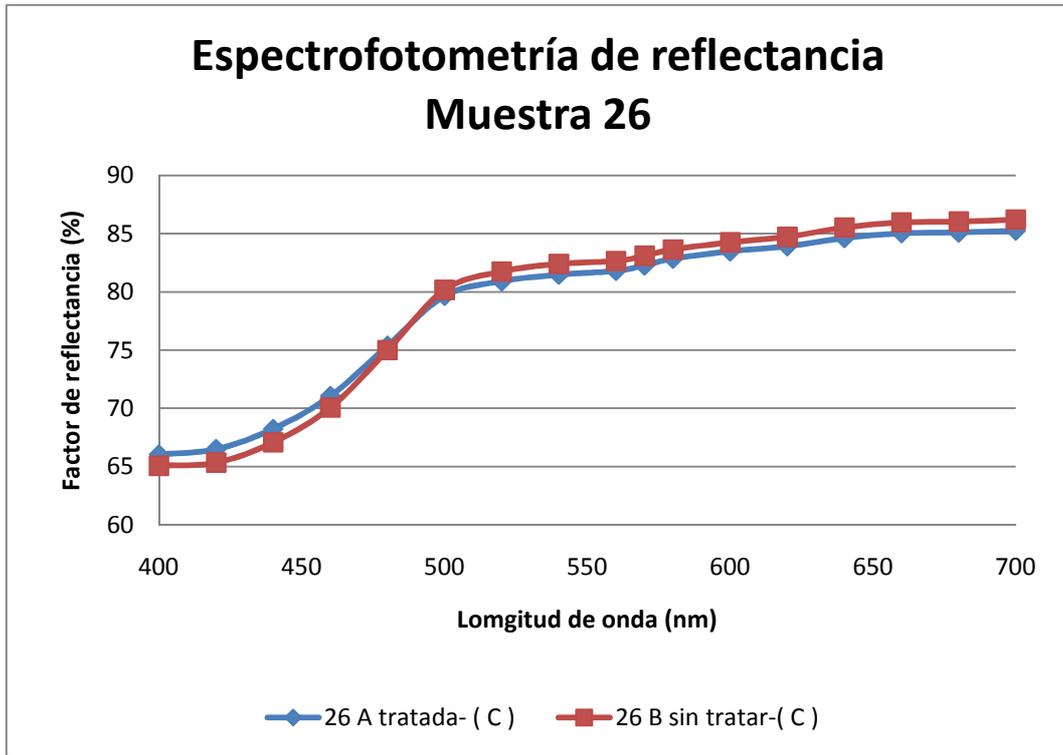


Gráfico 138 Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 26.

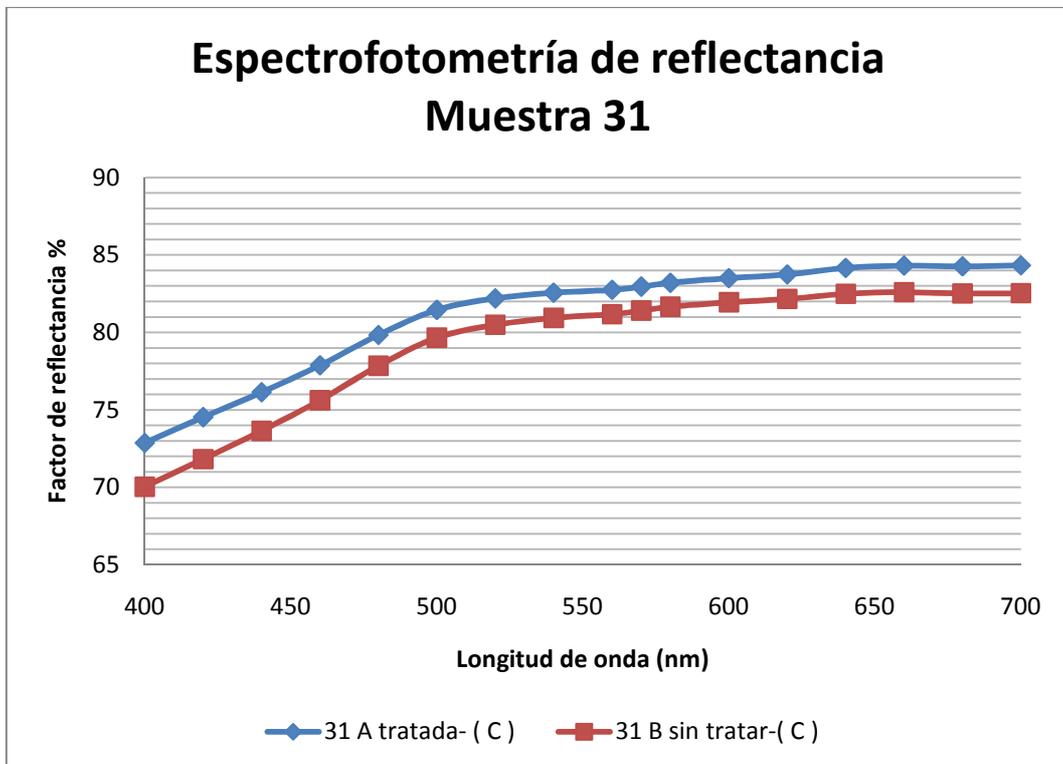


Gráfico 139. Espectrofotometría de reflectancia. En esta muestra el factor de reflectancia del papel es mayor que el del no tratado. Por lo tanto, hay una mejora del estado del papel.

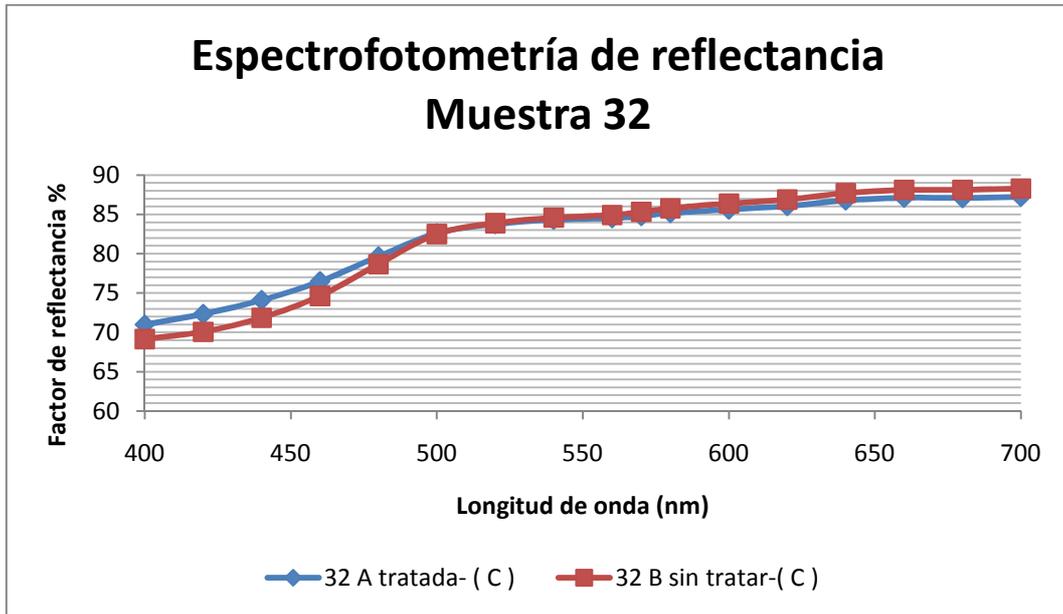


Gráfico 140. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 32.

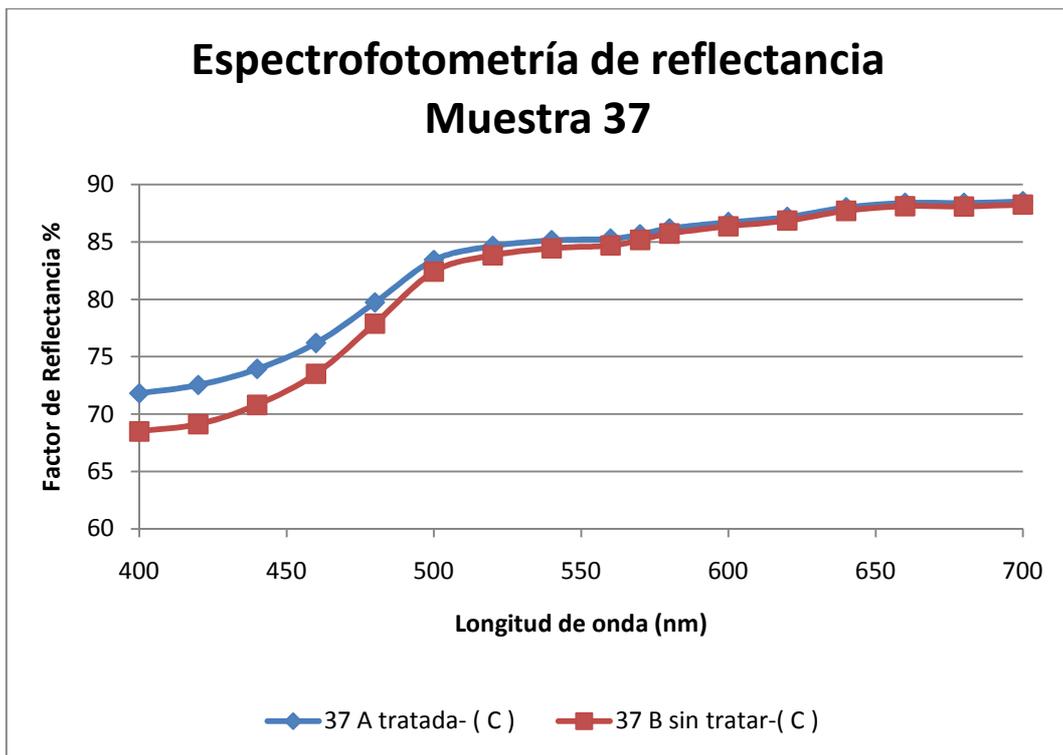


Gráfico 141. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 37.

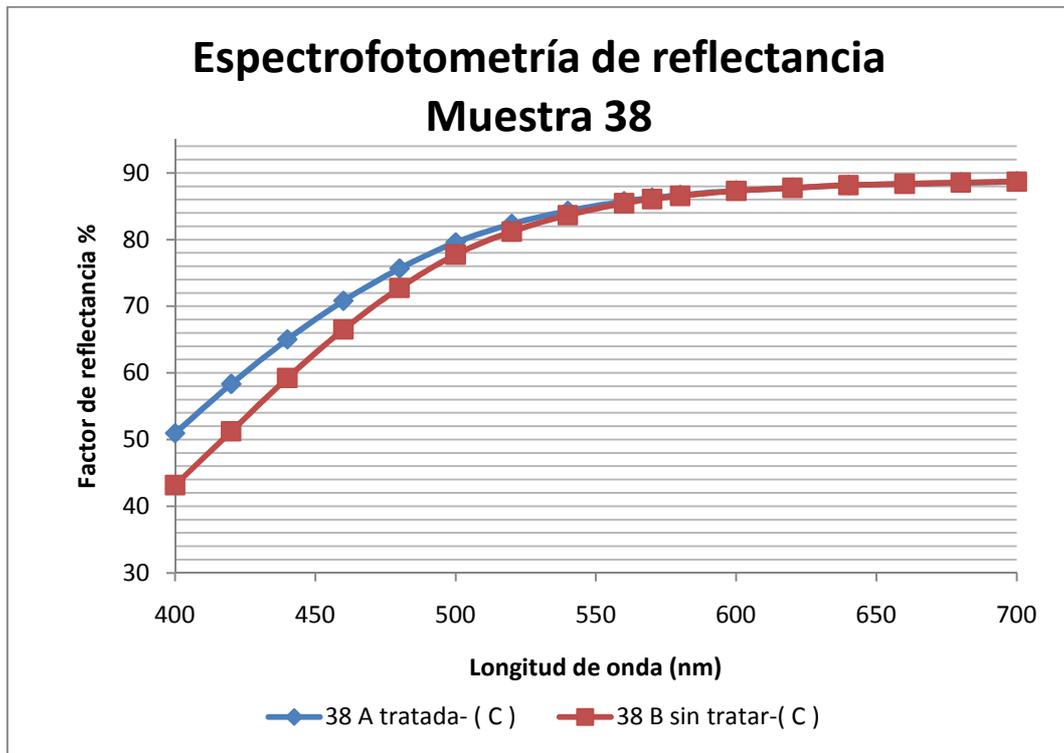


Gráfico 142. Espectrofotometría de reflectancia de la muestra 38.

En la mayoría de los espectros observamos un aumento del factor de reflectancia. Esto se traduce en un aumento de blancura en casi todas las muestras. Por tanto, a pesar de que los papeles no han sido reforzados satisfactoriamente, el amarilleamiento no aumenta y el aspecto mejora. Cuando aparece una pérdida de reflectancia (%), en las últimas muestras, podemos observar que ésta no es excesiva y, puede ser provocada perfectamente por los lavados del tratamiento. Estos espectros demuestran que el tratamiento enzimático no afecta a la blancura de los papeles.

IV.4 Preparación de la siguiente tanda de dibujos

Se volvieron a preparar otros papeles con diferentes técnicas pictóricas. Estos soportes fueron sometidos a un envejecimiento más severo en la máquina de rayos ultravioletas. Esta vez, no se utilizaron los papeles hechos a mano y se usaron papeles de la marca Fabriano 100% algodón. Posteriormente, los dibujos se cortaron por la mitad para tratar una parte con el gel enzimático y la otra no.

A continuación, se vuelven a mostrar las muestras preparadas y los dibujos realizados con diferentes técnicas.

- Lápiz



Figura 121. Lápiz, paisaje. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde al 4 A tratado y 4 B sin tratar.

Figura 122. Lápiz (derecha). Fabriano 100% algodón. Corresponde al 5A tratado y 5B sin tratar.

- Lápices de colores



Figura 123. Lápices de colores, casa. Fabriano 100% algodón. 1 A tratado y 1B sin tratar.

Figura 124. Lápices de colores, jardín. Fabriano 100% algodón. 12 A tratado y 12 B sin tratar.

- **Carboncillo**

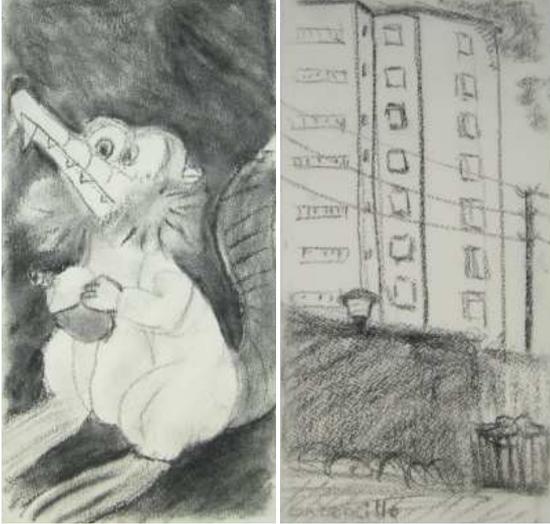


Figura 125(izquierda). Muñeco carboncillo. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde al 36 A tratado y 36 sin tratar.

Figura 126(derecha). Edificios carboncillo. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde al 21 A tratado y 21 B sin tratar.

- **Pastel**



Figura 127 (izquierda). Colores Pastel. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde al 28 A tratado y 28 B sin tratar.

Figura 128 (derecha). Rostro Pastel. Papel Fabriano 100% algodón. 13 A tratado y 13 B sin tratar.

- **Acuarela**



Figura 129. Mariquita Acuarela. Papel Fabriano 100% algodón. Muestra 31 A tratada y 31 B sin tratar.

Figura 130. Colores Acuarela. Papel Fabriano 100% algodón. Muestra 26 A tratada y 26 B sin tratar.

- **Guache o Tempera**

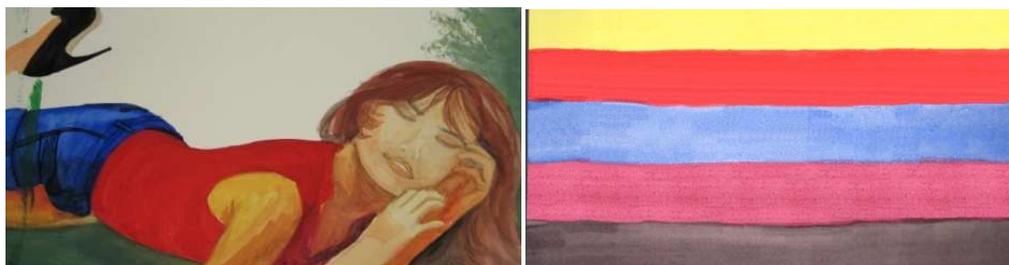


Figura 131. Mujer Guache. Papel Fabriano 100% algodón. Muestra 20 A tratada y 20 B sin tratar.

Figura 132. Colores Guache. Papel Fabriano 100% algodón. Muestra 30 A tratada y 30 B sin tratar.

- **Cera**



Figura 133. Flores Cera. Papel Fabriano 100% algodón. 8 A tratado y 8 B sin tratar.

Figura 134. Colores Cera. Fabriano 100% algodón. Muestra 7 A tratado y 7 B sin tratar.

- **Tinta china**



Figura 135. Mujer Tinta china. Fabriano 100% algodón. Muestra 23 A tratada y 23 B sin tratar.

Figura 136. Tinta china. Papel Fabriano 100% algodón. 14 A tratada y 14 B sin tratar.

- **Bolígrafo**



Figura 137. Molino Bolígrafo. Papel Fabriano 100% algodón. 11 A tratado y 11 B sin tratar.

Figura 138. Mujer Bolígrafo. Papel Fabriano 100% algodón. 22 A tratado, 22 B sin tratar.

- **Acrílico**



Figura 139. Colores Acrílicos. Papel Fabriano 100% algodón. Muestra 10 A tratada y 10 B sin tratar.

Figura 140. Atardecer acrílico. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde a 32 A tratado y 32 B sin tratar.

- **Grabado**



Figura 141. Paisaje, Grabado. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde a 38A tratado y 38 B sin tratar.

- **Tintas de Grabado**



Figura 142. Tinta de grabado. Papel Fabriano 100% algodón. Corresponde 24 A tratado y 24B sin tratar.

- **Papeles Blancos**

Los siguientes papeles Fabriano no tienen ningún tipo de técnica pictórica:

16, 18, 25, 27, 29, 34, 37, 39, 40, 44, 45.

- **Libro**

Y los papeles del libro *Crimines junto al río* corresponden a las muestras:

2, 3, 6, 9, 15, 17, 19, 35, 41, 42, 43, 46.

IV.5 Envejecimiento acelerado de las muestras

El envejecimiento acelerado de las muestras anteriores fue insuficiente. Cabía la posibilidad de que fuera porque la calidad de los papeles nuevos era superior a los papeles normales de fotocopiar y éstos necesitaban estar más tiempo expuestos a los rayos UVA. También se pensó que la máquina de fotodegradar no funcionaba correctamente porque en este tipo de máquinas, sus bombillas no se funden transcurridas ciertas horas, pero sí pierden su efecto de emitir rayos UVA. Se creyó que esto último podía ser la causa de la falta de degradación de las muestras pero se tenía que esperar a los test mecánicos para cerciorarse. No obstante, se decidió medir el pH de las hojas antes y después de introducirlas en la máquina de rayos UVA, y los soportes celulósicos variaban su pH de 7,93 antes de envejecer y a una temperatura ambiente de 25°C a 8,20, después de sacarlos de la máquina, a la misma temperatura.

- Envejecimiento

Los envejecimientos realizados fueron 9 y se realizaron en laboratorio de la Facultad de Bellas Artes de Leioa:

Tipos de envejecimiento

- 1: 168h UVA (+/- 7días)
- 2: 173h UVA (+/- 7 días)
- 3: 164 h UVA (+/- 7días)
- 4: 168 h UVA (+/- 7días)
- 5: 332h UVA (+/- 13 días)
- 6: 221h UVA (+/- 9 días)
- 7: 168h UVA (+/- 7días)
- 8: 167,42h UVA (+/- 7días)
- 9: 216h UVA (+/- 9 días)

Los papeles una vez envejecidos con rayos ultravioletas, fueron introducidos en un horno para ser envejecidos según la norma UNE 57092-1:2002 Papel y cartón con un tratamiento con calor seco a 105°C. Sin embargo, el tiempo de envejecimiento en el horno fue de 16 horas en vez de 24 como marca la normativa. Posteriormente y con la idea de aumentar la degradación del papel, se introdujeron algunos papeles en la máquina de fotodegradar de Lyon para irradiarlos 99,99 Julios.

La próxima tabla muestra el tipo de envejecimiento de las muestras.

	Muestras envejecidas 7 días	Muestras envejecidas 9 días	Muestras envejecidas 13 días
Rayos UVA en Leioa		29, 39, 40, 44	
+ 16h horno	7, 8, 13, 22, 23, 28, 34	16, 18, 24, 25	1, 31
+ 16h horno + 99,99 Julios en Lyon	4, 5, 10, 11, 12, 21, 36, 37.	33	27

Tabla 7. Envejecimiento realizado a cada muestra.

Las muestras 16, 18 y 24 fueron envejecidas en otro horno domestico y en tan sólo 8 horas cambiaron de color. Puede que este horno poseyera una potencia superior y causara que estos soportes se degradaran tanto. De todos modos, se emplearon estos papeles en las pruebas con los geles pero, sus resultados no fueron dados por buenos porque los papeles habían sido heterogéneamente degradados y los datos obtenidos en los test mecánicos eran muy difíciles de interpretar.

IV.6 Tratamiento de los papeles

Para los dibujos realizados, se fabricaron dos tipos de geles, uno con el solvente acetónitrilo y otro con el solvente etanol. Los lavados efectuados a cada muestra eran diferentes:

- 1- Lavado etanol al 1% en H₂O y acetónitrilo en papel absorbente.

- 2- Lavado etanol al 1% en H₂O +lavado rápido en agua destilada (“chorro de agua”) + acetoniitrilo en papel absorbente.
- 3- Etanol y acetoniitrilo 1:1 en papel absorbente.
- 4- Etanol sólo 1% en H₂O
- 5- Etanol +acetoniitrilo 1:1
- 6- SDS al 2% en agua destilada(40min) y luego lavado con agua destilada

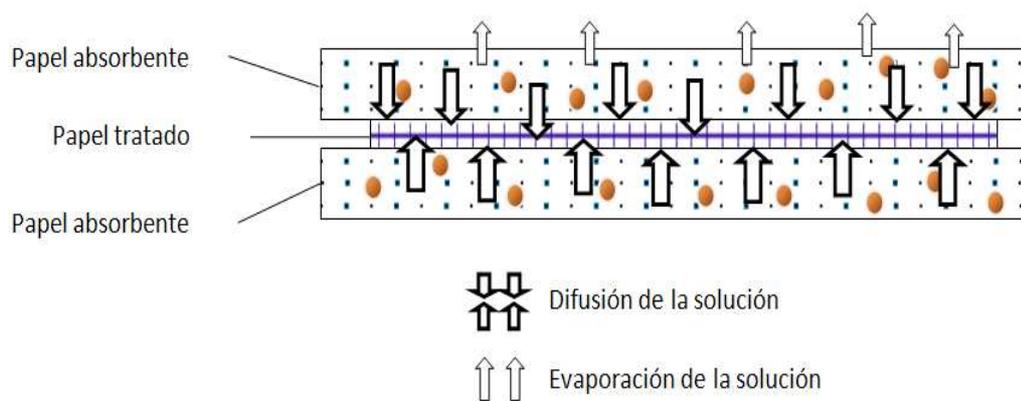


Figura 143. Esquema del lavado con papeles secantes

La siguiente tabla muestra los diferentes tratamientos: tipo de gel, uso de Reemay separador entre el gel y el papel, empleo del gel y tipo de lavados.

N° Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Peso del papel		GEL	lavados
			antes	después		
1	Lápices de colores	332h UVA + 16h horno	11,3g	11,52 g	1er uso del gel acetoneitrilo con tisú.	Lavado etanol al 1% en H ₂ O y acetoneitrilo en papel absorbente.
2	Libro	No	1,65g	1,62g	2do uso acetoneitrilo + tisú	Lavado etanol al 1% en H ₂ O+agua + acetoneitrilo en papel absorbente.
3	Libro	No	1,60g	1,55g	1er uso gel etanol más Reemay	Lavado etanol al 1% en H ₂ O +chorro agua + acetoneitrilo en papel absorbente.
4	Lápiz (playa)	164h UVA + 99,99 julios.	10,47g	10,61g	2do uso etanol contacto directo	Lavado etanol al 1% en H ₂ O y acetoneitrilo en papel absorbente.
5	Lápiz	167,42 h UVA	10,39g	10,54g	3er uso acetoneitrilo directo	Lavado etanol al 1% en H ₂ O y acetoneitrilo en papel absorbente.
6	Libro	No	1,65g	1,6g	4° uso acetoneitrilo directo	Lavado etanol al 1% en H ₂ O y acetoneitrilo en papel absorbente.
7	Cera	168hUVA y 16 h horno	11,7g	11,94g	3er uso gel etanol directo	Etanol y acetoneitrilo 1:1 en papel absorbente.
8	Cera	173hUVA 16h horno	11,2	10,70	1er uso etanol directo	Etanol y acetoneitrilo 1:1 en papel absorbente.
9	Libro	No	1,61g	1,63g	4uso etanol + Reemay	Etanol + acetoneitrilo en papel absorbente una cara sólo
10	Acrílico rayas	168hUVA+99,99julios+ 16h horno	10,55g	10,70g	2do uso etanol directo	Etanol 10%
11	Bolígrafo molino	168hUVA+99,99 julios+16h horno	10,27g	10,45g	3uso gel etanol directo	Etanol 10%

Tabla 8. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos

Nº Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Peso del papel		GEL	lavados
			antes	después		
12	Lápiz de colores -flor	173h UVA+99,99 julios+16h horno	10,59g	10,69g	1º uso acetoneitrilo directo	Etanol + acetoneitrilo
13	Pastel-rostro	168hUVA+16h horno	10,28g	10,34g	4º uso etanol directo (gel casi seco, papel casi sin empapar).	Etanol +acetoneitrilo
14	Tinta china	168hUVA+99,99 julios + 16h horno	10,84g	11,12g	2º uso acetoneitrilo directo	Etanol +acetoneitrilo
15	Libro	No	1,70g	1,71g	5º uso etanol+reemay	Etanol +acetoneitrilo
16	Papel tostado	221hUVA+8h horno	10,2g	10,48g	3º uso gel acetoneitrilo directo	Etanol +acetoneitrilo
17	Libro	No	1,84g	1,88g	6º uso gel etanol + Reemay	Etanol +acetoneitrilo
18	Papel tostado	221hHorno + 8 h horno	10,8g	10,42g	4º uso acetoneitrilo directo	Etanol +acetoneitrilo
19	Libro	No	2g	1,78g	7 uso gel etanol directo	Etanol +acetoneitrilo
20	Guache-chica	168hUVA+99,99 julios+16h horno	10,79g	11,77g	1º uso acetoneitrilo Reemay gel blando y empapa papel	Etanol +acetoneitrilo en papel absorbente
21	Carboncillo- edificios-	168hUVA+99,99 julios+16h horno	10,53g	10,59g	2º uso acetoneitrilo Reemay	Etanol +acetoneitrilo en papel absorbente
22	Bolígrafo-chica.	168hUVA+16h horno	10,02g	10,04g	3º uso gel acetoneitrilo Reemay	Etanol +acetoneitrilo en papel absorbente

Tabla 9. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos

N° Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Peso del papel		GEL	lavados
			antes	después		
23	Tinta china - chica	167,42hUVA + 16h horno	11,30g	11,31g	1°uso gel etanol + Reemay	Etanol + acetónitrilo en papel absorbente
24	Tintas grabado	221h UVA +8 h horno	10,95g	11,13g	2°uso gel etanol	Etanol sólo
25	Papel tostado	221hUVA +8 h horno	10,14g	10,32g	4°uso gel acetónitrilo directo	Etanol sólo
26	Acuarela rayas.	332h horno +99,99 julios+16h horno	10,50g	10,69g	3°uso gel etanol directo	Sólo etanol
27	Blanco	332h UVA+99,99 julios+16h horno	10,32g	10,52g	5°uso acetónitrilo directo	Sólo etanol
28	Pastel – diagonales-	168h UVA+16h horno	10,83g	10,92g	4°uso gel etanol directo	Sólo etanol
29	Blanco	216hUVA	10,55h	10,66g	6°uso acetónitrilo. Gel seco	Sólo etanol
30	Guache – rayas.	168hUVA+16h horno	11,17g	11,19g	5°etanol directo	Sólo etanol
31	Acuarela- mariquita	332h horno+16 horno	10,67g	10,81g	1°uso acetónitrilo directo	Sólo etanol
32	Acrílico atardecer	168hUVA+99,99 julios+ 16h horno.	11,44g	11,66g	2°uso acetónitrilo directo	Sólo etanol

Tabla 10. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos

Nº Dibujo	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Peso del papel		GEL	lavados
			antes	después		
33	Blanco	216h UVA+99,99 Julios	10,45g	10,71g	6º uso gel etanol directo	Sólo etanol
34	Blanco	164hUVA+16h horno	10,51g	10,67g	3º uso gel acetoneitrilo directo	Etanol sólo
35	Libro	No	2,16g	2,17g	7º uso del gel etanol	Etanol sólo
36	Carboncillo	168hUVA+99,99 Julios + 16h horno	10,39g	10,55g	1º uso del gel de etanol	Etanol sólo
37	Blanco	168hUVA+99,99 Julios+16h horno	10,45g	10,63g	4º uso gel acetoneitrilo	Sólo etanol
38	Grabado	168hUVA+99,99 Julios+16h horno	13,8g	13,83g	2º uso gel etanol	SDS al 2% (40min) y agua destilada
39	Blanco	216hUVA	10,7g	10,97g	5º uso gel acetoneitrilo directo	Sólo etanol
40	Blanco	216hUVA	10,25g	10,72g	6º gel acetoneitrilo	SDS al 2% (40min) y agua destilada
41	Libro	No	2,05g	2g	3º gel etanol	SDS al 2% (40min) y agua destilada
42	Libro	No	2,1g	2,1g	4º uso gel etanol	SDS al 2% (40min) y agua destilada
43	Libro	No	2,14g	2,11g	5º uso de etanol	SDS al 2% (40min) y agua destilada

Tabla 11. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos

Los papeles 44, 45 y 46 no fueron tratados. El papel 44 sufrió un envejecimiento acelerado de 216 h UVA, el papel 45 es un papel de referencia blanco sin degradar, ni tratar y el 46 es una hoja del libro sin tratar, que se empleó para contrastar nuestros resultados finales en los test mecánicos.

IV.7 Resultados Generales de los test mecánicos en papeles envejecidos en la máquina de la UPV.2007.

IV.7.1 Resultado del envejecimiento acelerado según los test mecánicos

Se ha descrito con anterioridad el envejecimiento que se realizó a cada una de las muestras. Ahora gracias a los test mecánicos, se averiguará si estos métodos eran efectivos. El siguiente gráfico engloba todos los resultados obtenidos para conocer la efectividad del envejecimiento acelerado de nuestros papeles cortados en sentido transversal:

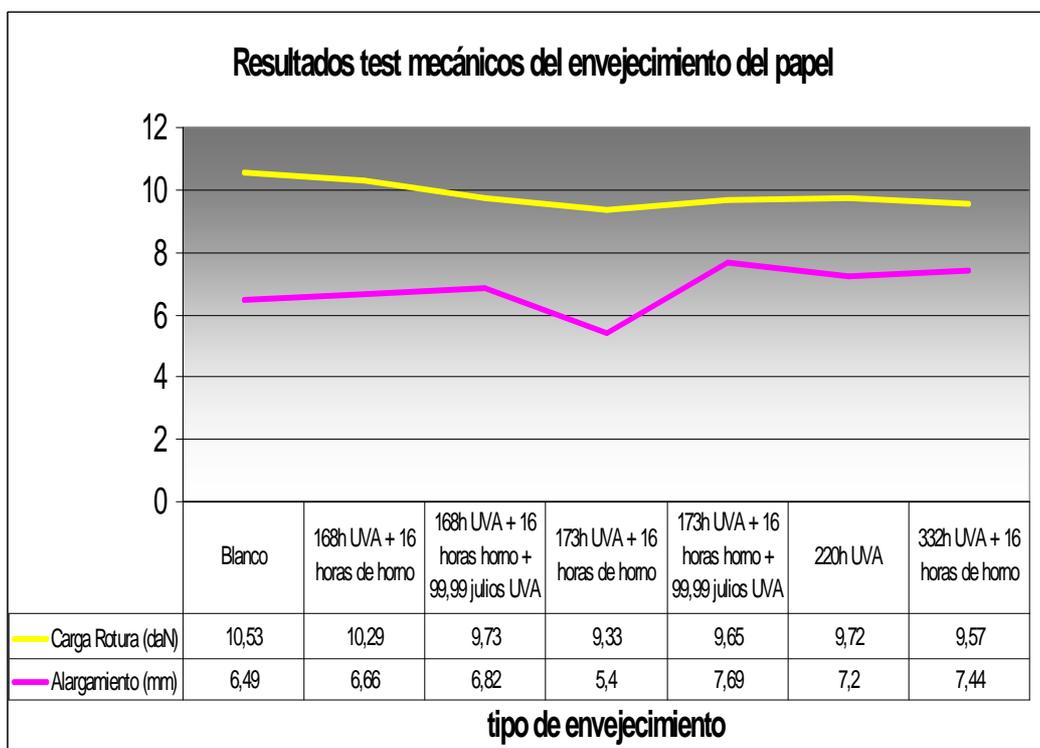


Grafico 143. Gráfico de la resistencia de papeles envejecidos aceleradamente y cortados en sentido transversal. Se observa cómo el papel disminuye su resistencia levemente y el alargamiento aumenta

El gráfico siguiente reúne los resultados de los test mecánicos para papeles de referencia cortados en sentido longitudinal.

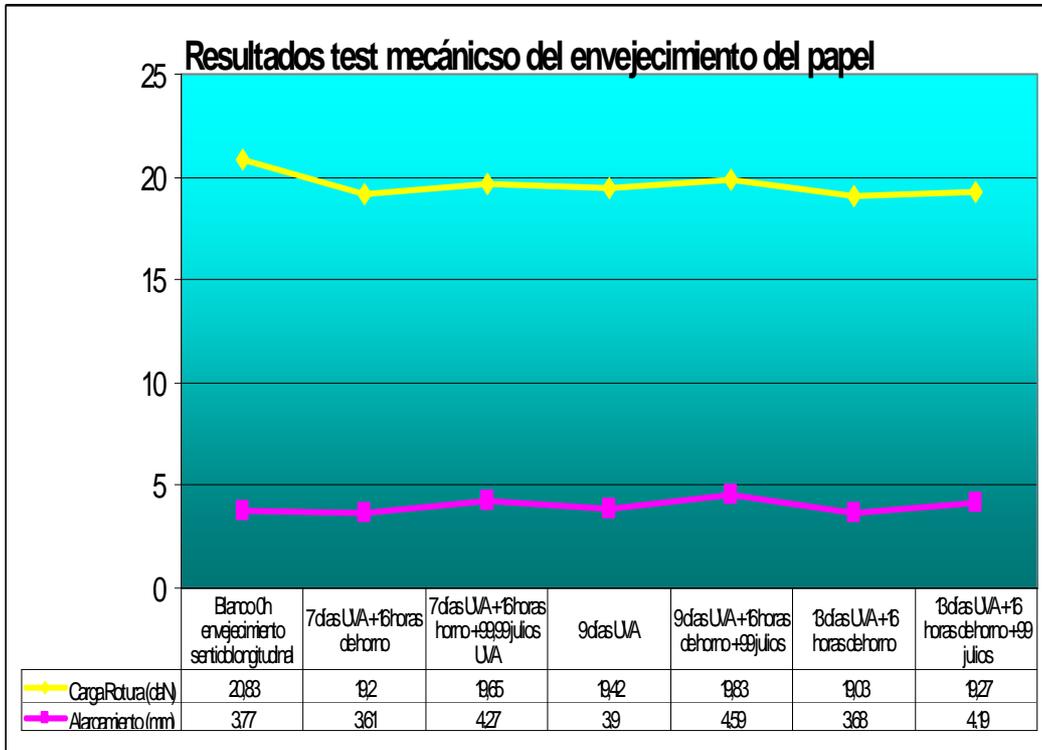


Grafico 144. Resultado de los papeles cortados en sentido longitudinal. El papel pierde levemente su resistencia y el alargamiento parece más o menos estable.

- Conclusiones

Los resultados obtenidos en los papeles envejecidos con la máquina de rayos ultravioletas (UV) del taller de restauración de Leioa, revelan que el envejecimiento del papel no es excesivo y que los resultados no son muy significativos. Sí se observa un ligero descenso en la resistencia Carga Rotura (en daN) del papel, pero la variación no es excesiva, por lo que deducimos que la máquina utilizada no es la adecuada para degradar nuestro papel.

Seguramente esta máquina de rayos UV ha perdido su efecto. Estas máquinas con bombillas (de bulbo) que emiten rayos UV, con el tiempo o pasadas ciertas horas de exposición, no funden pero sí pierden la facultad de emitir rayos ultravioletas.

Viendo los resultados podemos concluir que las bombillas no emiten ya suficientes rayos UV. Pero aún faltan realizar más test mecánicos para estar seguros a ciencia cierta que el envejecimiento no es el más adecuado.

Por otro lado, se observa que los papeles que han sido envejecidos aumentan su resistencia al alargamiento. Esto puede ser debido a la rotura de algunas uniones que disminuyen la resistencia de la carga y rotura del papel pero, que por otro lado aumentan el alargamiento de las fibras.

Por lo tanto, los resultados obtenidos con los papeles envejecidos en la UPV no darán un resultado óptimo del tratamiento y se deduce que cuando el alargamiento del papel aumenta, revela un envejecimiento en vez de una mejora de su estado.

IV.7.2 Resultados generales de los test mecánicos para conocer la eficacia de nuestro tratamiento con el gel etanol.

A continuación, se exponen los resultados obtenidos para los geles realizados con el solvente etanol.

- Gráficos con los resultados:

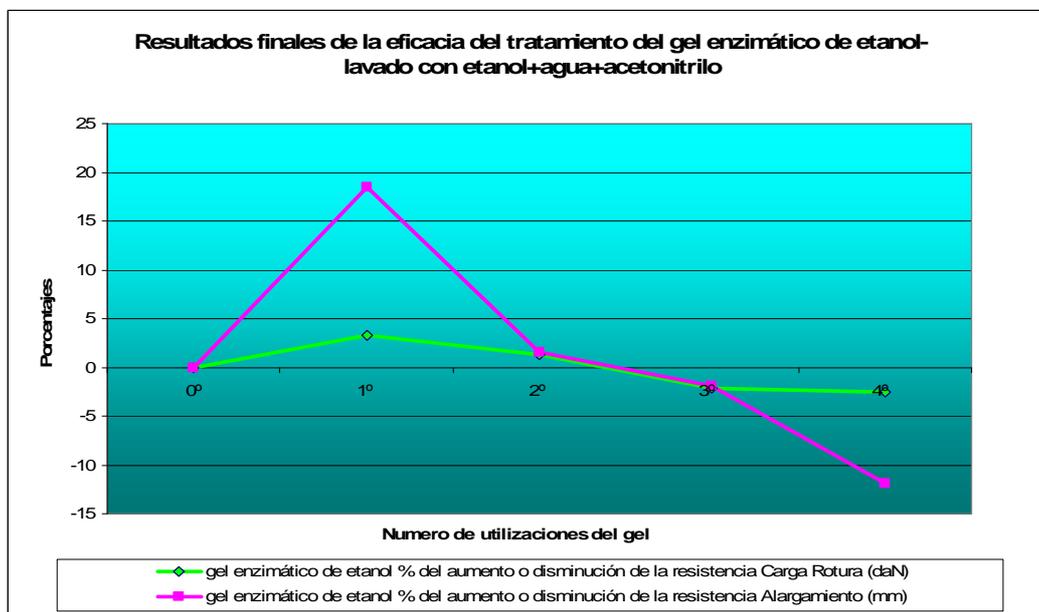


Gráfico 145. En el grafico se ven los porcentajes del aumento o disminución de la resistencia del papel dependiendo del número de veces que había sido utilizado el gel. Los lavados posteriores también influyen en los porcentajes. El lavado realizado en estas muestras es de etanol en agua destilada y acetonitrilo en papel absorbente.

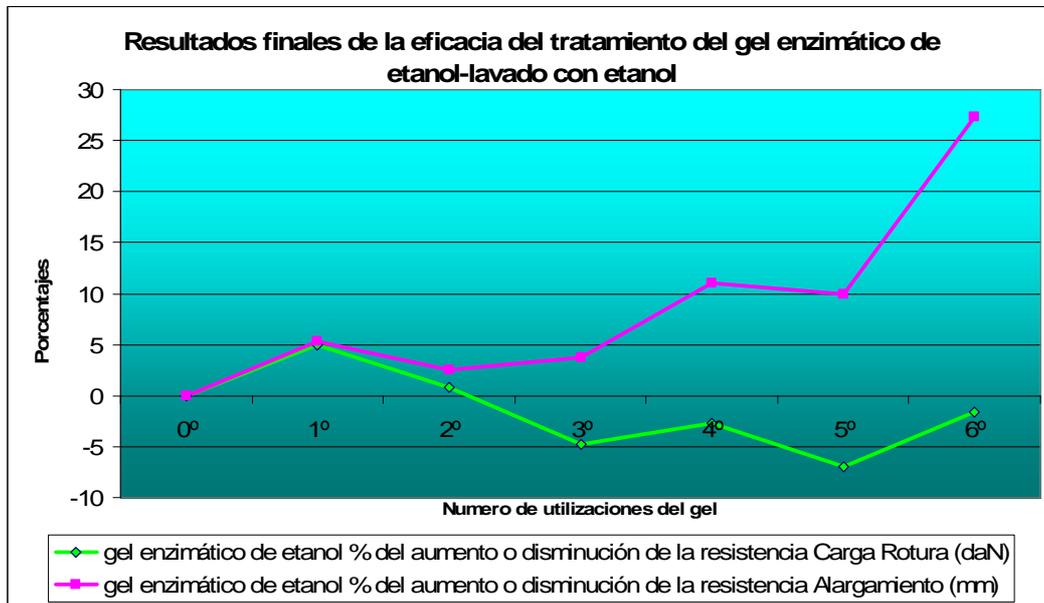


Gráfico 146. Porcentajes del aumento o disminución de la resistencia del papel dependiendo del número de veces que había sido empleado el gel. El lavado realizado en estas muestras es sólo de etanol.

IV.7.2.1 Conclusiones del gel enzimático de etanol.

Lo que se observa es que el gel sólo tiene resultados efectivos en la primera y segunda utilización. Aunque en el segundo empleo del gel, el papel también obtiene un aumento de la resistencia, se ha visto que por seguridad es mejor utilizar sólo una vez el gel.

Más o menos tanto en uno como en el otro lavado, los resultados en la primera y segunda utilización son similares pero se sabe por diferentes estudios que el empleo del etanol puro es perjudicial para las fibras del papel así que es mejor diluirlo en agua. De esta manera se inhiben los posibles restos de enzimas y no se perjudican a las fibras.

También se ha comprobado que en muchas ocasiones el alargamiento de las fibras hasta la rotura aumenta cuando la resistencia a la Carga y rotura disminuye. Quizá se rompan algún tipo de unión en las fibras que las hace ser más flexibles pero menos resistentes a la rotura a la vez.

IV.7.3 Resultados generales para los geles de acetonitrilo:

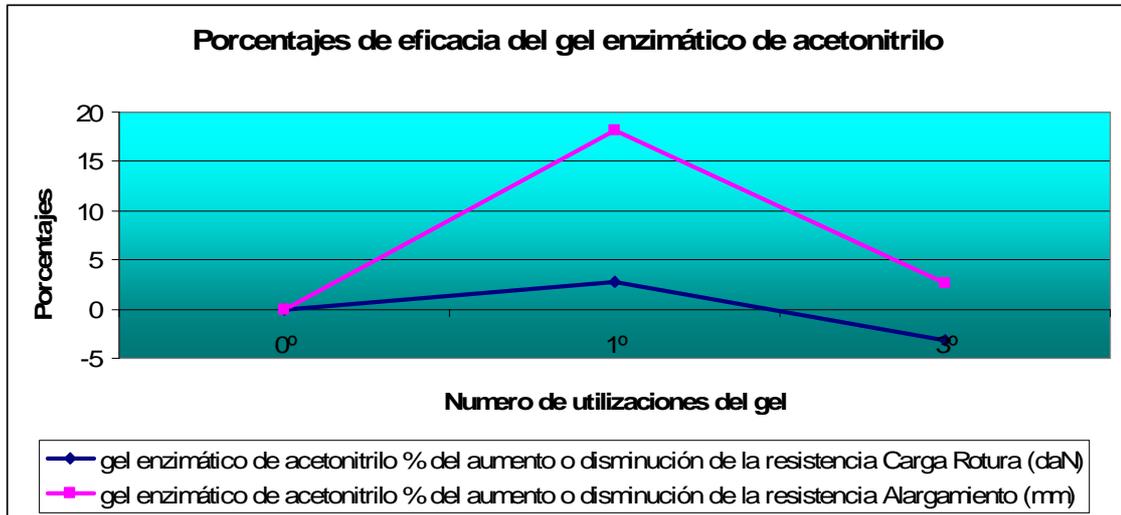


Gráfico 147: Porcentajes del aumento o disminución de la resistencia del papel dependiendo del número de veces que había sido empleado el gel. El lavado realizado en estas muestras es de etanol en agua destilada y acetonitrilo en papel absorbente.

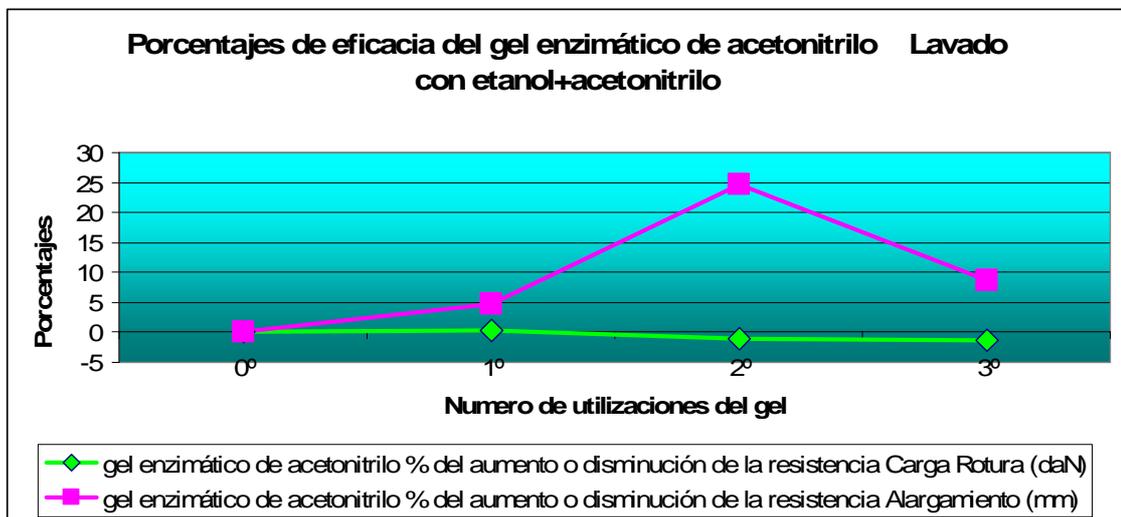


Gráfico 148: Porcentajes del aumento o disminución de la resistencia del papel dependiendo del número de veces que había sido empleado el gel. El lavado realizado en estas muestras es sólo de etanol.

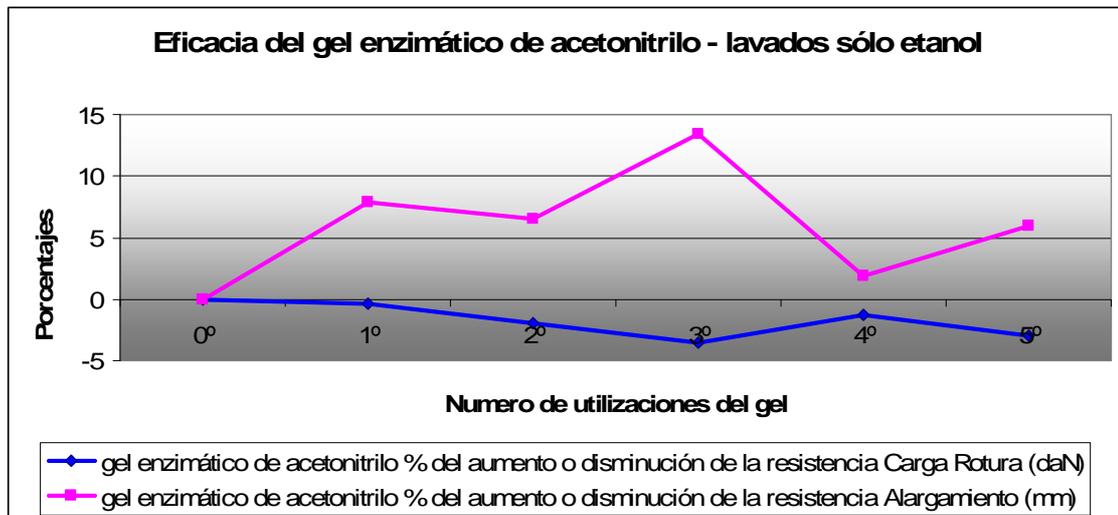


Gráfico 149: Porcentajes del aumento o disminución de la resistencia del papel dependiendo del número de veces que había sido empleado el gel. El lavado realizado en estas muestras es sólo de etanol.

Los resultados con el detergente SDS no son suficientes para llegar a una conclusión fiable por lo que necesitamos realizar más pruebas para obtener más resultados.

IV.7.4 Resultados generales de los test mecánicos del tratamiento de un libro antiguo.

El papel del libro antiguo era un papel industrial de los años 50 aproximadamente. Las hojas de pasta mecánica presentaban una fuerte oxidación irregular, mayor por la periferia y menor en el centro. Esta oxidación irregular se hacía más evidente en los lavados como observamos en la siguiente fotografía.



Figura 144. Una hoja del libro durante un lavado

A continuación, los gráficos realizados son el promedio de muchos test mecánicos. Hemos dividido los resultados por tipos de lavados realizados:

El primer gráfico son los resultados del tratamiento enzimático con el gel acetónitrilo y los lavados con etanol, agua y acetónitrilo en papel absorbente:

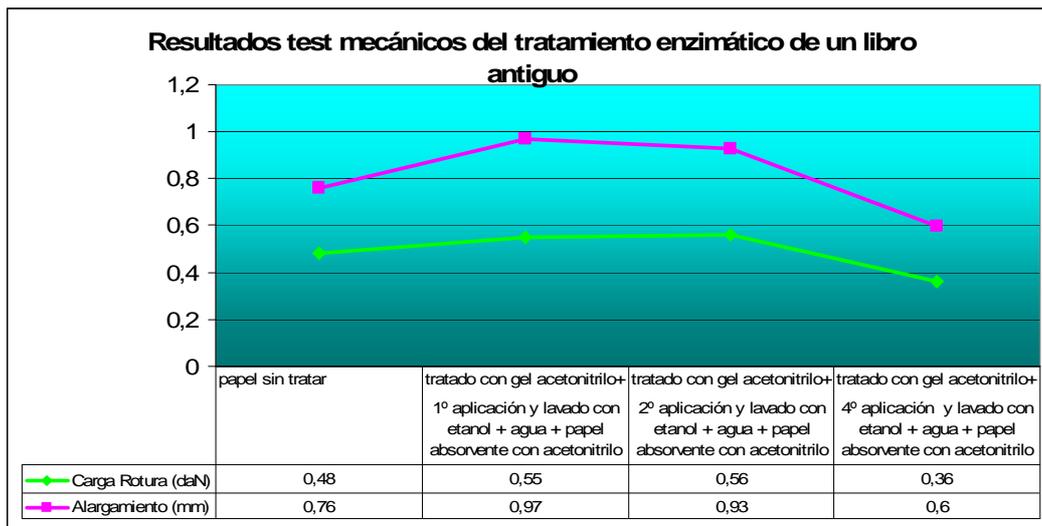


Gráfico 150. Tratamiento enzimático con gel acetónitrilo. Lavados con etanol 1% en H₂O, lavado rápido con agua destilada y acetónitrilo en papel absorbente.

El siguiente gráfico engloba los resultados para el tratamiento con el gel etanol y los lavados con SDS al 2% en H₂O:

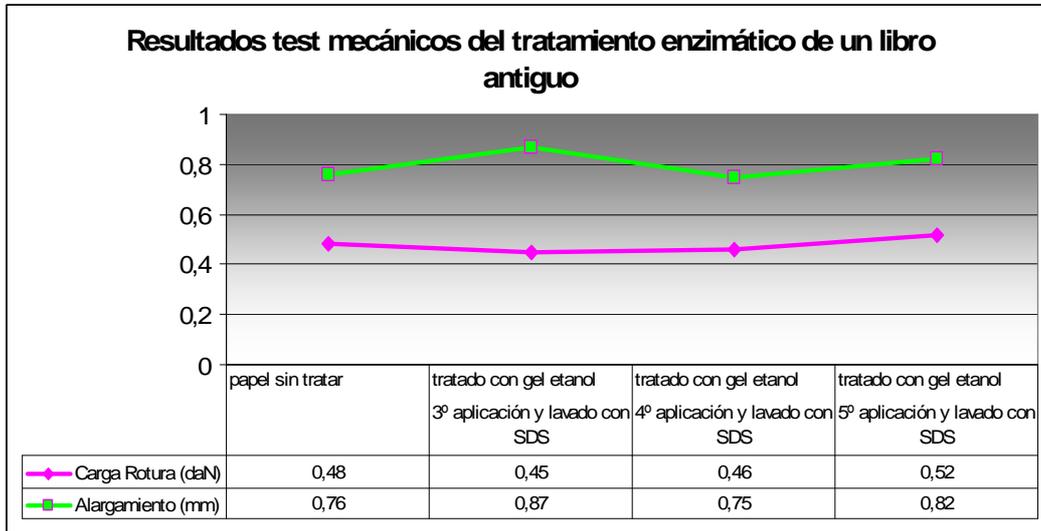


Gráfico 151. Resultados del tratamiento enzimático y lavados con SDS al 2% en H₂O y lavado posterior con agua destilada

- Resultados para el gel de etanol y los lavados con etanol y acetonitrilo en papel absorbente.

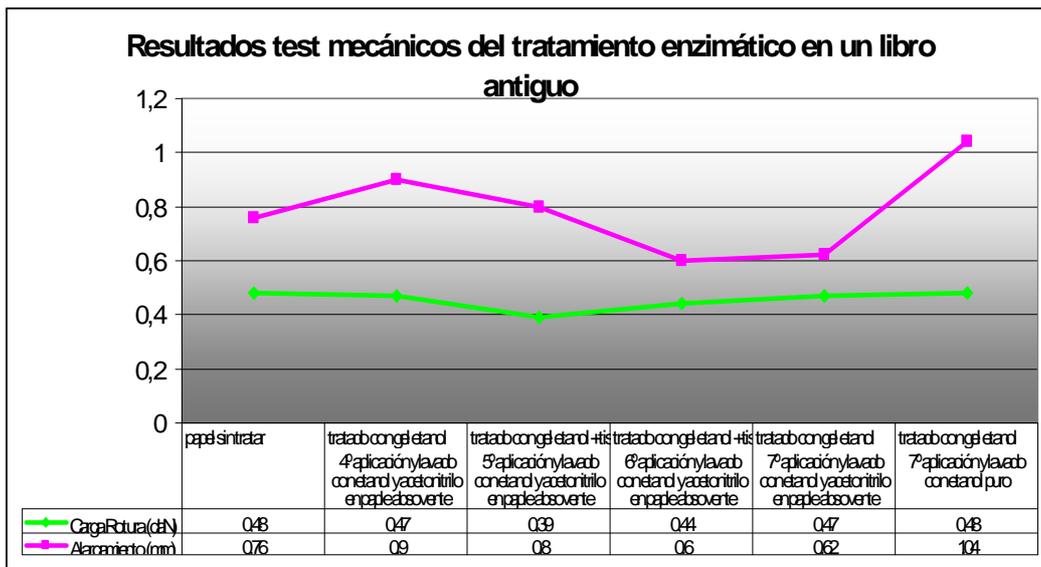


Gráfico 152. Resultados para los papeles tratados con el gel etanol y lavados con etanol y acetonitrilo en papel absorbente.

Conclusiones de estos test mecánicos.

- Tras el primer o segundo empleo del gel, el papel puede ser degradado disminuyendo su resistencia mecánica.
- Se debe efectuar más pruebas de lavados para conocer el mejor método de eliminación de los restos de enzimas.

IV.8 Estado de varios papeles tras un año de tratamiento

Para comprobar el estado y envejecimiento de los papeles tratados enzimáticamente un año antes, fue necesario guardar durante este tiempo algunas muestras y realizar posteriormente varias pruebas. Se realizaron tres pruebas en varias muestras seleccionadas: Espectrometría de absorción infrarroja (FTIR), fotografías con el microscopio electrónico de barrido y espectrofotometrías de absorción.

IV.8.1 Resultados de la Espectrometría de absorción IR (FTIR)

La máquina empleada en el INIA de Madrid para realizar las espectrometrías de absorción IR (FTIR), fue una Jasco FTIR-460 Plus a una resolución de 1cm^{-1} y con un cabezal especial que mide en un solo punto del papel. De esta manera reducimos el tamaño de la muestra a unos milímetros y conseguimos mejores resultados.

Lo que se intentó fue medir el área de grupos $-\text{COC}-$ en infrarrojo que están entre la banda de vibración 1050 y 1160cm^{-1} , en diferentes papeles que habían sido consolidados por el gel un año antes de las medidas.

- **Lápices de colores**

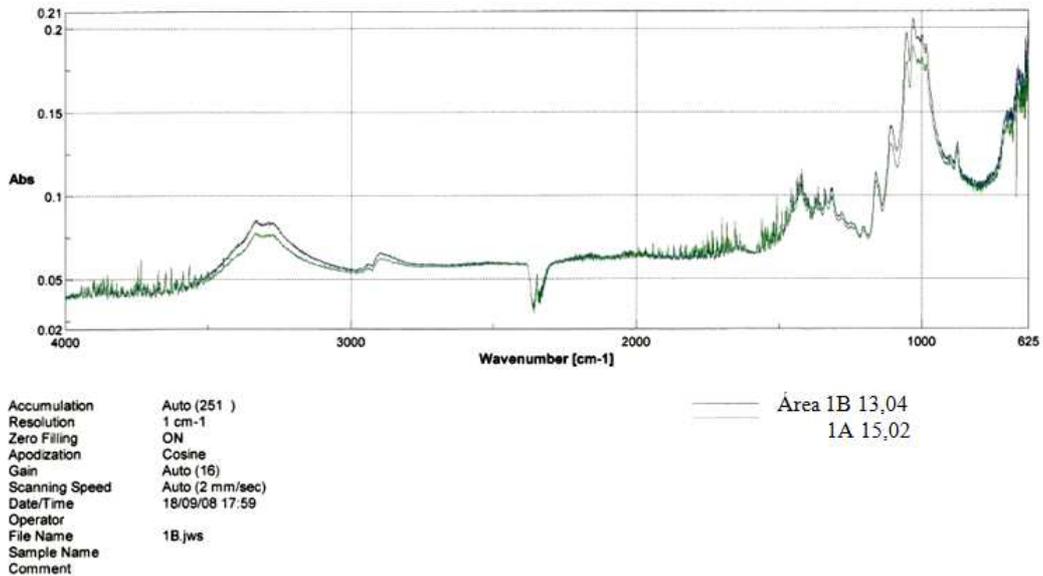


Figura 145. Espectrometría de absorción infrarrojo (FTIR). En este gráfico se ha medido el área de grupos -COC- y se ve que el área medida del papel tratado (15,02) es superior que el no tratado (13,04). Esto quiere decir que el papel ha sido reparado y que después de un año no se ha deteriorado.

- **Tinta china:**

La muestra seleccionada número 14, obtuvo el siguiente espectro:

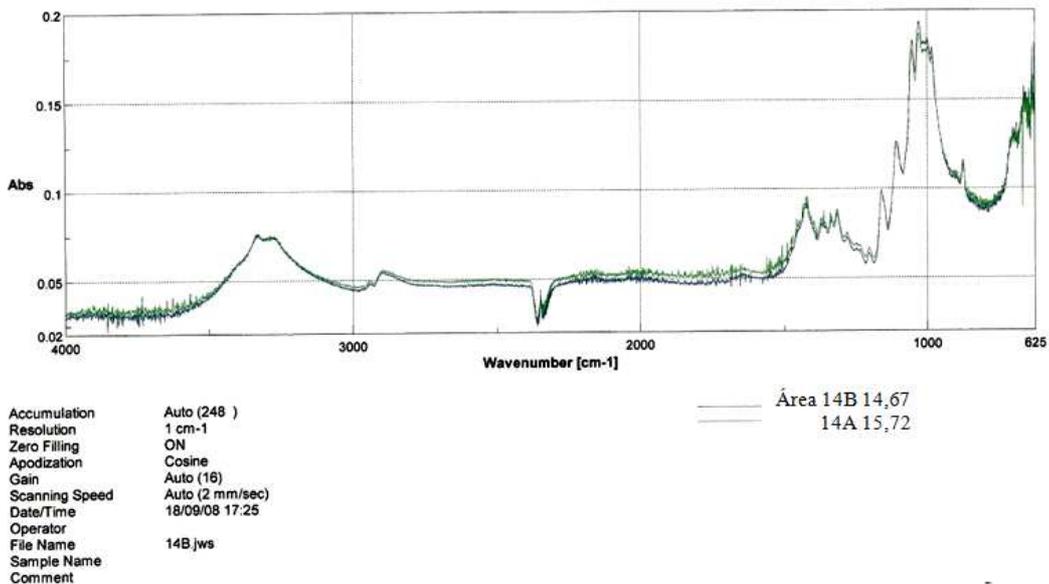


Figura 146. Espectrometría de absorción infrarrojo (FTIR). En este gráfico se ha medido el área de grupos -COC- y se ve que el área medida del papel tratado (15,72) es superior que el no tratado (14,67). Esto quiere decir que el papel ha sido reparado y que después de un año no se ha deteriorado.

- **Témpera o guache:**

La muestra seleccionada es la número 20.

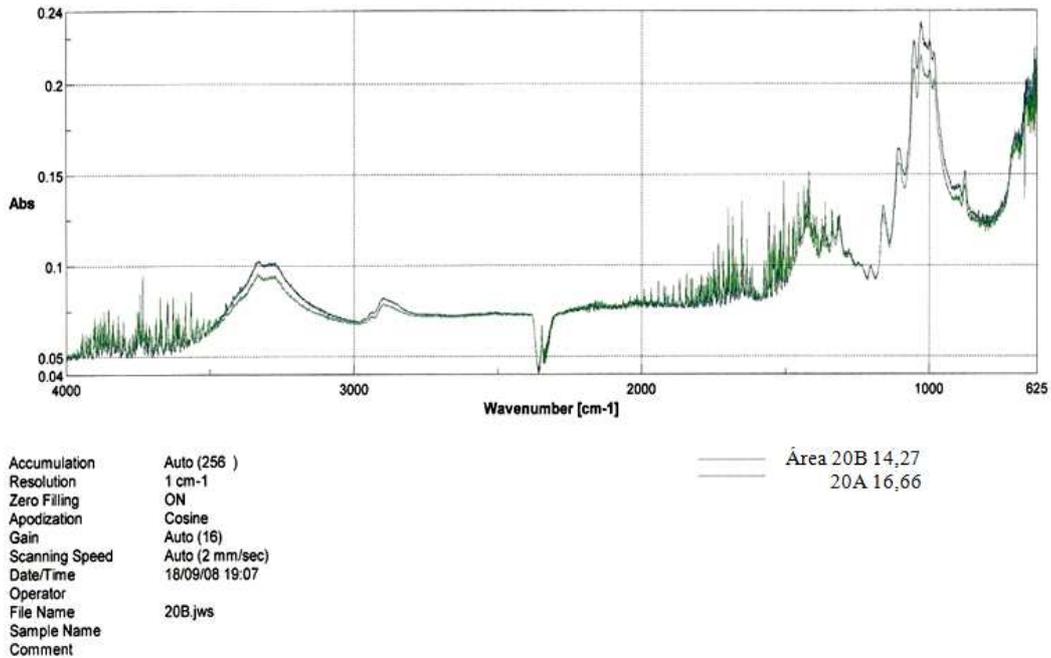


Figura 147. Espectrometría de absorción infrarrojo (FTIR). En este gráfico se ha medido el área de grupos -COC- y se ve que el área medida del papel tratado (16,66) es superior que el no tratado (14,27). Esto quiere decir que el papel ha sido reparado y que después de un año no se ha deteriorado.

- **Carboncillo:**

Se volvió a repetir la espectroscopia en el dibujo 36 y el resultado fue el siguiente:

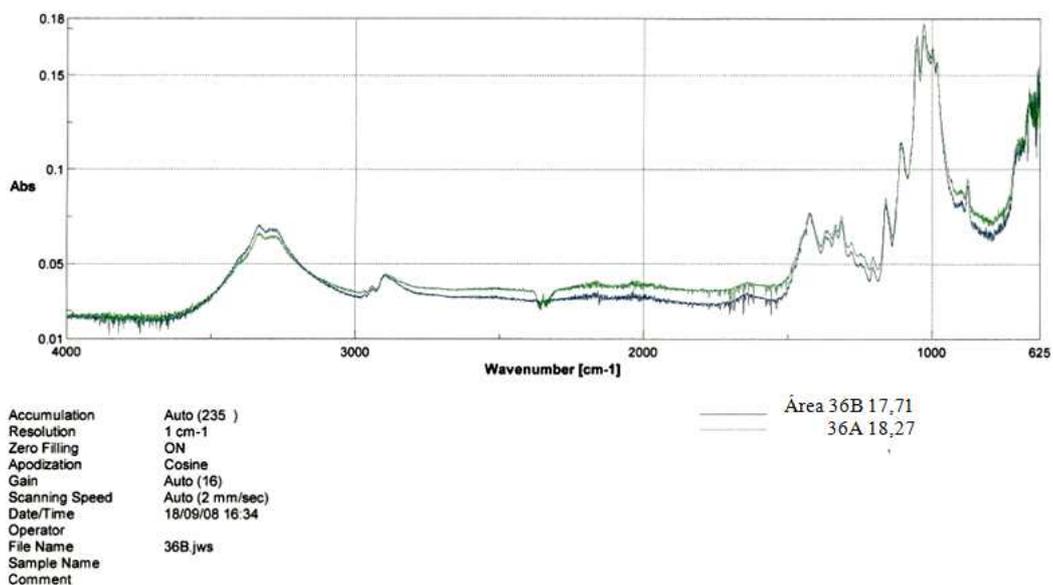


Figura 148. Espectrometría de absorción infrarrojo (FTIR). Se volvió a medir el área de grupos -COC- y en papel tratado se obtuvo(18,27) que es superior al no tratado (17,71).

- **Libro antiguo:**

Para espectrometría del libro, se escogieron la muestra 46 (papel de referencia sin tratar) y la 3 (papel tratado con gel etanol). Y los resultados con los siguientes:

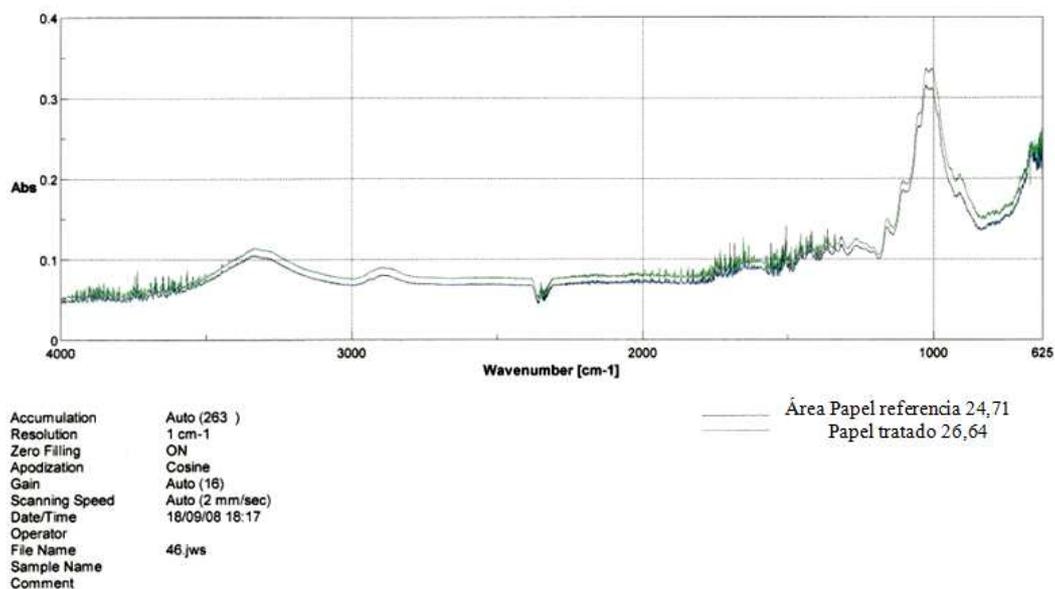


Figura 149. Espectrometría de absorción infrarrojo (FTIR). En este gráfico se ha medido el área de grupos -COC del papel tratado con el gel de etanol (26,64) que es superior al papel de referencia (24,71). Esto quiere decir que el papel ha sido reparado y que después de un año no se ha deteriorado.

- **Discusión:**

Las áreas medidas en la zona -COC- de los papeles tratados con los geles enzimáticos son superiores a las áreas de los papeles no tratados. Se confirma que los papeles fueron reparados y reforzados un año antes y que después de ese tiempo, el papel consolidado no ha sufrido un envejecimiento superior al no tratado.

IV.8.2 Resultados SEM de los mismos papeles

Los espectros obtenidos en las pruebas con la espectrometría de absorción Infrarroja (FTIR) habían revelado que químicamente, el papel tratado seguía estable y reforzado. De todos modos, se opta por ver físicamente las fibras de los mismos papeles tratados y no, un año después del tratamiento. Por lo tanto se sacan fotos con el microscopio electrónico de barrido (SEM o MEB) de una muestra de un dibujo de lápices de colores, de tinta china, de témpera, de carboncillo y de un libro antiguo, un año después de haber sido tratados.

- **Lápices de colores:**

Estas primeras fotos del microscopio electrónico de barrido SEM, son del papel con la técnica pictórica de los lápices de colores con el numero de muestra 1.

Se clasifican a la izquierda todas las fotografías del papel sin tratar con el gel enzimático y a la derecha, todas las fotografías con el papel tratado con el gel enzimático de acetonitrilo con tejido Reemay.

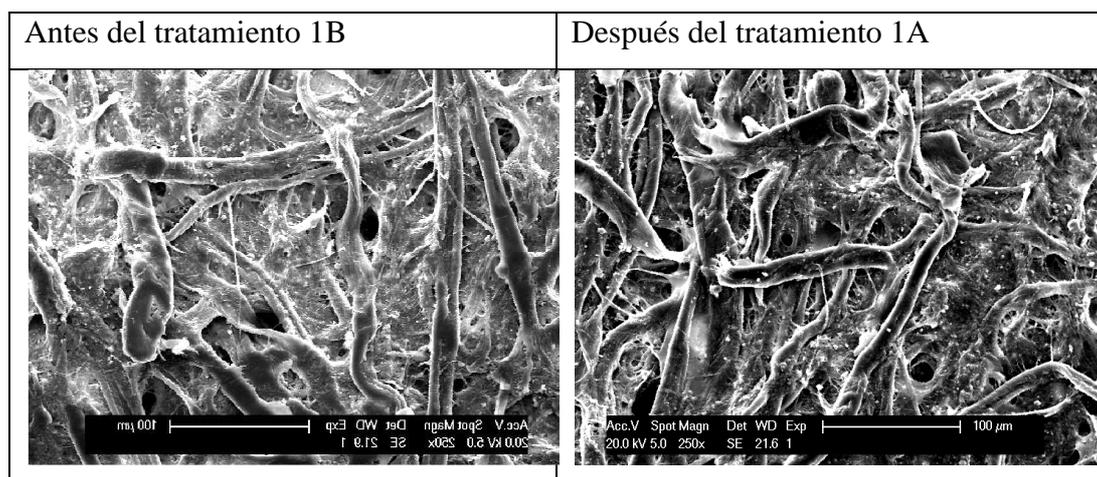


Figura 150 y 151. Fotografías MEB/SEM vista general del papel tratado y sin tratar.

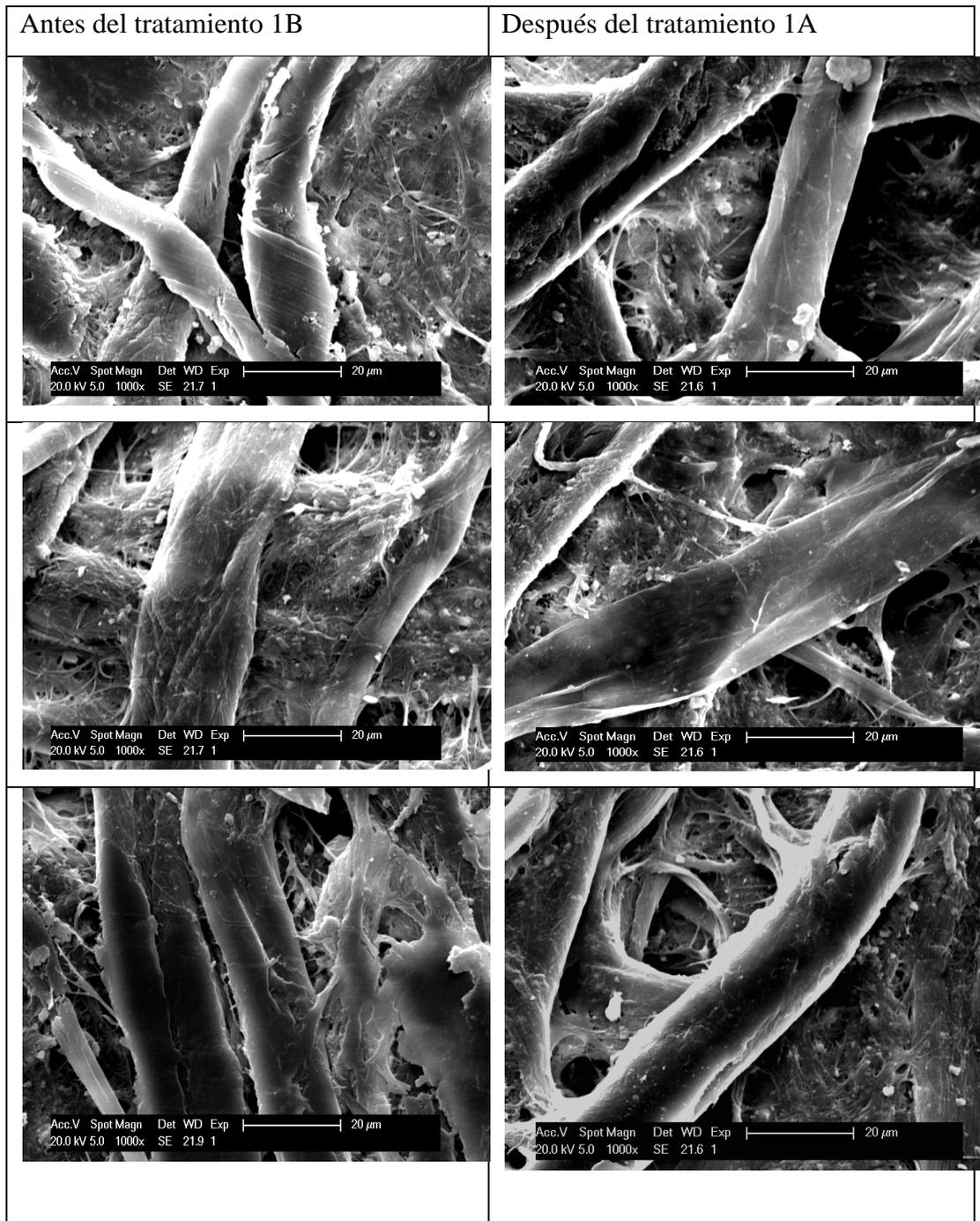


Figura 152, 154 y 156 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 153, 155, 157 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

Veamos con más detenimiento una fibra sin tratar y otra tratada.

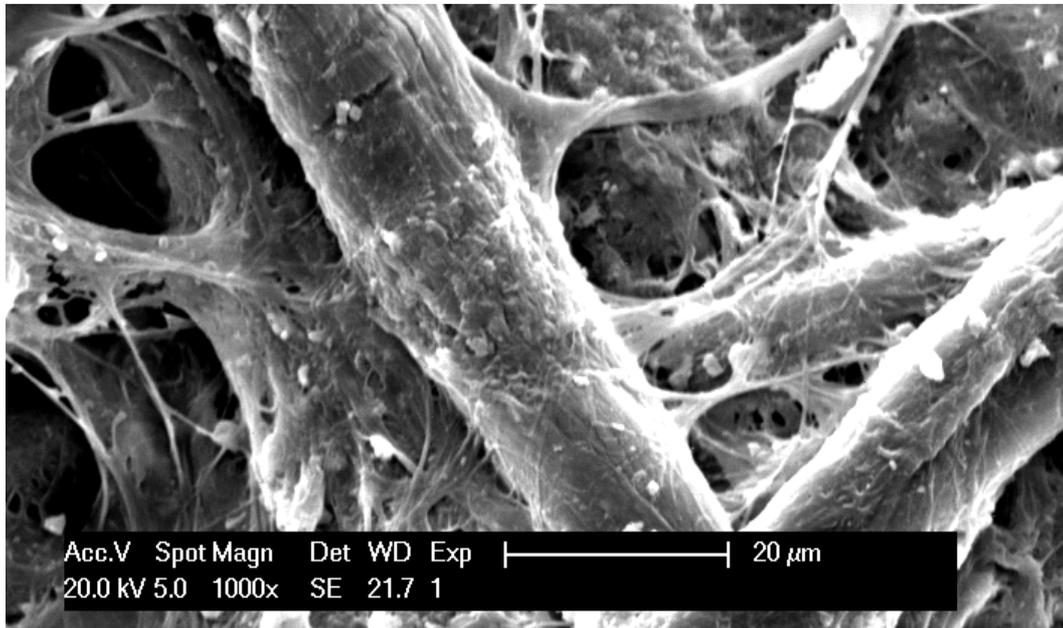


Figura 158. Fibra sin tratar. Aparece bastante sucia y cuarteada.

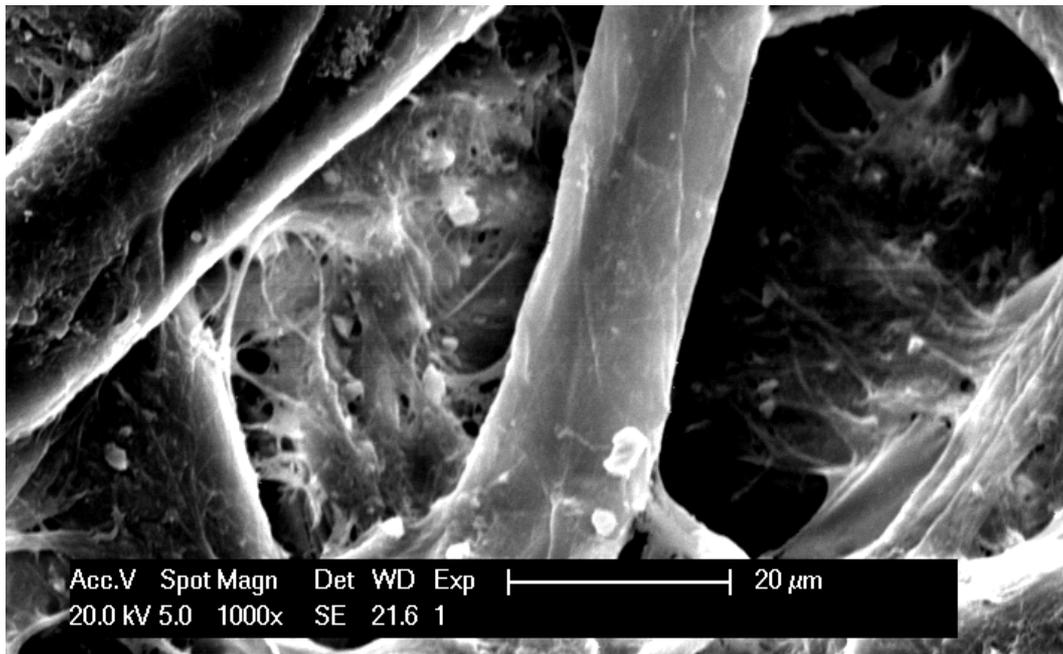


Figura 159. Aspecto físico de una fibra tratada con el gel enzimático un año después del tratamiento.

- **Tinta china:**

Las siguientes fotografías del microscopio electrónico de barrido son del papel con tinta china con el numero de muestra 14. Y los resultados del gel acetónitrilo sin Reemay a la derecha y sin tratar a la izquierda son los siguientes:

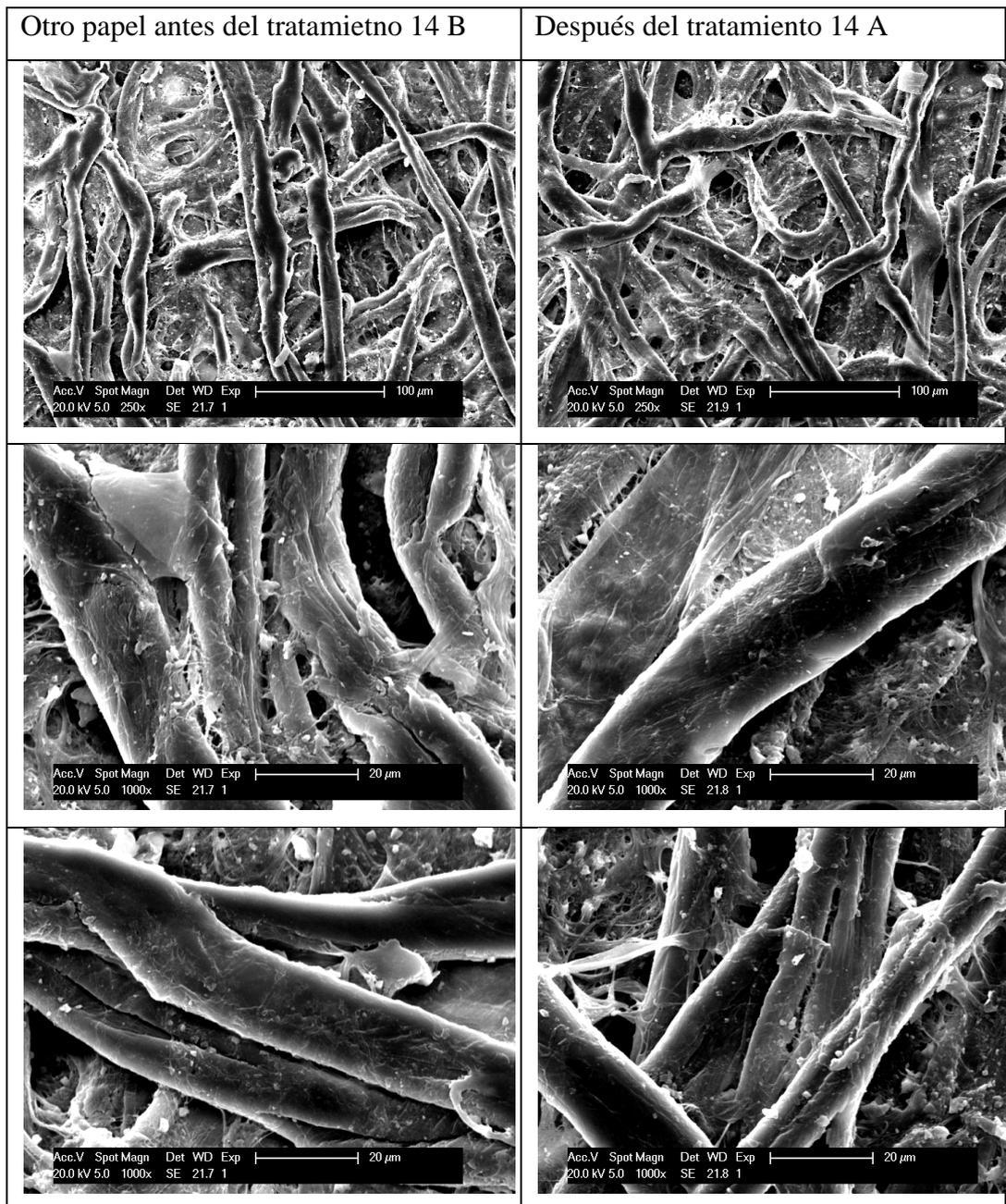


Figura 160, 162 y 164 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 161, 163, 165 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

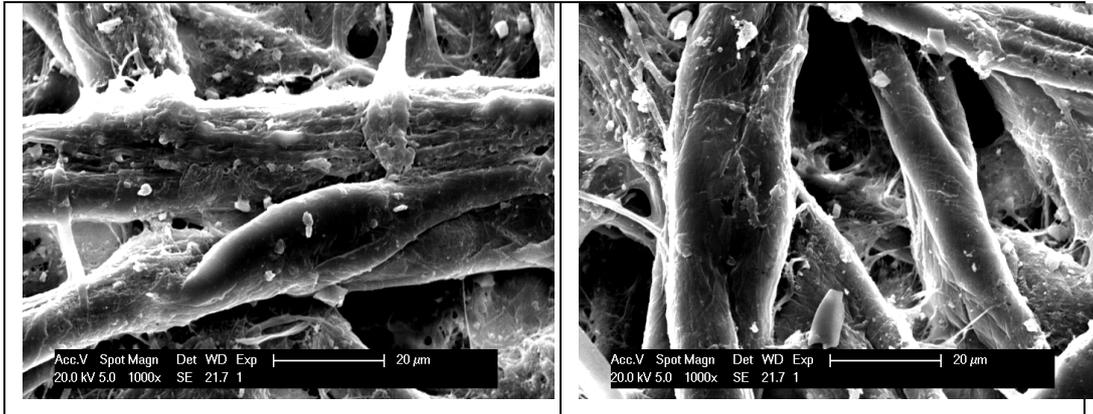


Figura 166 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 167 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

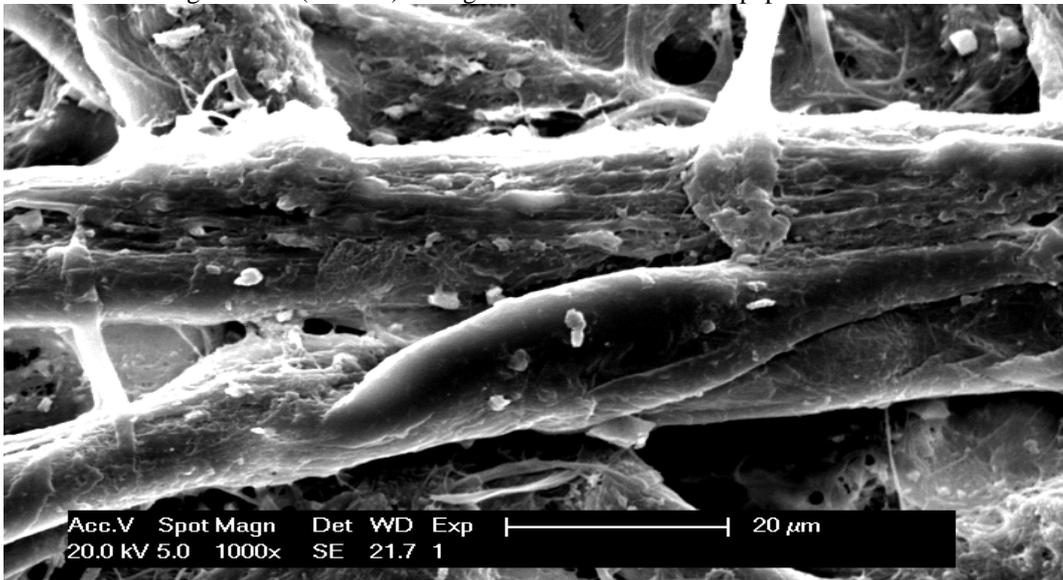


Figura 168. Fibra no tratada de algodón. Obsérvese la suciedad y estado de las fibras.

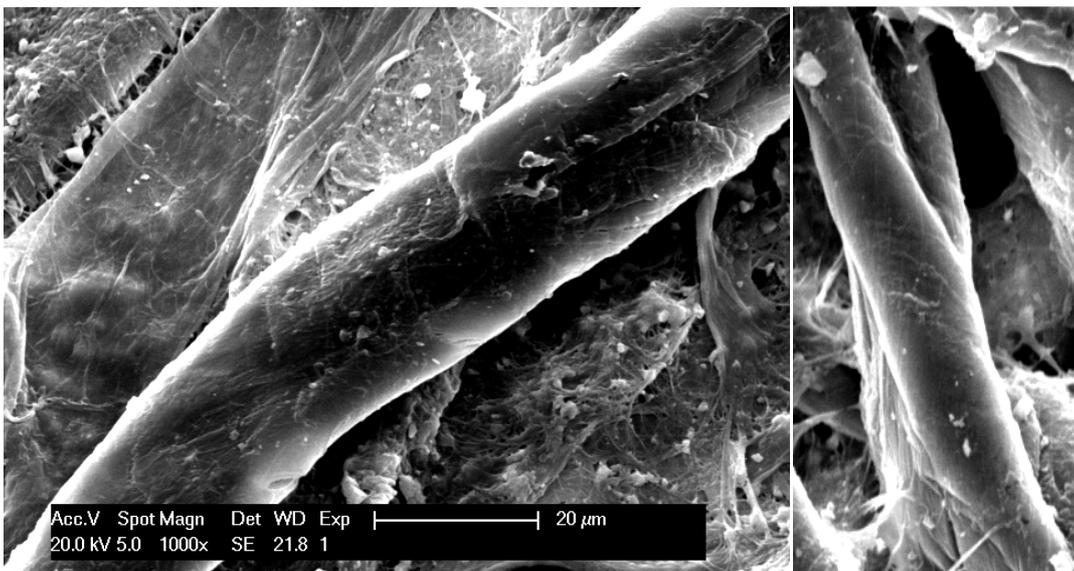


Figura 169 y Figura 170. Fibras tratadas con el gel acetonitrilo sin reemay.

- **Témpera**

La muestra de témpera o guache escogida, es la número 20.

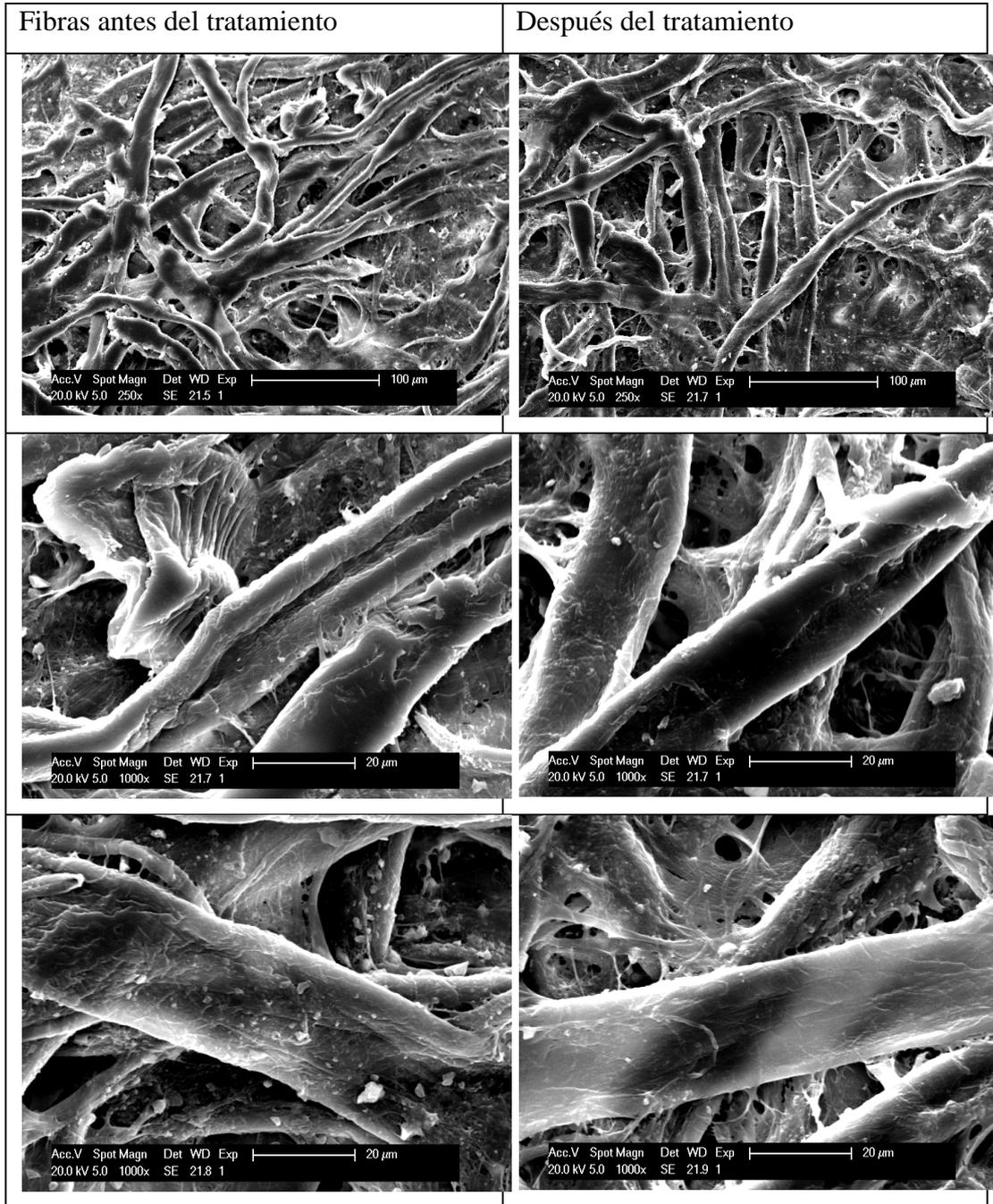


Figura 171, 173 y 175 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 172, 174, 176 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

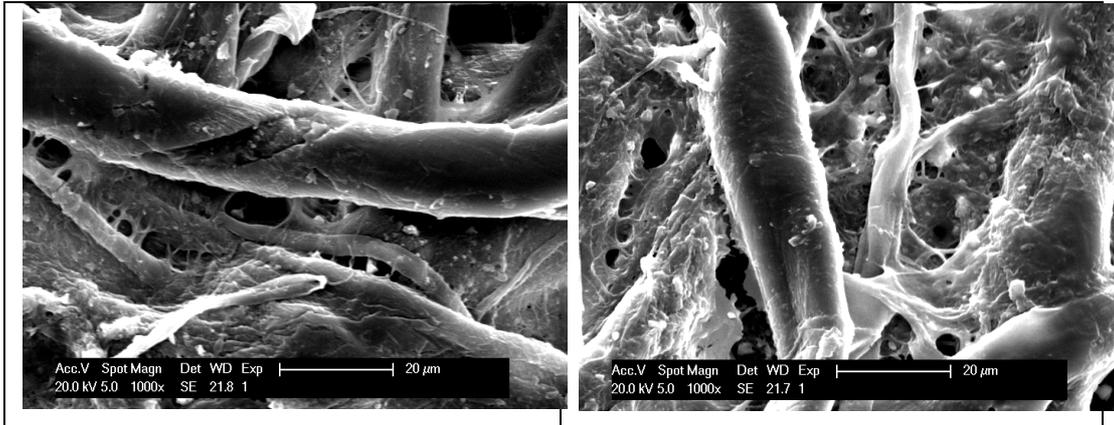


Figura 177 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 178 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

Veamos más de cerca las fibras tratadas y no.

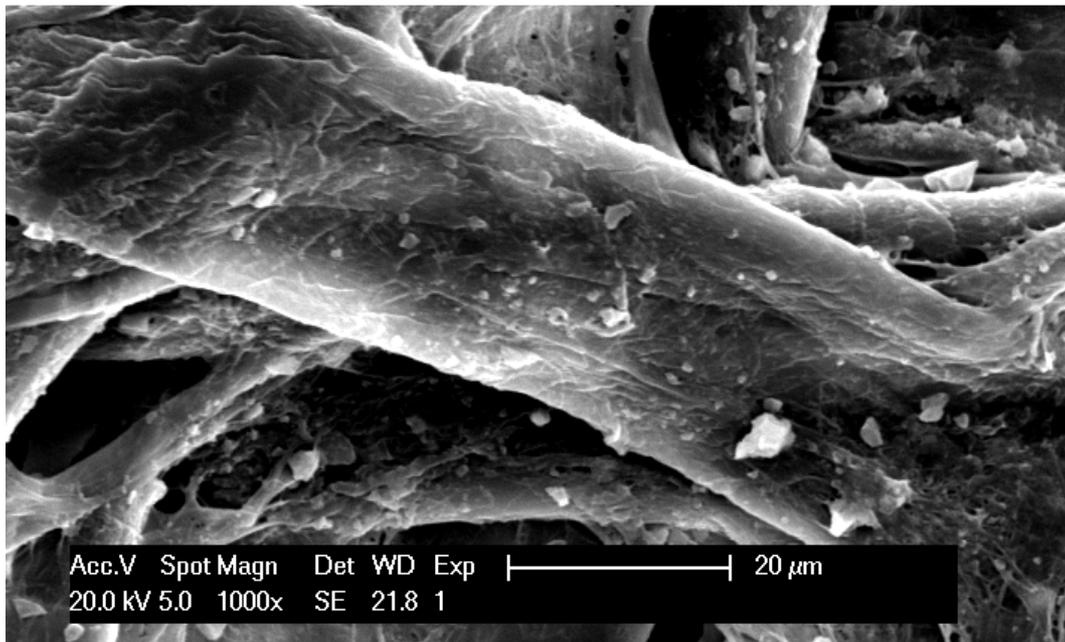


Figura 179. Fibra de algodón sin tratar

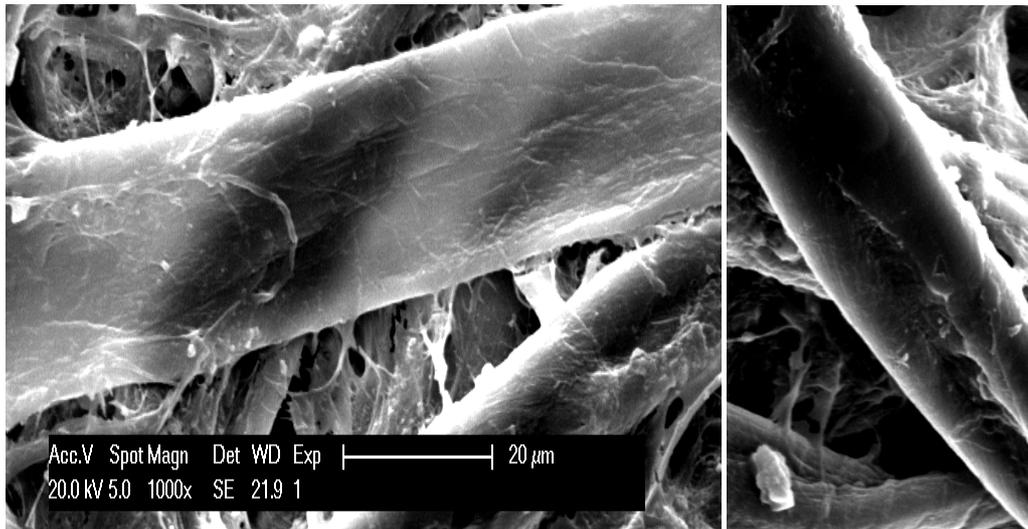


Figura 180 y Figura 181. Fibras tratadas con el gel acetonitrilo con Reemay.

- **Carboncillo:**

Las siguientes fotografías SEM, son de un papel de algodón Fabriano pintado con carboncillo (número 36B) y el papel después del tratamiento enzimático.

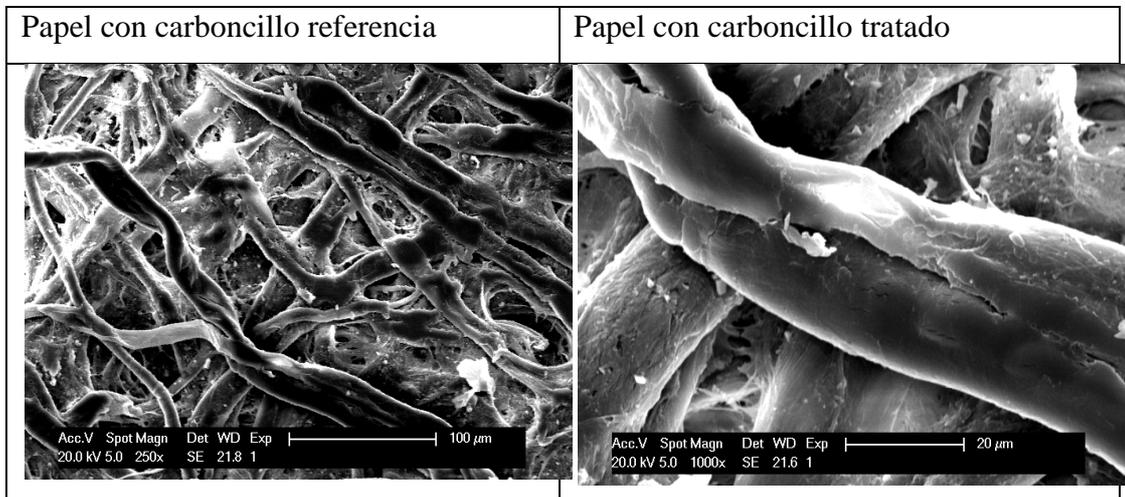


Figura 182 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 183 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

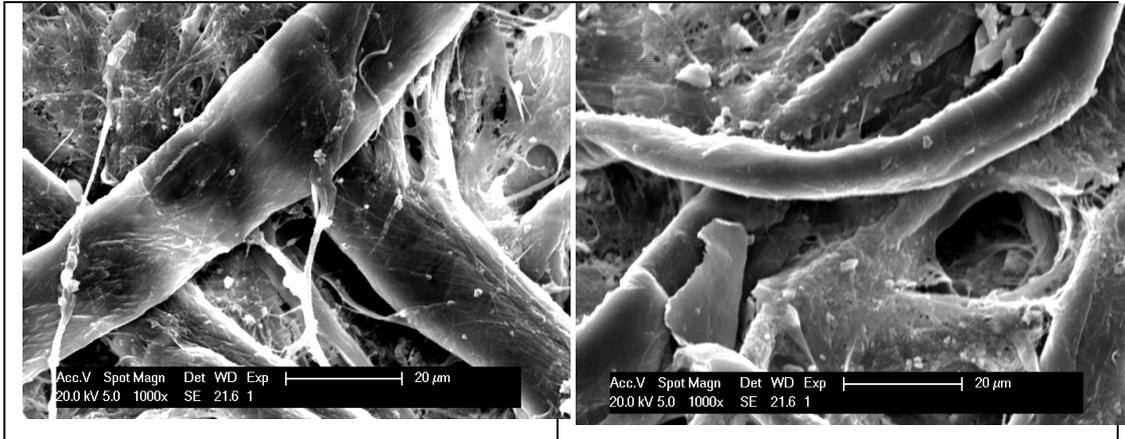


Figura 184 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.

Figura 185 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

Las fibras de este dibujo no parecen tan diferentes como las anteriores. De todos modos si observamos bien, las fibras no tratadas presentan un ligero peor aspecto que las tratadas.

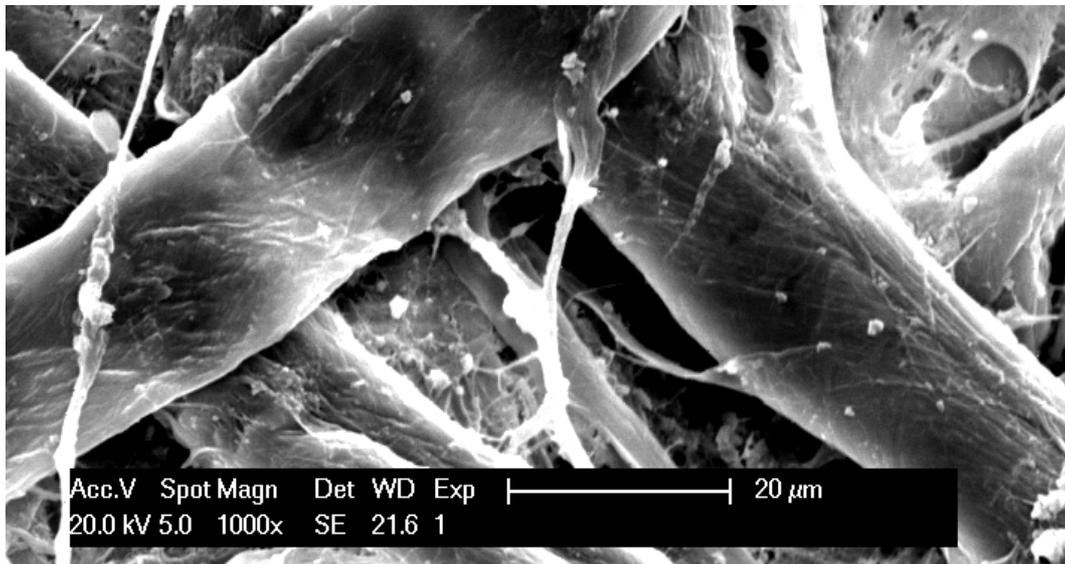


Figura 186. Fibras no tratadas de un dibujo de carboncillo.

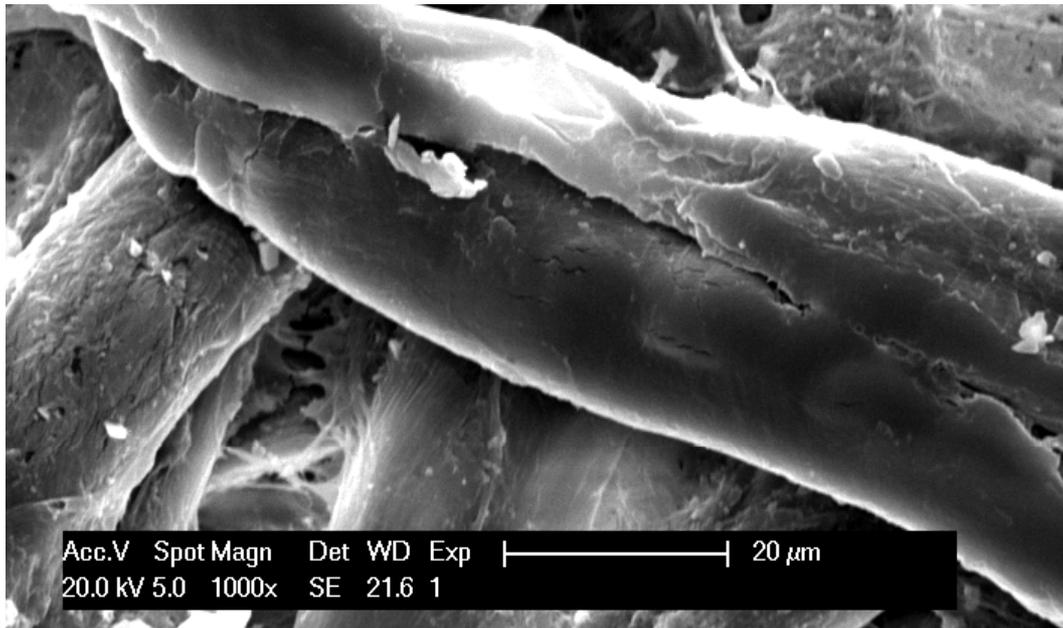


Figura 187. Fibra tratada con el gel de etanol.

La fibra tratada posee una superficie mucho más lisa que la fibra de referencia. No obstante, la fibra que aparece en segundo plano, no parece haber sido consolidada.

- **Libro de los años cincuenta:**

Las muestras escogidas son la de referencia (no tratada), número 46 y la tratada con un gel de etanol con Reemay y con el número 3.

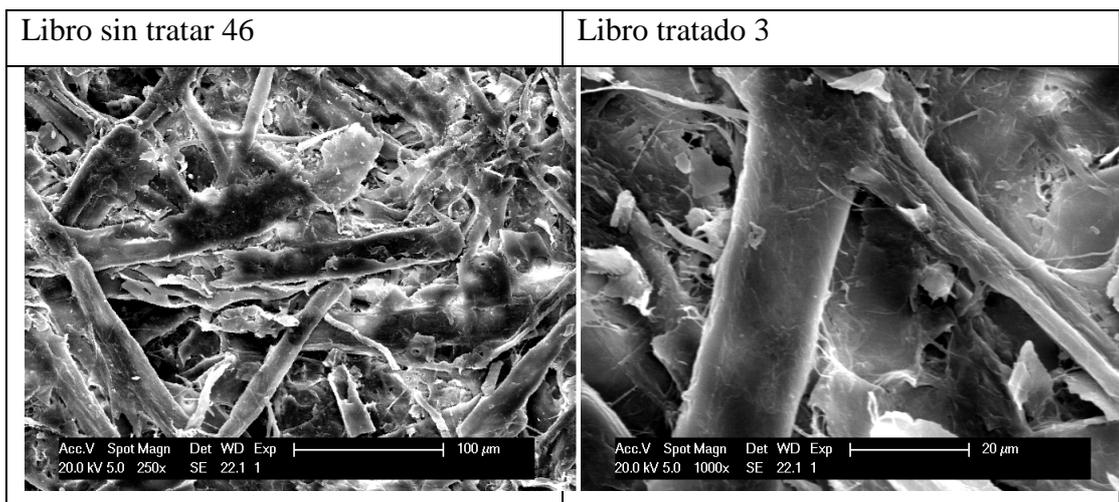
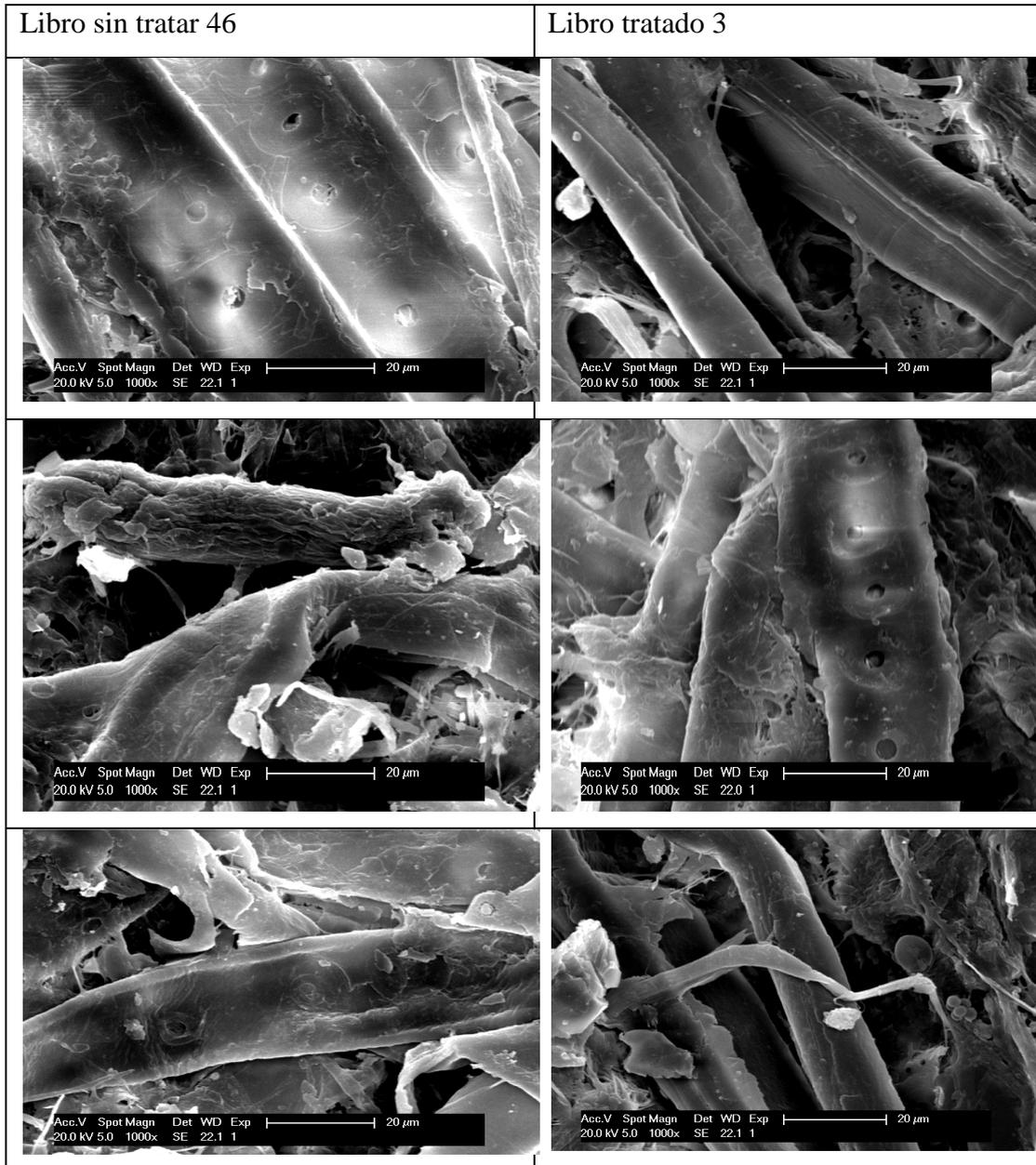


Figura 188 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.

Figura 189 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.



Figuras 190, 192 y 194 (izquierda). Fotografías MEB/SEM de los papeles no tratados.
Figuras 191, 193 y 195 (derecha). Fotografías MEB/SEM de los papeles tratados.

A simple vista no parecen muy diferentes las fibras del libro tratado y sin tratar. Por esta razón se exponen unas fotografías de más detalle. Las tres siguientes fotografías son de fibras sin tratar.

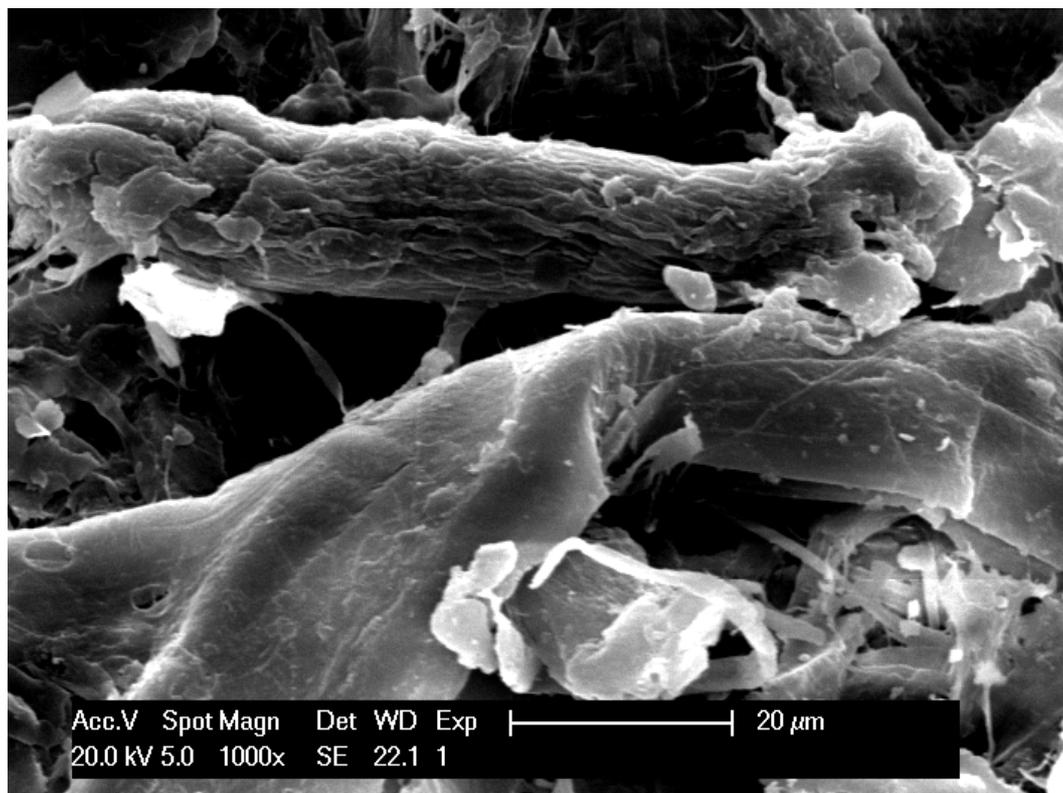


Figura 196. Fibras no tratadas enzimáticamente del libro antiguo.

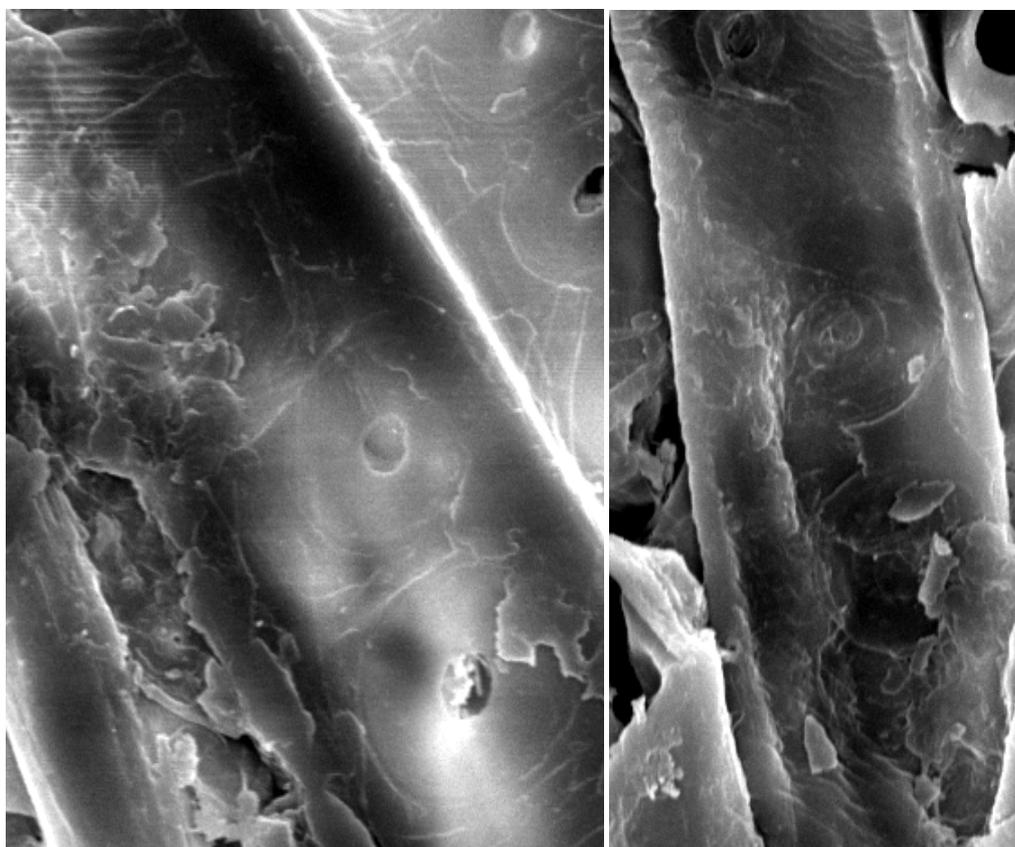


Figura 197 (Izq.) y figura 198 (Dcha.) fibras no tratadas del libro antiguo.

- Fibras tratadas con el gel etanol en las hojas del libro

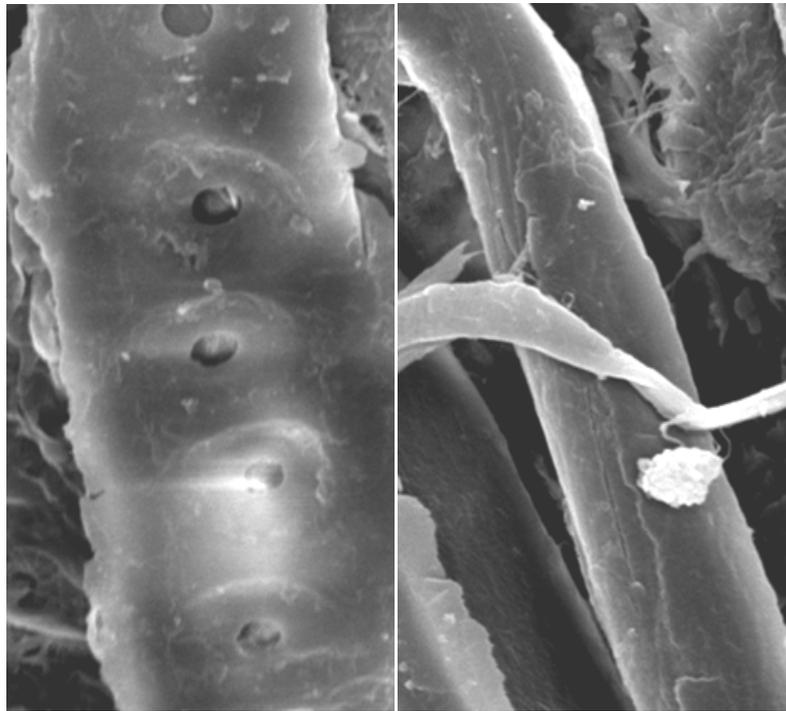


Figura 199 (Izq.) y Figura 200 (Dcha.) Detalle de unas fibras tratadas con el gel etanol.

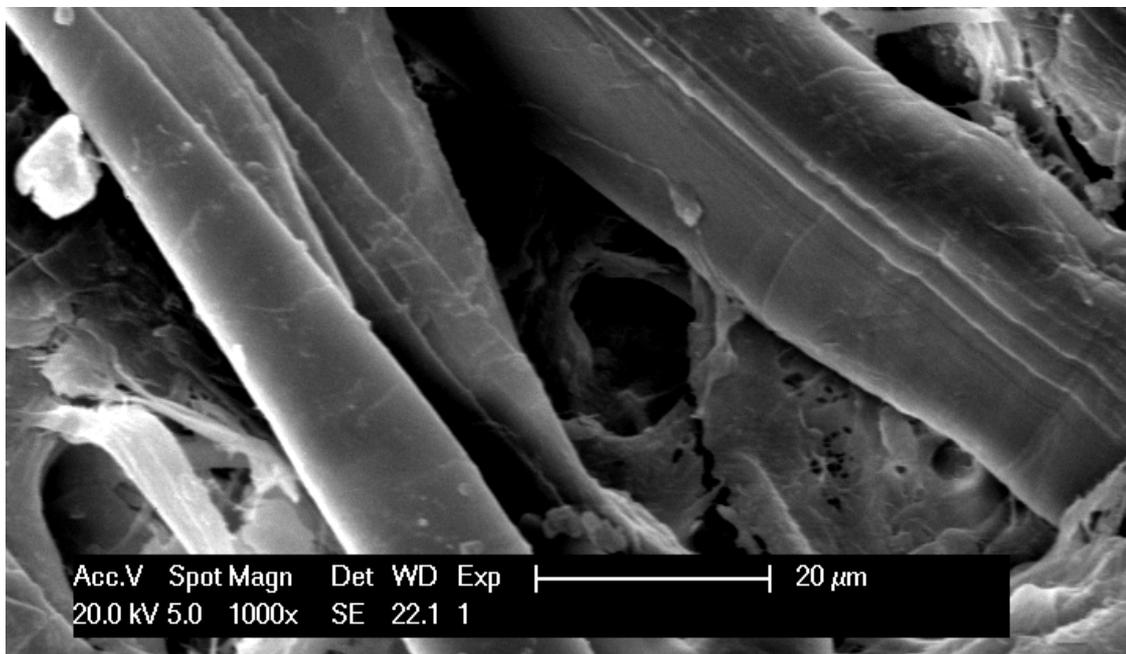


Figura 201. Detalle de las fibras tratadas con el gel enzimático del libro

IV.8.3 Resultados del espectrofotometro de reflectancia

A continuación, se exponen los resultados del espectrofotómetro de reflectancia, de los papeles tratados un año antes. Se recuerda que si el factor de reflectancia aumenta (blancura), el papel mejora su aspecto y el gel ha funcionado.

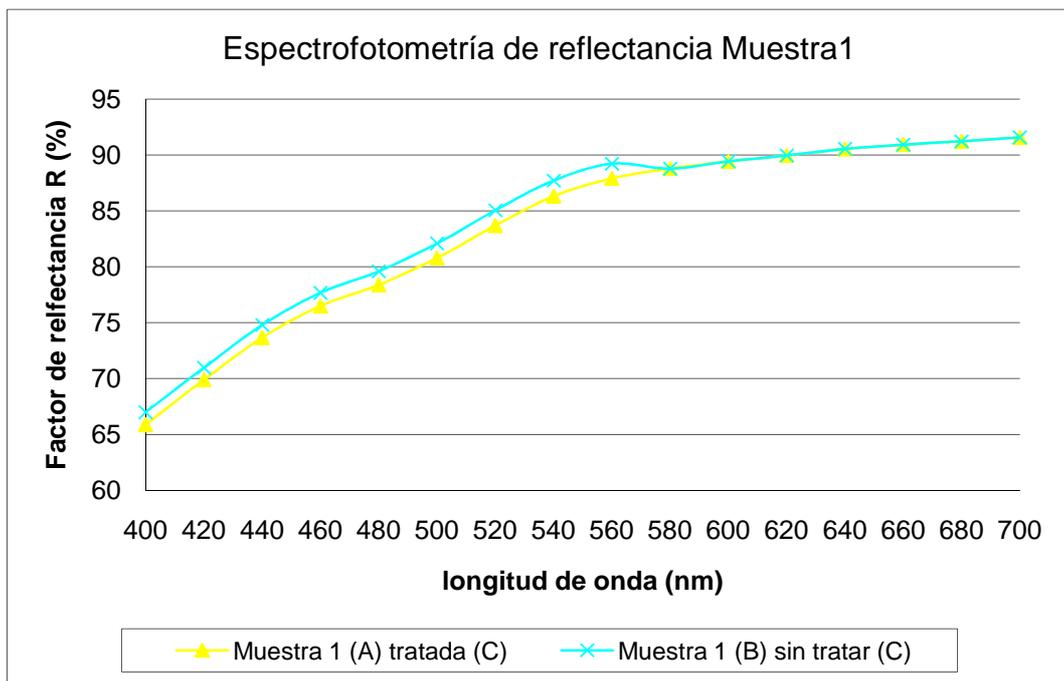


Gráfico 153. Espectrofotometría de reflectancia. En este primer gráfico se ve una disminución del factor de reflectancia R(%). Esto puede ser debido a una limpieza excesiva en el momento de la inhibición de las enzimas.

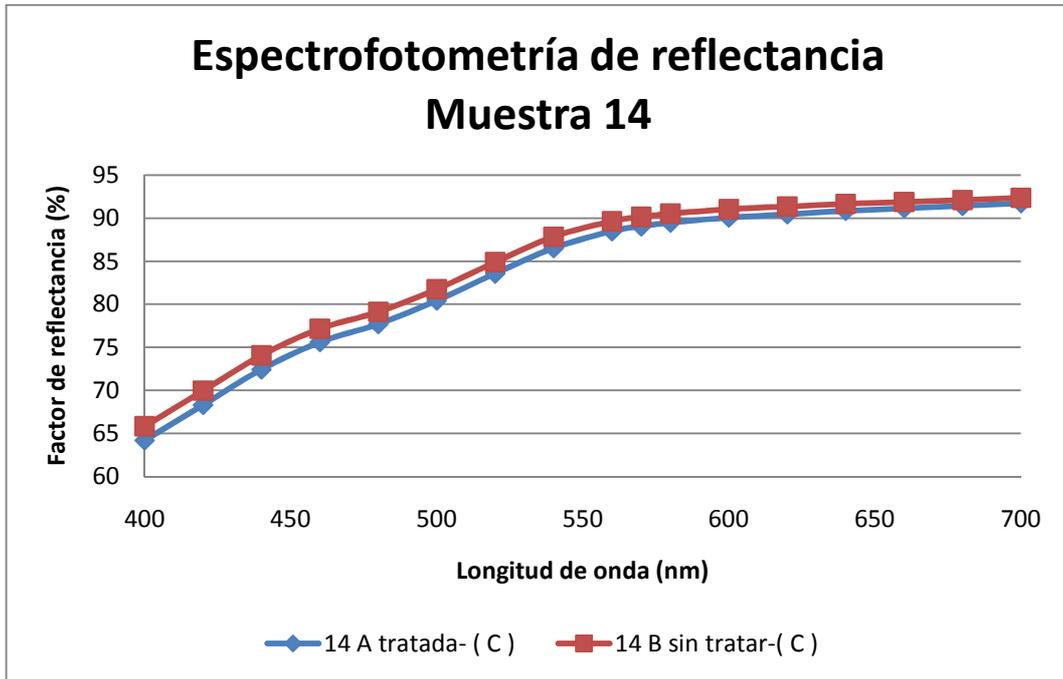


Gráfico 154. Espectrofotometría de reflectancia. Esta disminución de reflectancia de sólo un 1% aproximadamente, puede ser debido a una limpieza excesiva en el momento de la inhibición de las enzimas.

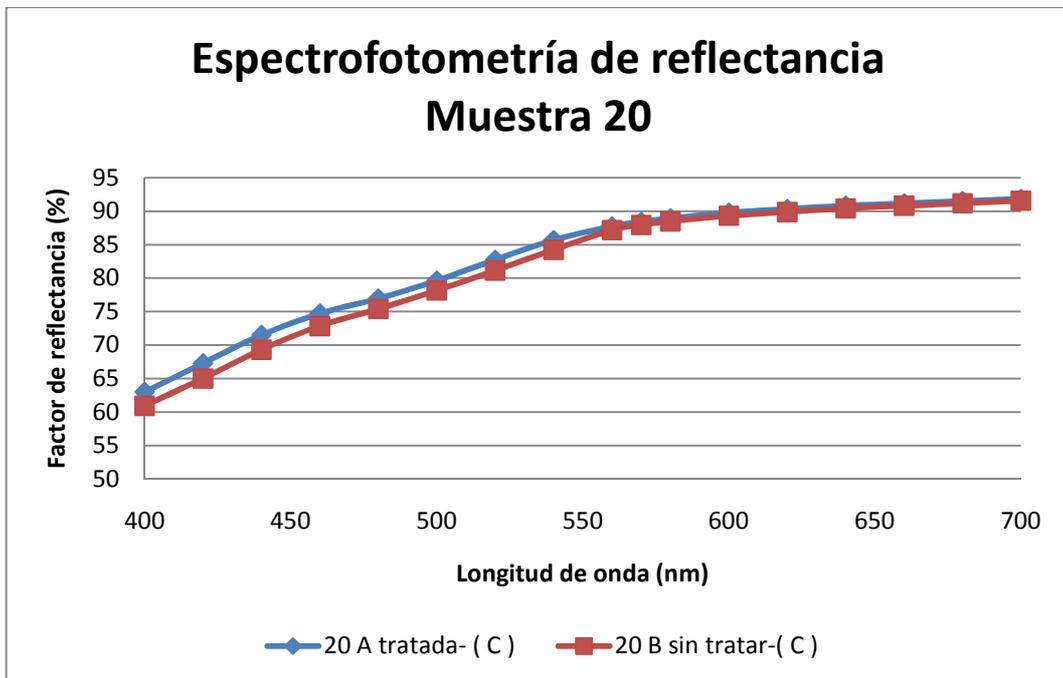


Gráfico 155. Espectrofotometría de reflectancia. En este gráfico se ve un aumento del factor de reflectancia R(%), lo que demuestra que existe una mejora del aspecto, por lo que la consolidación y mejora del papel es completa.

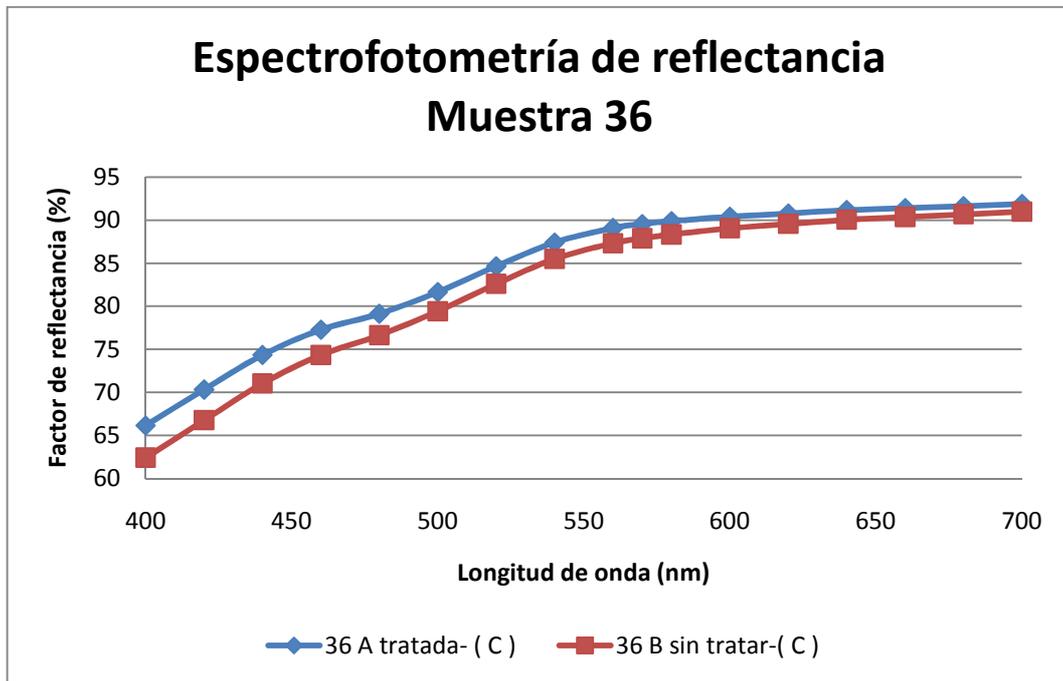


Gráfico 156. Espectrofotometría de reflectancia. En este gráfico se ve un claro aumento del factor de reflectancia R(%). Esto quiere decir que hay una mejora del aspecto y que el papel ha sido consolidado.

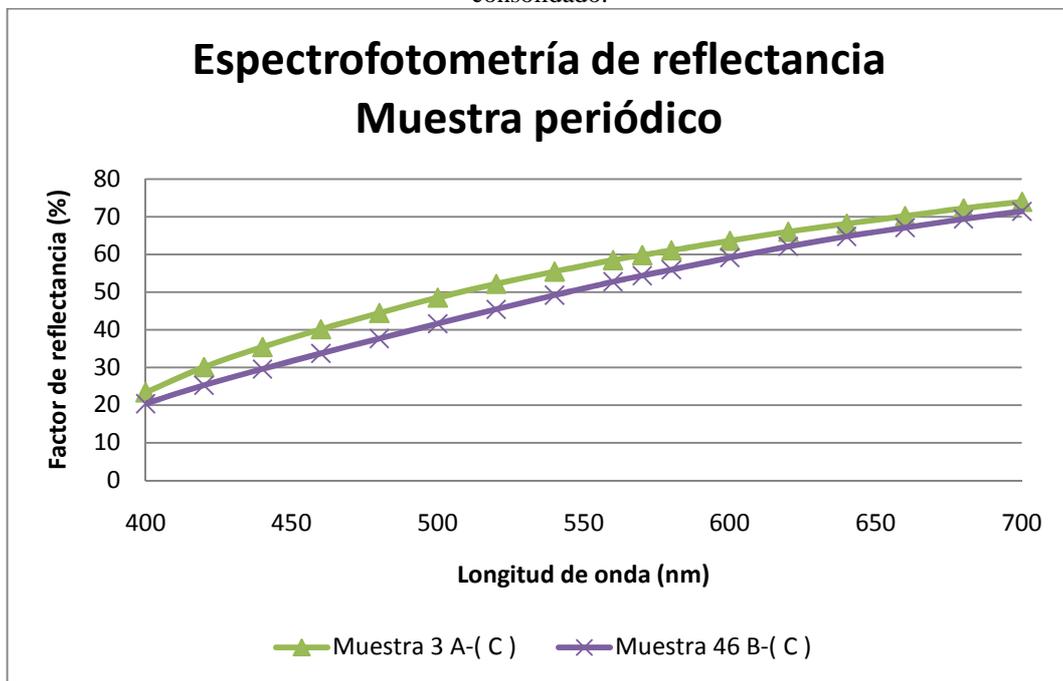


Gráfico 157. Espectrofotometría de reflectancia. En este gráfico se ve un aumento de un 5% (+/-) del factor de reflectancia R(%), lo que demuestra otra vez que el gel mejora el aspecto del papel.

Los espectros de las muestras tratadas mejoran después del tratamiento y además no se ven alterado después del tiempo. Por lo que observamos, transcurrido un año, el papel no amarillea, ni se deteriora.

IV.9 Búsqueda del mejor lavado. Lavados con D-cellobiose

El gel funcionaba bien en papeles de fotocopiar y sin embargo, con papeles de fibras de algodón y con técnicas pictóricas, la consolidación no se producía correctamente.

Existían varias teorías sobre las causas. Una era un envejecimiento incorrecto de los nuevos papeles, otra, que el gel no funcionaba con los papeles de algodón y la última, que los lavados eran incorrectos y se necesitaba encontrar el método más correcto e inócuo para la obra y el restaurador. Por este último motivo, se planteó el uso de D-cellobiose para inhibir las celulasas en los lavados.

A continuación se describe la preparación de las probetas y el gel enzimático con el lavado y los resultados de las diferentes test.

IV.9.1 Preparación de las probetas

Para la preparación de los fragmentos de papel se efectuó un envejecimiento acelerado durante más horas en la cámara de envejecimiento acelerado de Leioa. Se sabía que la máquina no estaba envejeciendo correctamente los papeles. No obstante, no se disponía de otro método de envejecimiento, por lo que se aumentaron el número de horas de exposición UVA y se aumentaron las horas dentro del horno hasta 24 horas, a una temperatura de 105°C según la norma UNE 57092-1:2002 Papel y cartón.

Se realizaron 5 envejecimientos con los rayos UVA:

- 169hUVA
- 312hUVA
- 334hUVA
- 503hUVA
- 674hUVA

Por otro lado, experimentalmente, se expuso un papel durante 10 semanas al sol, al que también se introdujo después en el horno durante 24 horas.

Los papeles tratados fueron cortados como en pruebas anteriores.

Las hojas de +/-38x20cm, se cortaron en dos partes para tratar una parte con el gel enzimático y la otra dejar de referencia. De esta manera, se podían comparar las hojas tratadas con el gel con las no tratadas en los test mecánicos y en la espectrofotometría.

El numero de muestras lavadas con este nuevo inhibidor D-cellobiose fue de 32 que se exponen a continuación:

- **Blancos:**

Nº7 Blanco 22h horno +674 h UVA,

Nº 8 envejecimiento de 674 h + 24 h horno

Nº 9 envejecimiento de 674h UVA + 24h horno

Nº 10 envejecimiento de 674 h + 24 h horno

Nº 11 envejecimiento de 674 h + 24 h horno

Nº 18 envejecimiento de 312 h + 24 h horno

Nº 19 envejecimiento de 312 h + 24 h horno

Nº20 envejecimiento de 312h + 24h horno

Nº 21 envejecimiento de 312 horas + 24 h horno

Nº22 envejecimiento de 312h + 24h horno

Nº 23 envejecimiento de 334 horas + 24 h horno

Nº 24 envejecimiento de 334 horas +99j+ 24 h horno

Nº 26 envejecimiento de 503 horas + 24 h horno

Nº27 envejecimiento de 503h +99j + 24h horno

Nº 29 envejecimiento de 334 horas+99j + 24 h horno

Nº 31 envejecimiento de 334 horas +99j + 24 h horno

- **Papeles de libro:**

Los papeles con los números 25, 28 y 30 corresponden a las hojas del libro antiguo tratadas con los geles enzimáticos.

- **Papeles con técnicas pictóricas:**

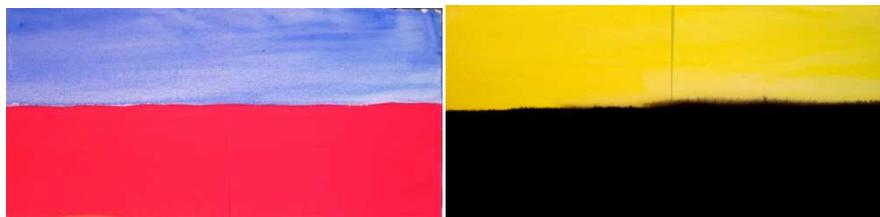


Figura 202 y 203. Fotografías de dos ejemplos de papeles con tempera.

Nº1 Tempera color azul y magenta, 10 semanas al sol+ 24 h horno.

Nº 2 Tempera color negro y amarillo, 10 semanas al sol + 24 h horno.

Nº3 Tempera color azul y magenta, 10 semanas al sol + 24 h horno.

Nº4 Tempera color negro y amarillo, 10 semanas al sol + 24 h horno.

Nº5 Tempera color negro y amarillo, 10 semanas al sol + 24 h horno.

Nº6 Tempera color negro y amarillo, 10 semanas al sol + 24 h horno.

Nº 12 Acrílico negro y magenta, 169h UVA + 24h horno.

Nº 13 Acrílico amarillo y azul, 169h UVA+ 24 h horno

Nº 14 Acrílico amarillo y azul, 169h UVA+ 24 h horno

Nº 15 Acrílico amarillo y azul, 169 UVA+ 24 h horno

Nº 16 Acrílico negro y magenta, 169 UVA+ 24 h horno

Nº 17 Acrílico negro y magenta, 169 UVA+ 24 h horno



Figuras 204 y 205. Fotografías de dos ejemplos de papeles con acrílico

IV.9.2 Preparación del gel enzimático

La preparación del gel es similar a las anteriores. Es decir, se fabrica por una parte un gel de Agarosio al 1 % en tampón acetato ^[445] y a continuación se añade la solución enzimática compuesta por:

⁴⁴⁵ Tampón acetato: 15,6g de acetato de sodio y 7,46g de cloruro de potasio en 1l de H₂O.

- 18 ml de etanol
- 4,5 Tp Ac pH 5,5
- 1,125 ml celulasa/TpAc ^[446]
- 1,125 ml β -cellobiosyl fluoride.H₂O ^[447]

IV.9.3 Tratamiento de los papeles

El tratamiento consistía en poner en contacto el gel enzimático con el papel envejecido aceleradamente y, después de dos horas, lavar las muestras con una solución de D-cellobiose en una concentración de 10mM ^[448], que teóricamente inhibe la acción hidrolítica de las celulasas.

Se debe anotar que el gel al principio se fabricaba con agarosio y luego se cambió al agar-agar. Estos geles se aplicaron con y sin Reemay®.

El disolvente utilizado fue el etanol, excepto en los últimos geles, en los se sustituyó por acetona.

Por último, se debe mencionar que se realizaron 4 tipos de lavados diferentes:

- Lavado D-cellobiose con una concentración de 10mM en H₂O y 2-3lavados del mismo inhibidor a la misma concentración en papel absorbente.
- 2 lavados de D-cellobiose 10mM en Tampón acetato y otro lavado de D-cellobiose 10mM en H₂O.
- 2 lavados de D-cellobiose 10mM en Tampón.
- Lavado de D-cellobiose 10mM con H₂O y otro lavado con etanol al 1% en H₂O.
- Varios lavados con D-cellobiose 10mM con TpAc y se dejó secar el papel con el inhibidor entre papeles secantes.

- Ficha técnica de cada muestra

El cuadro siguiente muestra los datos de cada papel: técnica, tipo de envejecimiento, gel aplicado, lavados... Los papeles en rojo son los que han sido reforzados.

⁴⁴⁶ Celulasa con una concentración de 5mg/ml: 6,1mg de celulasa y 1,22ml de TpAc.

⁴⁴⁷ 1,125ml.0,1M.344=38,7mg de sustrato

⁴⁴⁸ 100ml de solución D-cellobiose: 342mg en 100ml de H₂O

N° Papel	Técnica pictórica	Envejecimiento acelerado	Peso del papel		Tipo de gel	Lavados
			inicial	final		
1A	Tempera azul y magenta	10 semanas al sol + 24 horas en horno a 105°C	10,44g	10,60g	Gel de etanol sin Reemay® (1ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
2A	Tempera negro y amarillo	10 semanas al sol + 24 horas en horno a 105°C	11,10g	11,33g	Gel de etanol sin Reemay® (2ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
3A	Tempera azul y magenta	10 semanas al sol + 24 horas en horno a 105°C	10,57g	10,67g	Gel de etanol con Reemay® (1ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
4A	Tempera negro y amarillo	10 semanas al sol + 24 horas en horno a 105°C	11,07g	11,2g	Gel de etanol con Reemay® (1ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
5A	Tempera negro y amarillo	10 semanas al sol + 24 horas en horno a 105°C	10,81	10,88	Gel de etanol con Reemay® (2ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente

Tabla 12. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

6A	Tempera negro y amarillo	10 semanas al sol +24 horas en horno a 105°C	10,18g	10,25g	Gel de etanol con Reemay® (2ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
7A	Ninguna	674 h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,34g	10,45g	Gel de etanol con Reemay® (1ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
8A	Ninguna	674 h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,45g	10,57g	Gel de etanol con Reemay® (1ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
9A	Ninguna	674 h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,54g	10,67g	Gel de etanol con Reemay® (2ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente
10A	Ninguna	674 h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,66g	10,78g	Gel de etanol con Reemay® (2ª aplicación)	Lavado D-cellobiose 10mM en H ₂ O y 2-3 veces en papel absorbente

Tabla 12 (continuación). Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

- **Cambio en el lavado:**

Para las siguientes muestras los lavados se realizaron con D-cellobiose con tampón acetato con la misma concentración de 10mM.

Nº Papel	Técnica pictórica	Envejecimient o acelerado	Peso del papel		Tipo de gel	Lavados
11A	ninguna	674 h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,42g	10,67g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 de D-cellobiose 10mM TpAc y otro con H ₂ O 10mM
12A	Acrílico negro y magenta	169h UVA+24 horas en horno a 105°C	10,82g	11g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 de D-cellobiose 10mM TpAc y otro con H ₂ O 10mM
13A	Acrílico amarillo y azul	169h UVA+24 horas en horno a 105°C	11,49g	11,66g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 de D-cellobiose 10mM TpAc y otro con H ₂ O 10mM
14A	Acrílico amarillo y azul	169h UVA+24 horas en horno a 105°C	11,22g	11,36g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 de D-cellobiose 10mM TpAc y otro con H ₂ O 10mM

Tabla 13. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

- **Cambio de gel:**

A partir de ahora los geles se prepararán con el agar-agar al 1%, en vez de agarosio.

Nº Papel	Técnica pictórica	Envejecimient o acelerado	Peso del papel		Tipo de gel	Lavados
15A	Acrílico amarillo y azul	169 UVA +24 horas en horno a 105°C	10,32g	10,47g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
16A	Acrílico negro y magenta	169 UVA+24 horas en horno a 105°C	11,4g	11,54g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
17	Acrílico negro y magenta	169 UVA+24 horas en horno a 105°C	11,54g	11g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
18A	ninguna	312 UVA+24 horas en horno a 105°C	10,75g	10,99g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
19A	ninguna	312h UVA +24 horas en horno a 105°C	10,43g	10,65g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc

Tabla 14. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

20A	ninguna	312h + 24h horno	10,58g	10,80g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
21A	ninguna	312 h UVA + 24 horas en horno a 105°C	10,34g	10,64g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
22A	ninguna	312h UVA + 24 horas en horno a 105°C	10,71g	11,02g	Gel de etanol con Reemay ® (2ª aplicación)	2 lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
23A	ninguna	334 h UVA + 24 horas en horno a 105°C	10,63g	10,66g	Gel de etanol con Reemay ® (1ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O

Tabla 14 (continuación). Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

- **Cambio de la composición del gel y de los lavados**

Se decidió cambiar el solvente etanol de la solución enzimática por acetona. Por otro lado, se lavaron las primeras muestras, tratadas con el gel de acetona, con el D-cellobiose con agua destilada 10mM y las siguientes con D-cellobiose con tampón acetato 10mM.

Nº Papel	Técnica pictórica	Envejecimient o acelerado	Peso del papel		Tipo de gel	Lavados
24 A	ninguna	de 334 h UVA +99j+ 24 horas en horno a 105°C	10,20g	10,21g	Gel de acetona con Reemay ® (1ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O
25 A	Libro antiguo	-	1,71g	1,67g	Gel de acetona con Reemay ® (1ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O

Tabla 15. Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

26 A	ninguna	503 h UVA + 24 horas en horno a 105°C	10,76g	10,89g	Gel de acetona con Reemay ® (2ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O
27 A	ninguna	503h UVA+ 99julios + 24 horas en horno a 105°C.	11,2g	11,15g	Gel de acetona con Reemay ® (2ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O
28 A	Libro antiguo	-	1,36g	1,35g	Gel de acetona con Reemay ® (2ª aplicación)	lavado de D- cellobiose 10mM con H ₂ O y lavado con etanol al 1% en H ₂ O
29 A	ninguna	334 h UVA +99julios + 24 horas en horno a 105°C.	10,18g	10,35g	Gel de acetona con Reemay ® (1ª aplicación)	lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
30 A	Libro antiguo	-	1,52g	1,56g	Gel de acetona con Reemay ® (1ª aplicación)	lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc
31 A	ninguna	334 h. UVA +99julios + 24 horas en horno a 105°C.	10,14g	10,37g	Gel de acetona con Reemay ® (2ª aplicación)	lavados de D- cellobiose 10mM con TpAc

Tabla 15 (continuación). Recopilación de datos de cada papel y sus tratamientos.

IV.9.4 Resultados Test mecánicos

Capa papel fue sometido a los test mecánicos para comprobar si el gel y los lavados habían dado buen resultado y el soporte celulósico se había consolidado. A continuación se muestran los resultados obtenidos divididos por técnicas pictóricas.

- **Resultados de los test enzimáticos en papeles con técnica pictórica:**

-Témpera

Los siguientes gráficos muestran el resultado de la resistencia de cada papel antes y después del tratamiento enzimático. Los papeles fueron cortados en dos: la parte A es el fragmento de papel tratado y la B, la de referencia.

Para las muestras una y dos se efectuó el siguiente tratamiento:

Gel Agarosa etanol y lavado con D-celobiosa en H₂O y 2-3 veces en papel absorbente.

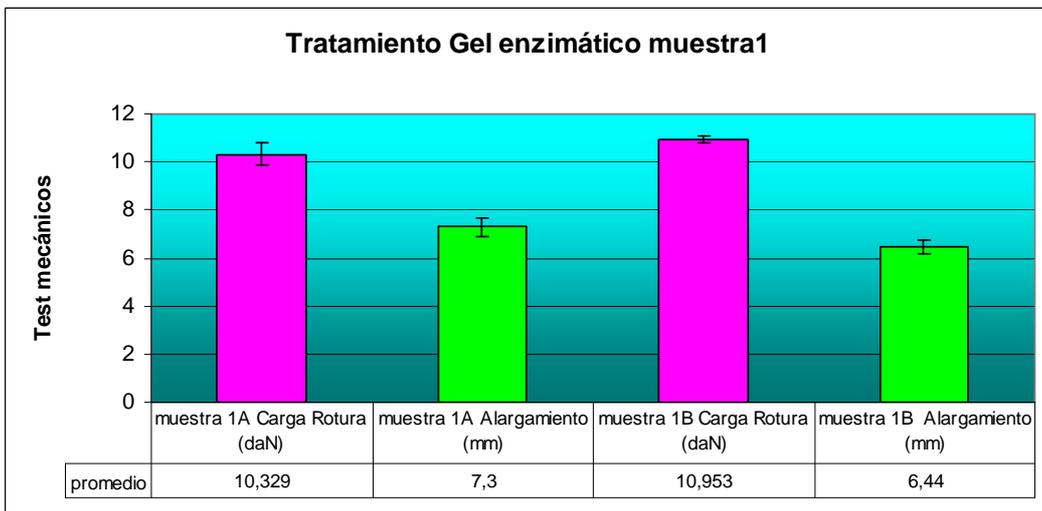


Grafico 158. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera azul y magenta.

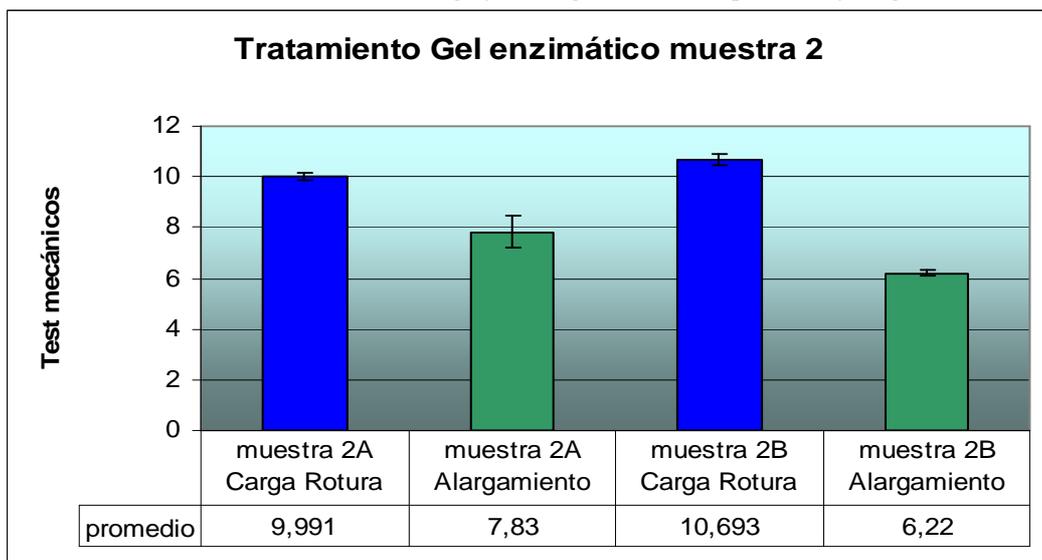


Gráfico 159. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera negra y amarilla

Para las cuatro siguientes muestras, se utilizó el Reemay® entre el gel de agarosa-etanol y los papeles.

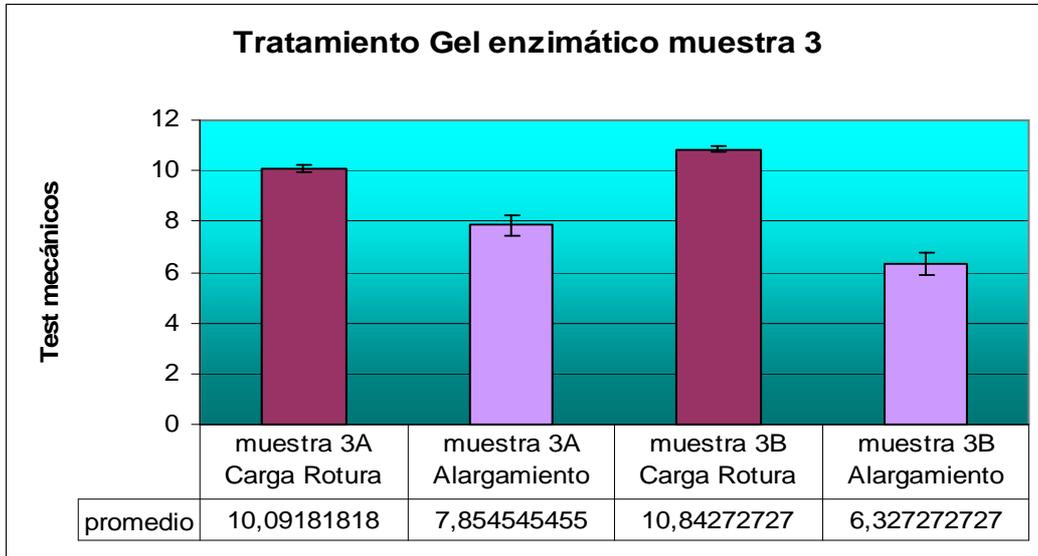


Gráfico 160. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera azul y magenta.

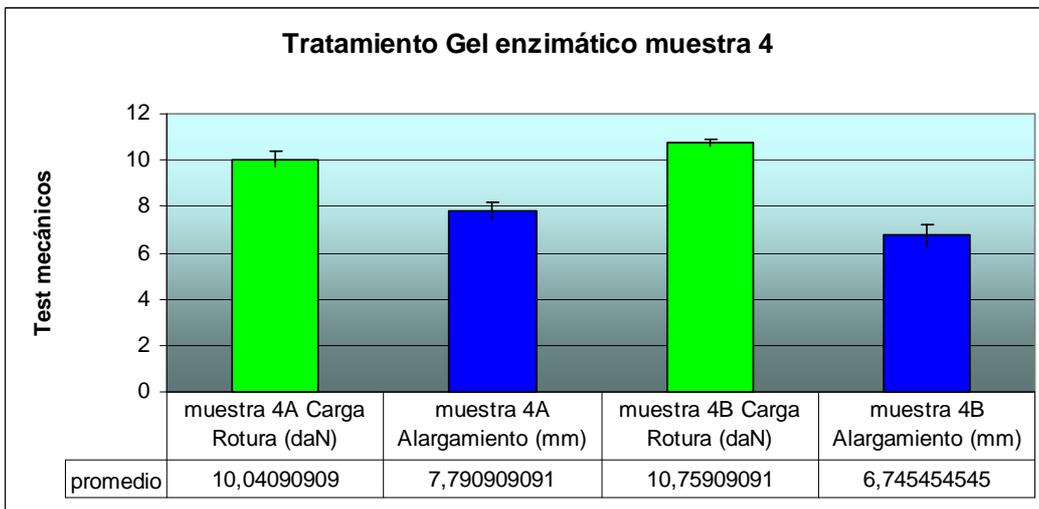


Gráfico 161. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera negra y amarilla

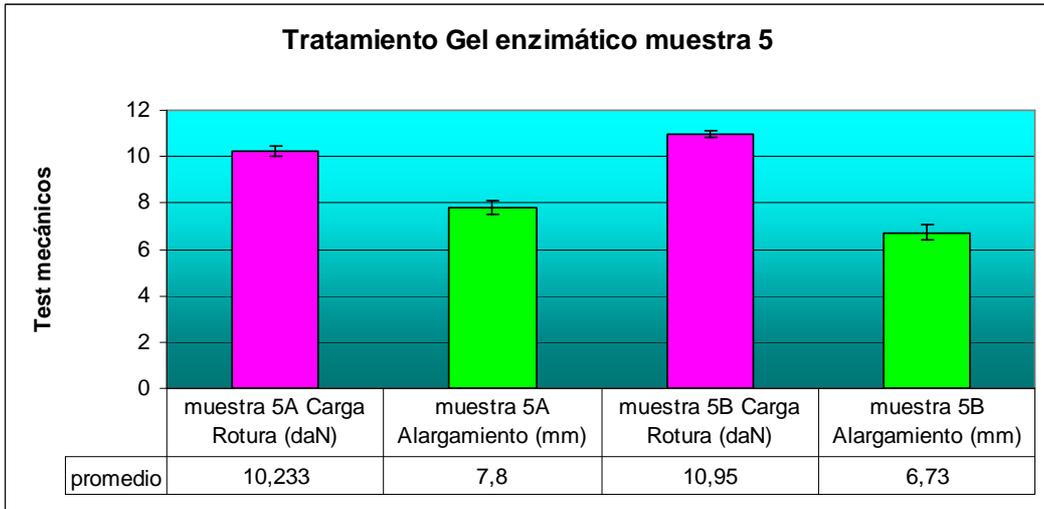


Gráfico 162. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera negra y amarilla

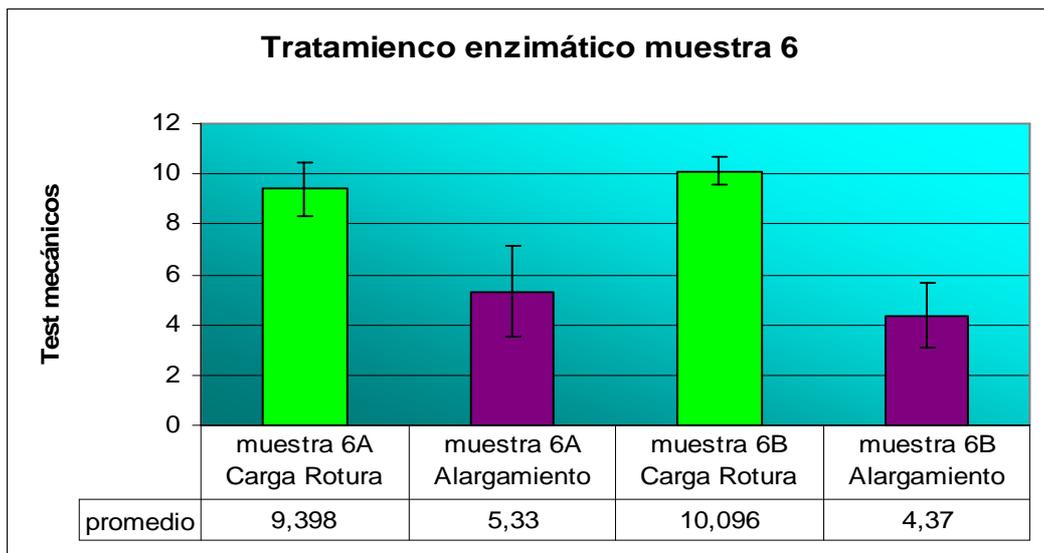


Gráfico 163. Resistencia a la carga y al alargamiento. Témpera negra y amarilla

Se observa que casi todas la muestras han perdido 0,70 daN en su resistencia, que representa más o menos el 6 ó el 7% de su resistencia a la carga y rotura. Se seguirán con las pruebas para ver qué es lo que ocurre.

- **Acrílico**

Se continuará con el mismo tratamiento en las hojas con pintura acrílica: Gel Agarosa etanol con Reemay® y lavado con D-celobiosa en H₂O y 2-3 veces en papel absorbente.

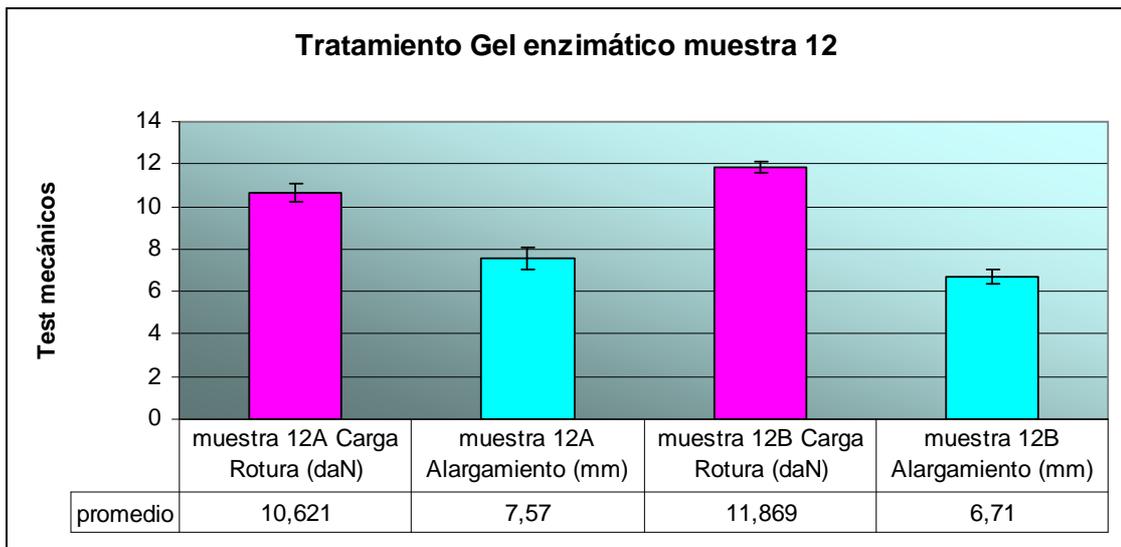


Gráfico 164. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico negro y magenta.

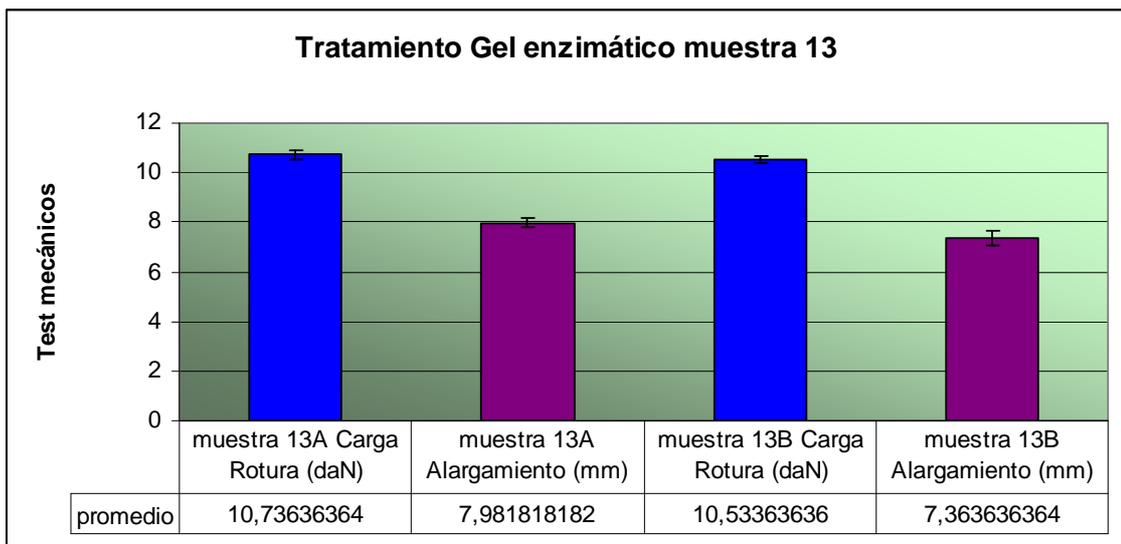


Gráfico 165. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico amarillo y azul.

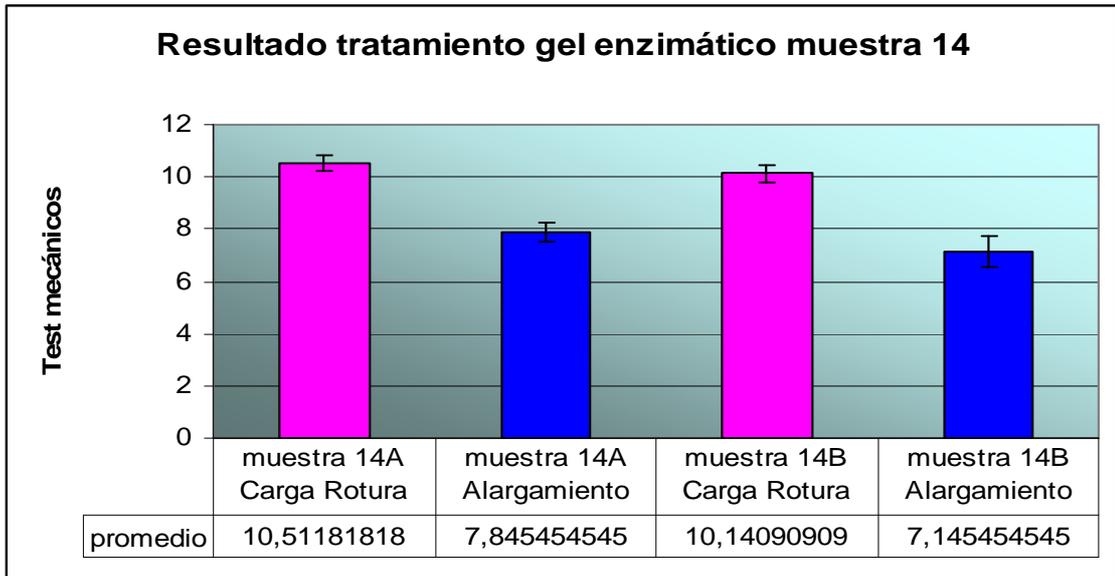


Gráfico 165. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico amarillo y azul.

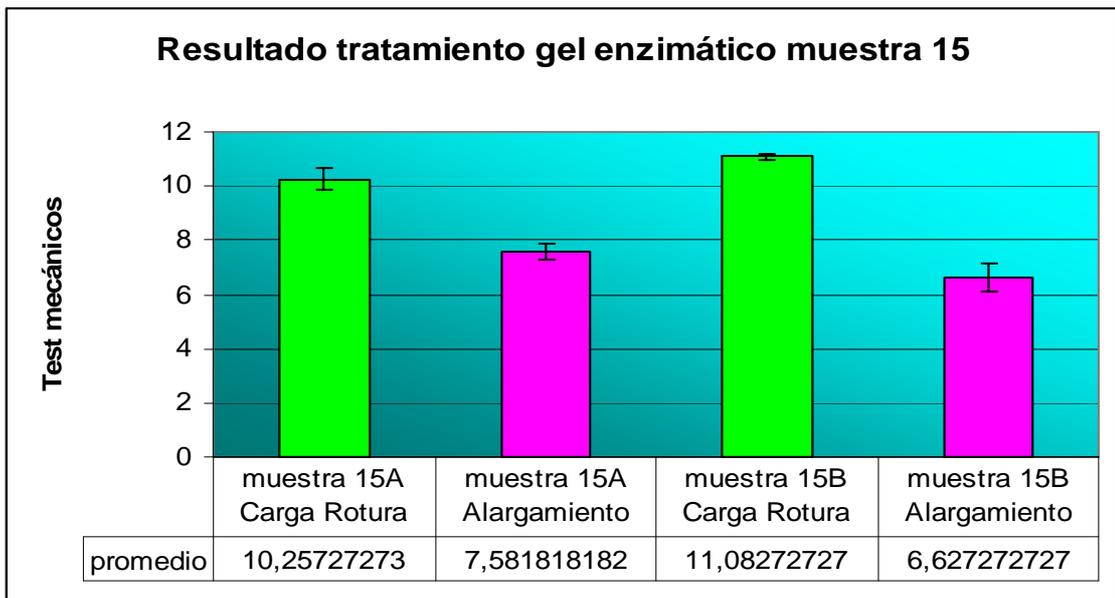


Gráfico 166. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico amarillo y azul.

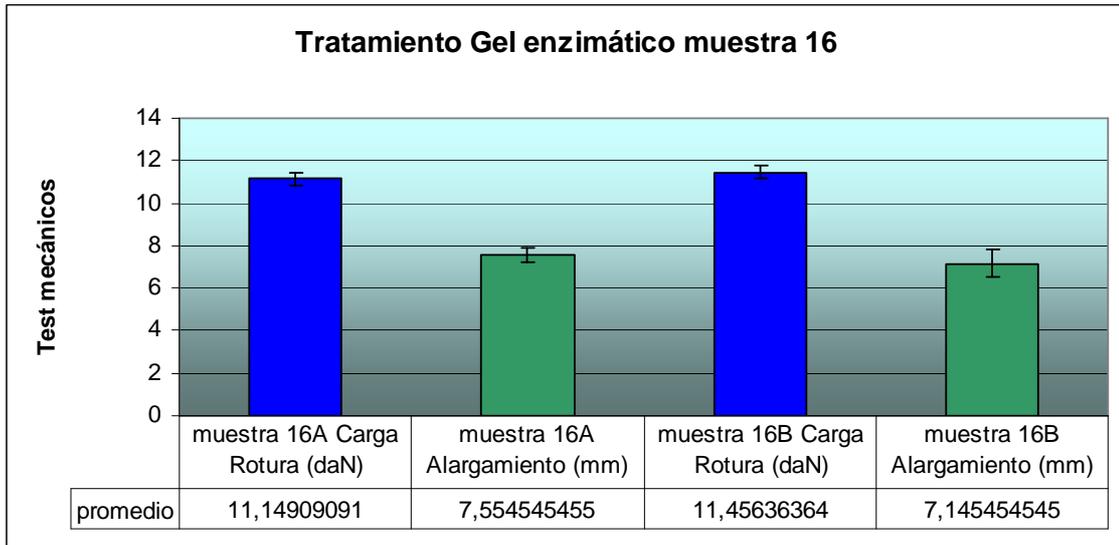


Gráfico 167. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico negro y magenta.

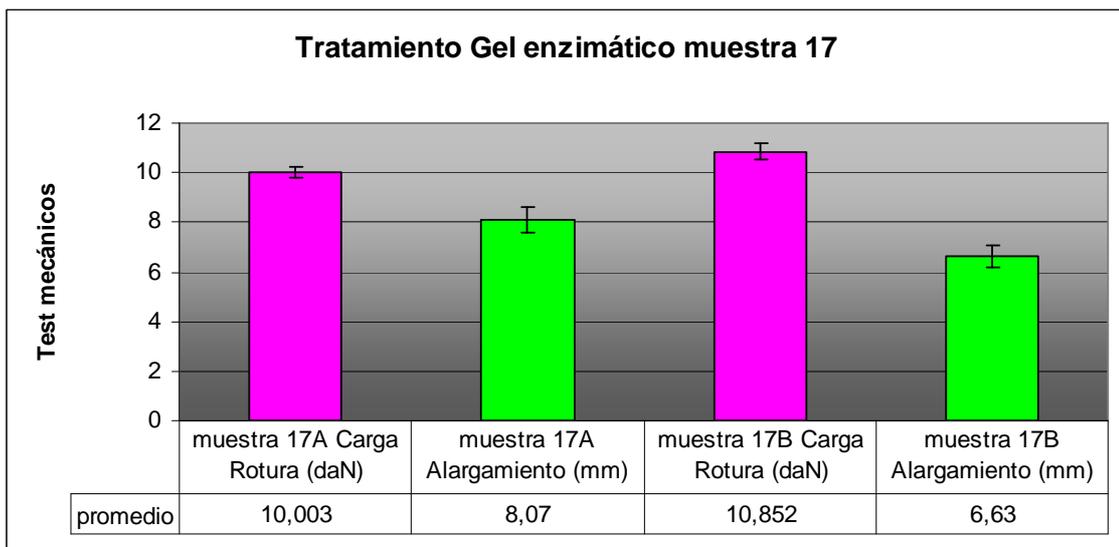


Gráfico 168. Resistencia a la carga y al alargamiento. Acrílico negro y magenta.

Discusión

En los gráficos de las muestras 13 y 14, aparece un aumento de la resistencia del 1,9% y 3,5% respectivamente. El resto de las muestras han sufrido una disminución de su resistencia de entre 1,24 y 0,31daN. Desconocemos las causas de la ineficacia en algunas muestras. Se debe averiguar el posible matiz que hace que todo varíe y el gel degrade.

- **Papeles sin técnicas pictóricas**

El tratamiento para las 5 próximas muestras es:

Gel Agarosa etanol con Reemay® y lavado con D-celobiosa en H₂O y 2-3 veces en papel absorbente.

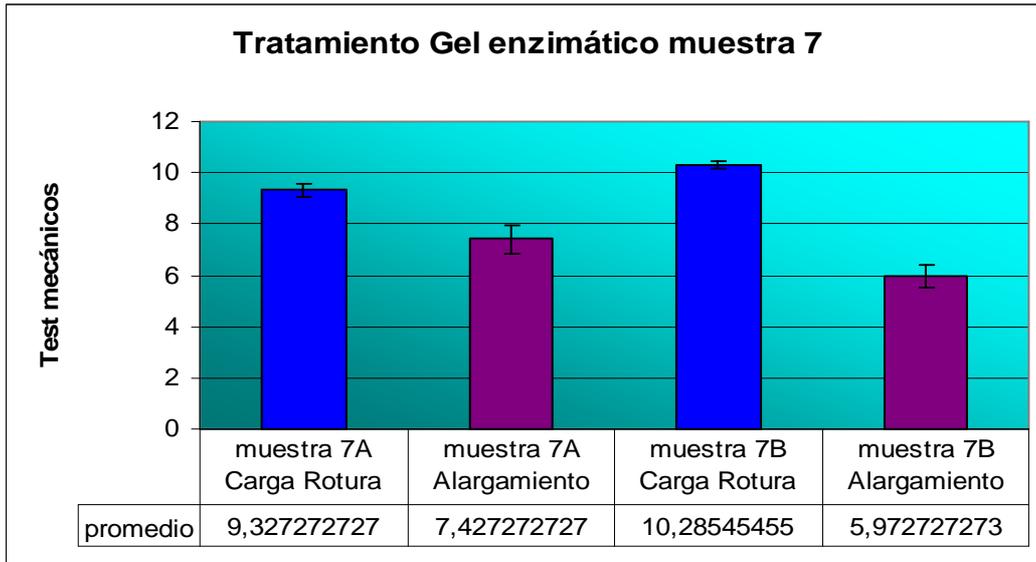


Gráfico 169. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

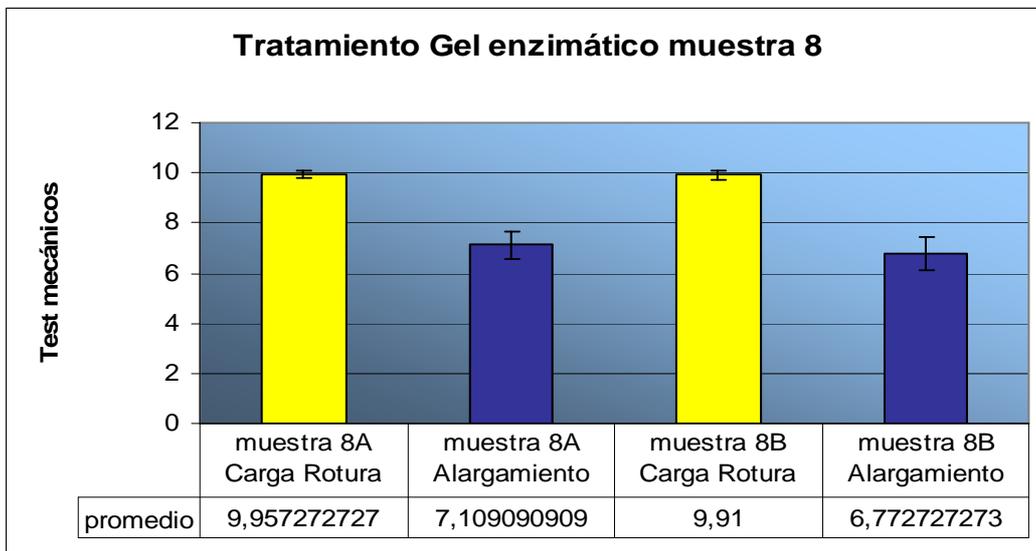


Gráfico 170. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

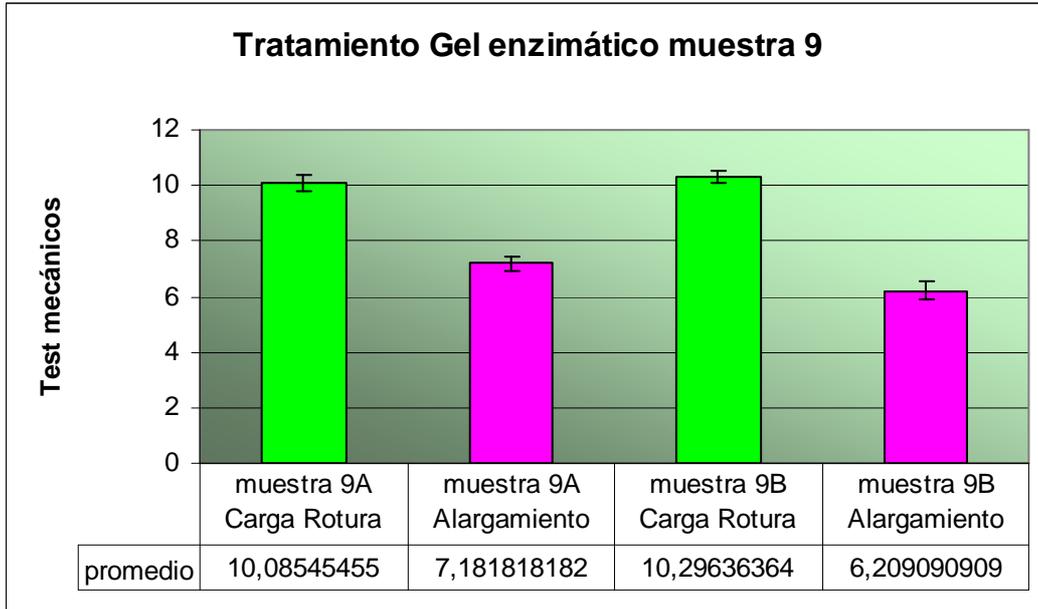


Gráfico 171. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

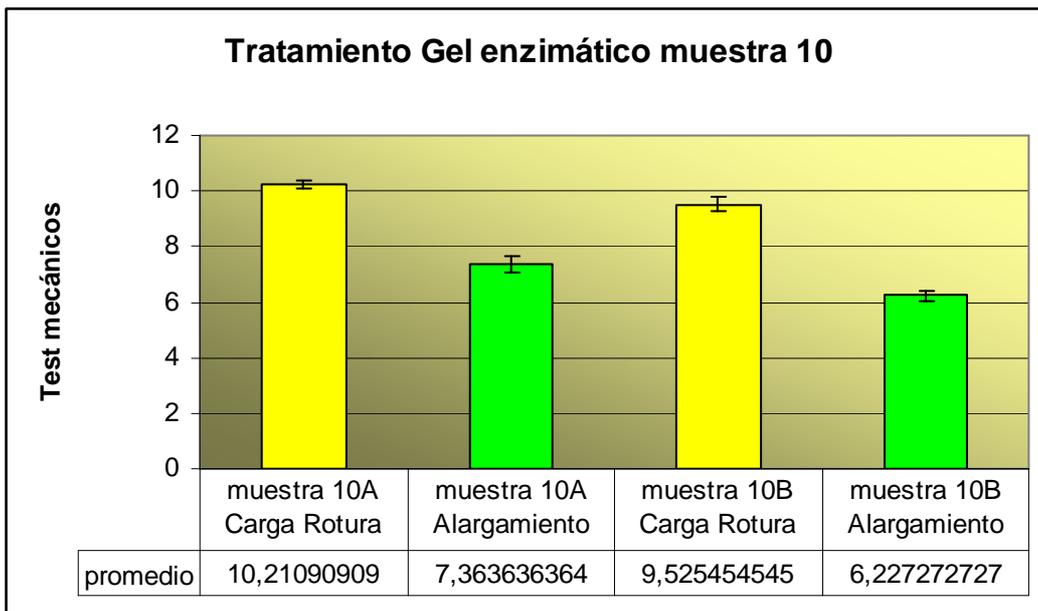


Gráfico 172. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

- **Cambio en los lavados**

El tratamiento seguirá siendo el mismo con el gel de agarosa y etanol con Reemay separador, pero será efectuado dos lavados de D-cellobiose preparado con tampón acetato, otro, con D-cellobiose con H₂O y por último, D-cellobiose con TpAc.

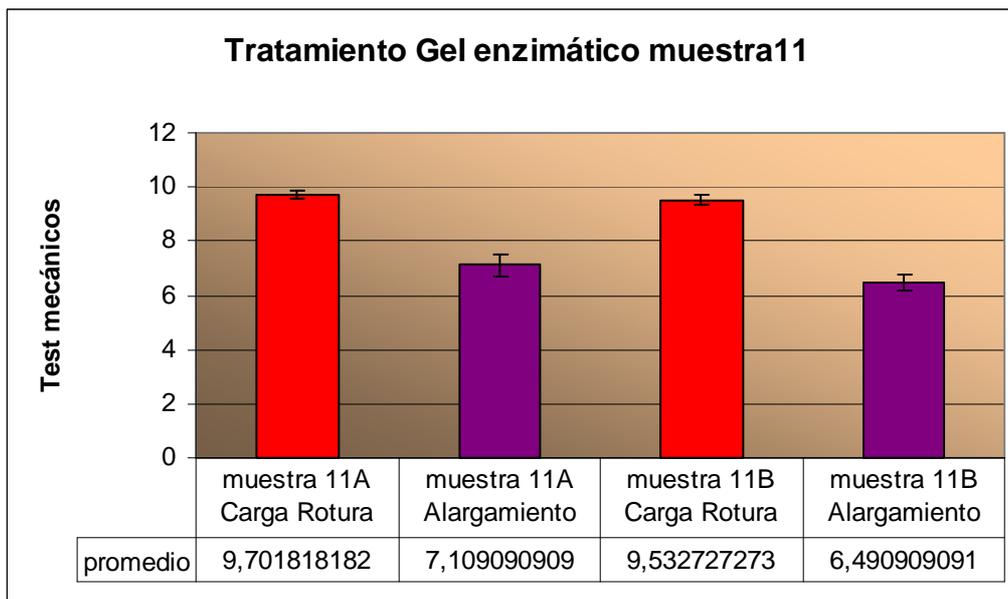


Gráfico 173. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

Se comprobó que los resultados para estas muestras son mucho mejor que la tanda de papeles anteriores con ténpera y pintura acrílica. En la muestra 8,10 y 11 el aumento de la resistencia ha sido de 0,04, 0,69 y 0,17daN o el 0,4%, 7,24% y 1,78% respectivamente y la disminución de las muestras 7 y 10 es del 2% para la muestra 9 y 9% para la muestra 7. Se desconocen las causas por las cuales hay días que el gel funciona y otras veces no. Se seguirá investigando este fenómeno.

- **Variación en el tratamiento- cambio del gel agarosio por agar-agar**

El siguiente tratamiento para los papeles sin técnicas pictóricas varía en primer lugar en el gel. Se sustituyó el gel agarosio por el agar-agar. El solvente para la solución enzimática sigue siendo el mismo: el etanol. En cuanto a los lavados, los cinco próximos papeles han sido lavados con el inhibidor D-cellobiose en tampón acetato a la misma concentración que antes, 10mM.

- **Gráficos de los test mecánicos**

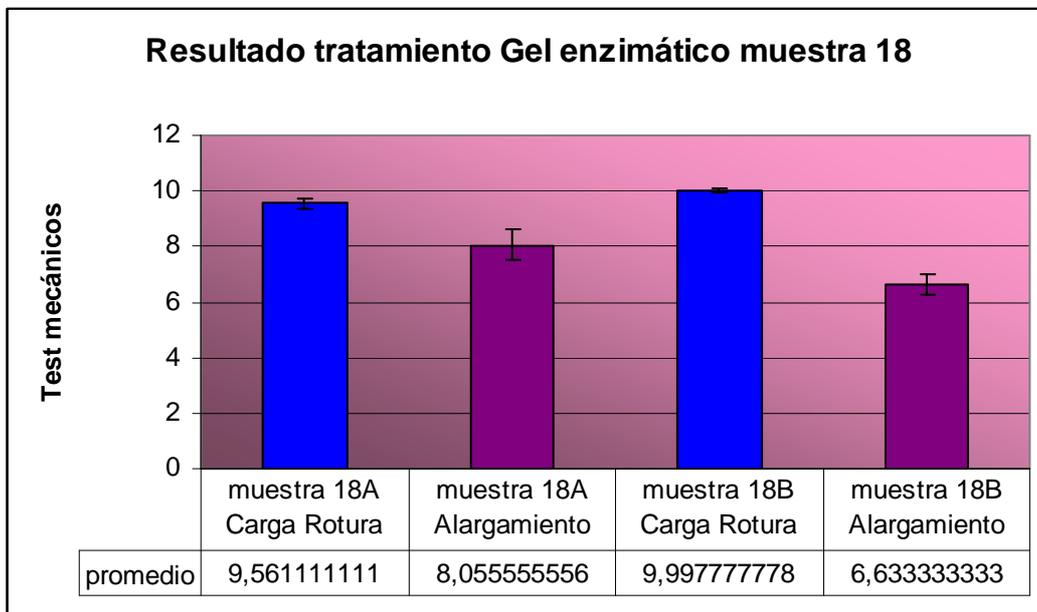


Gráfico 174. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

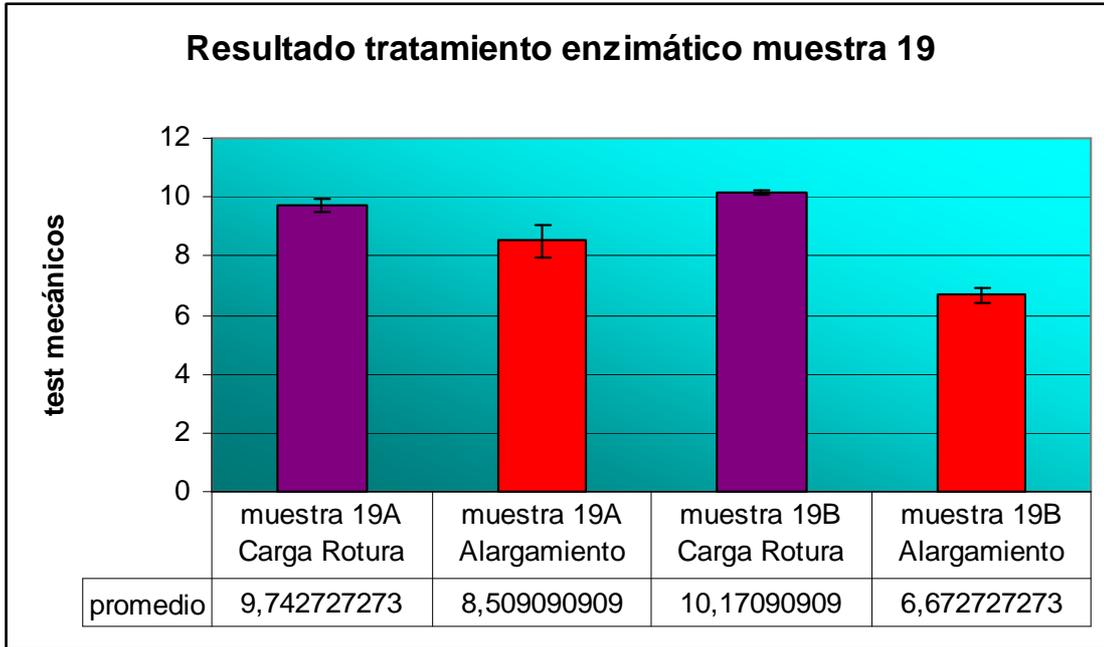


Gráfico 175. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

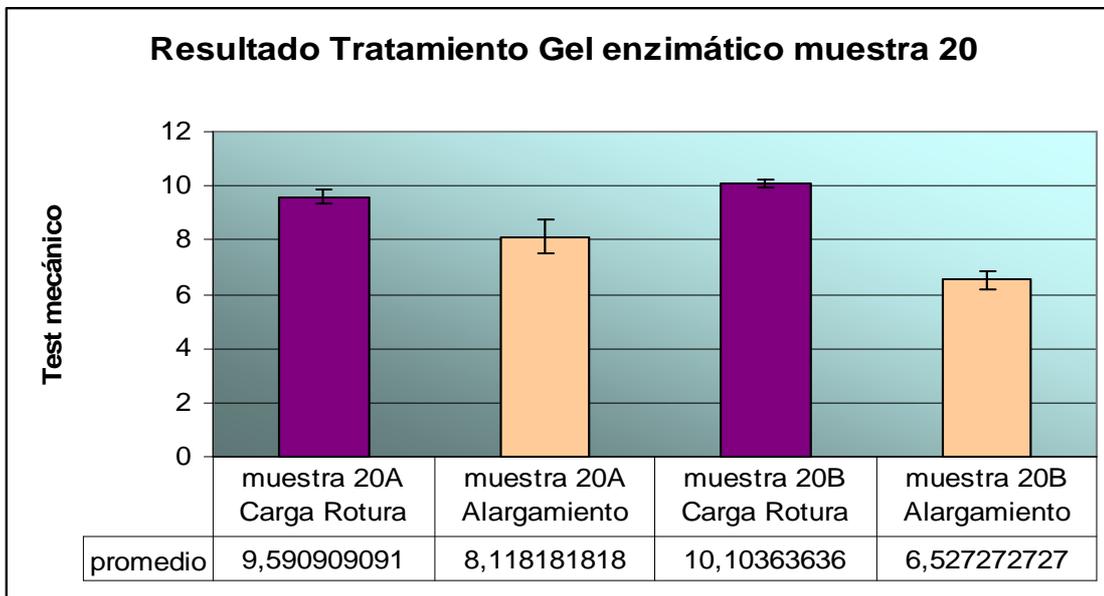


Gráfico 176. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

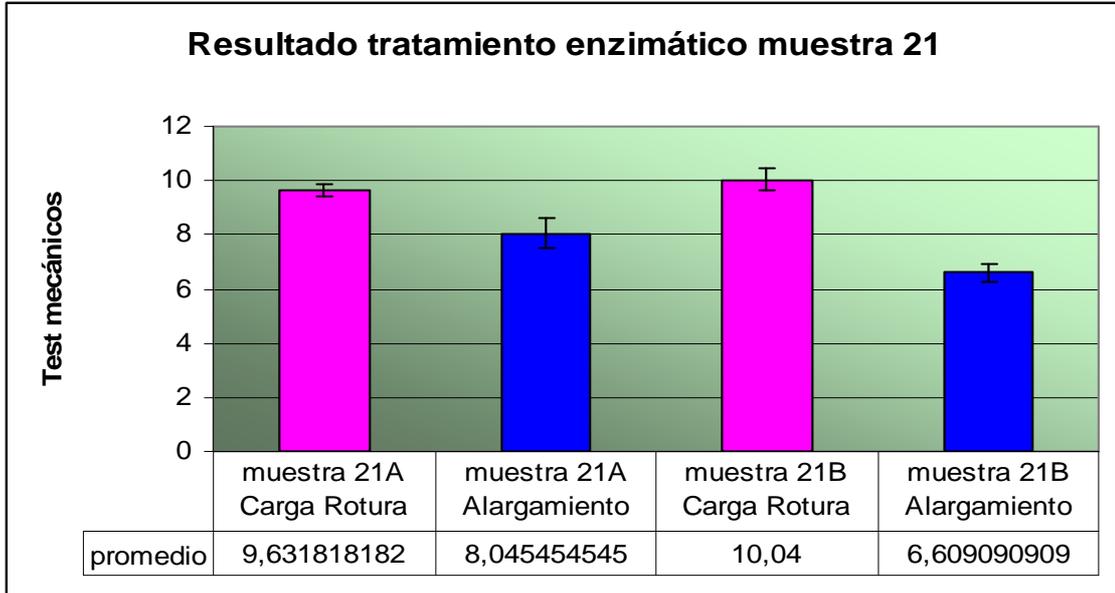


Gráfico 177. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

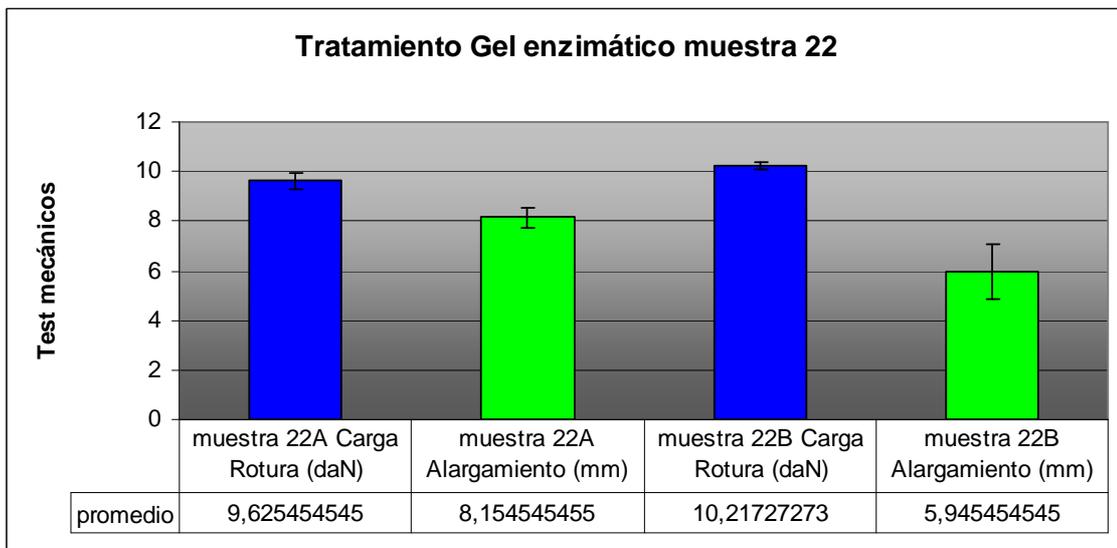


Gráfico 178. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

- **Cambio de lavado**

Este último gráfico muestra el aumento de resistencia de la muestra de un papel sin técnica pictórica. El único elemento que ha variado en el tratamiento es el lavado con el inhibidor enzimático D-cellobiose mezclado con agua al 10mM.

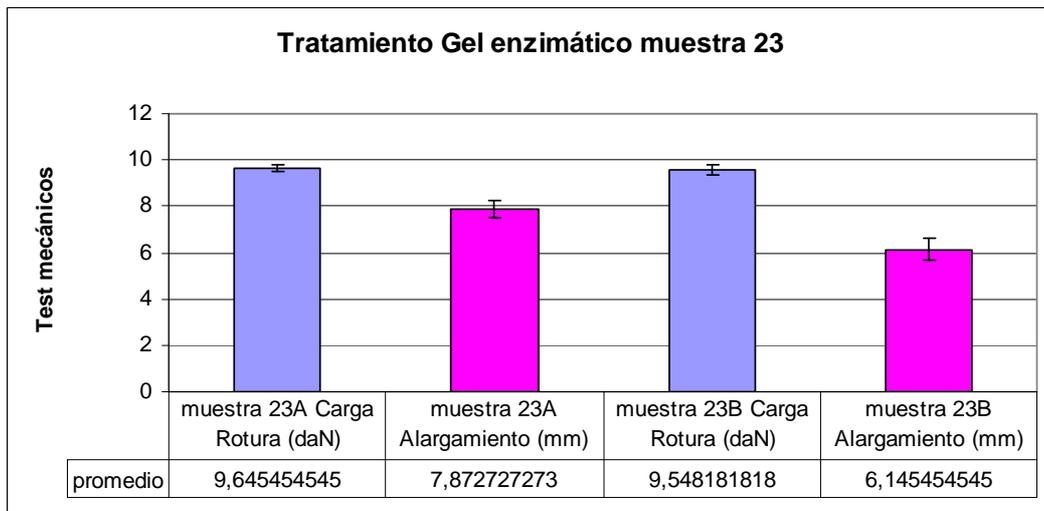


Gráfico 179. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

Discusión

Todos los resultados han sido negativos. La degradación ha sido mayor que en los papeles con técnicas pictóricas. Esta disminución de resistencia va desde 0,43 a 0,61daN o si lo se expresa en porcentajes del 4 al 6% más o menos. Se desconocen los motivos, no obstante parece que la diferencia en el tratamiento radica en el gel agarosio y agar-agar, o que el inhibidor ha sido mezclado con tampón acetona en vez de agua. Según los resultados obtenidos, el D-cellobiose inhibe mejor en Agua.

- **Cambio del solvente en la solución enzimática.**

Para las próximas muestras, se sustituyó el solvente etanol por acetona en la solución enzimática. Los resultados de los test mecánicos son los siguientes:

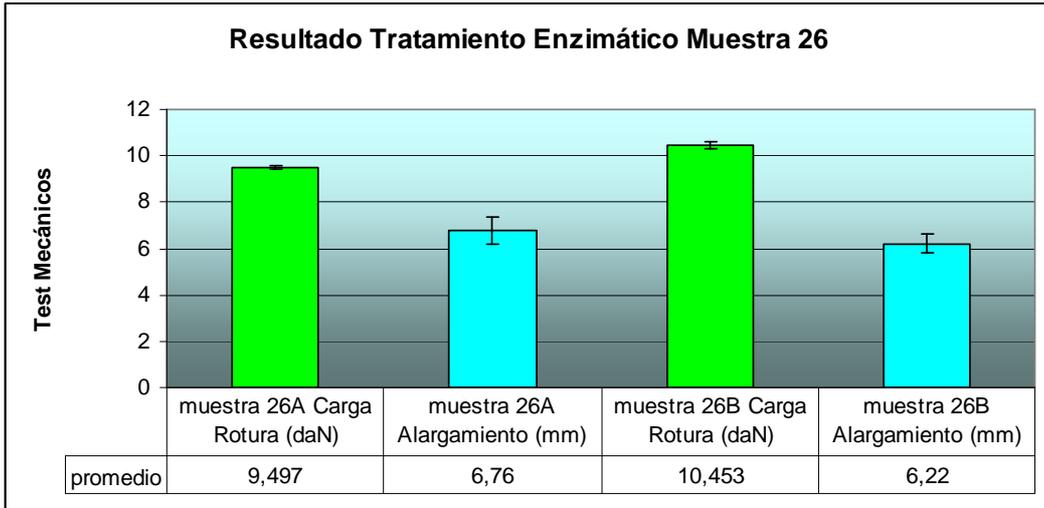


Gráfico 180. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

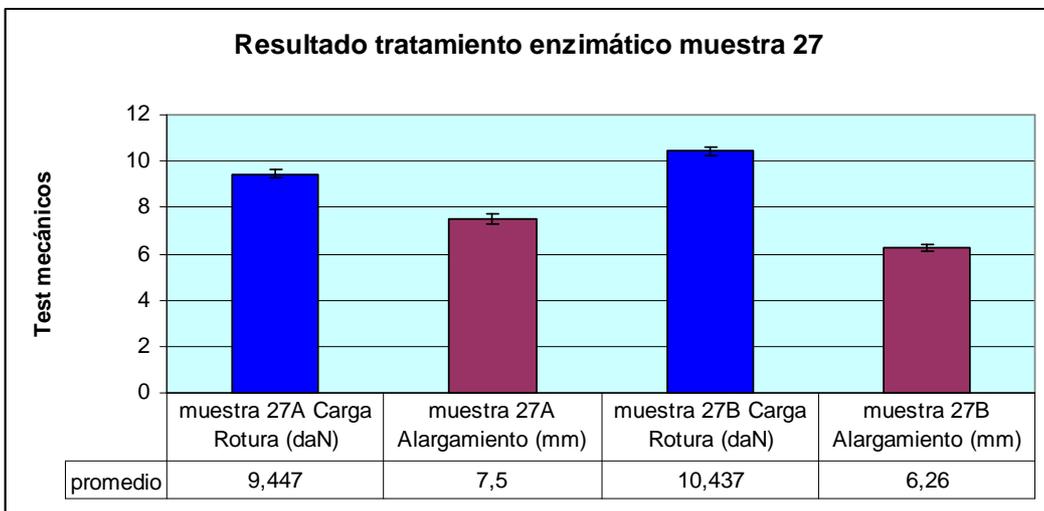


Gráfico 181. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

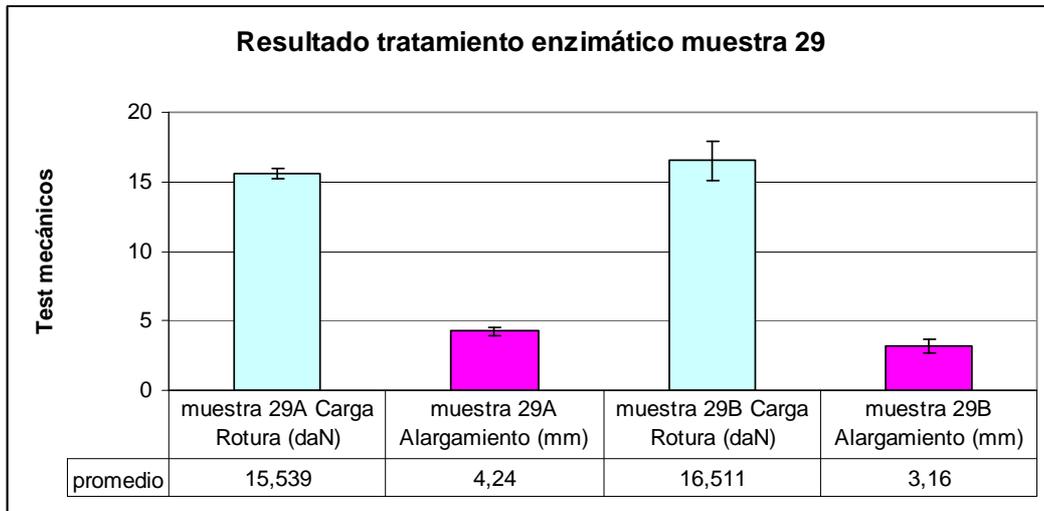


Gráfico 182. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

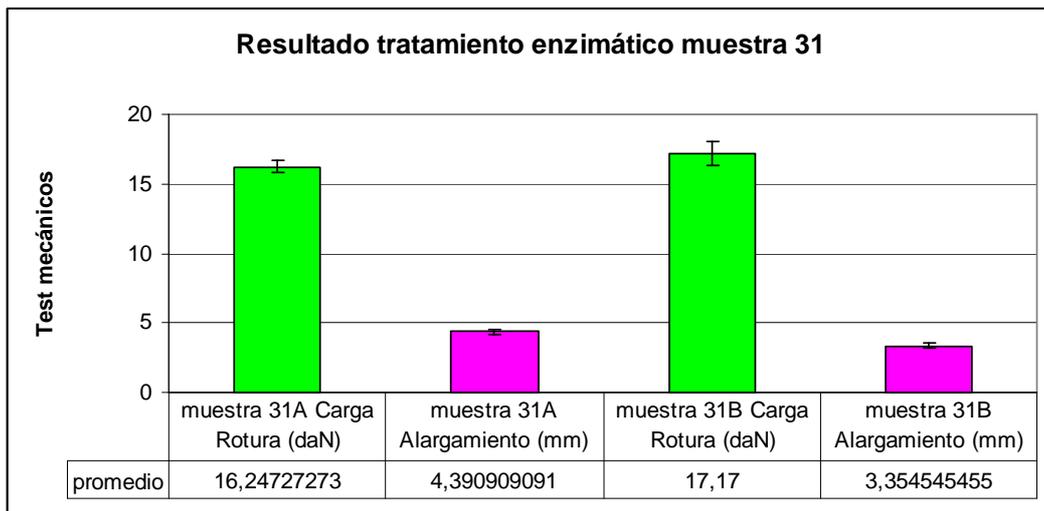


Gráfico 183. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel sin técnica pictórica

- **Discusión**

Se ha demostrado que el solvente acetona en la solución enzimática no da buenos resultados. Cada papel ha disminuido su resistencia de 0,90-0,99daN o lo que es lo mismo, de 5 a 9,5 % de resistencia a la carga y rotura.

- **Papeles del libro**

A continuación, se muestran los resultados para los papeles de los libros.

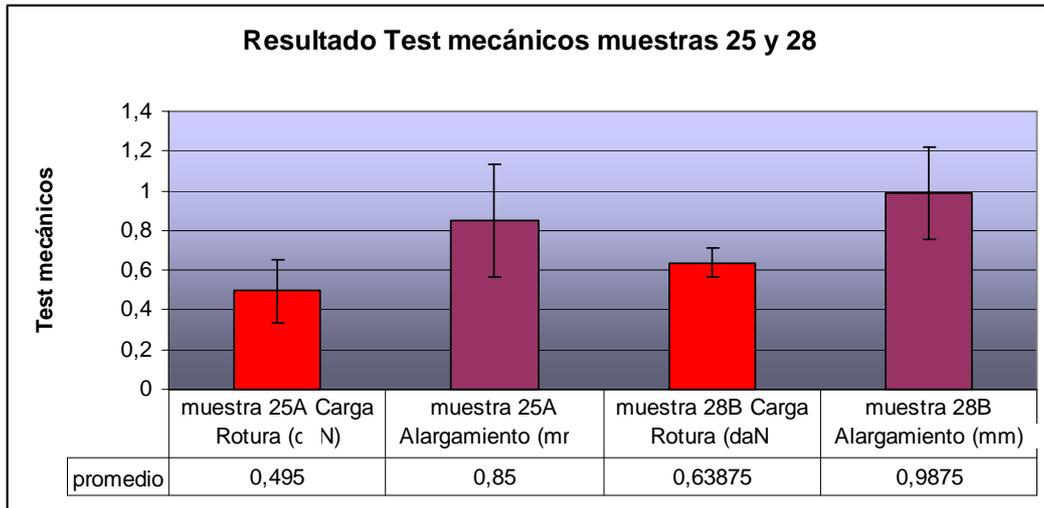


Gráfico 184. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel del libro

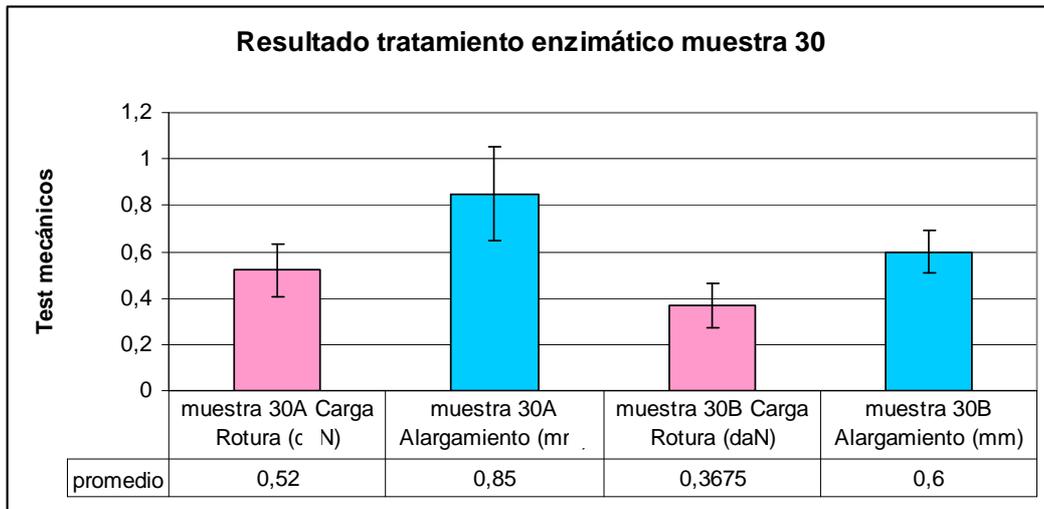


Gráfico 185. Resistencia a la carga y al alargamiento. Papel del libro.

En primer lugar, se debe aclarar que la muestra 30 B es el papel de referencia para los papeles 25, 28 y 30

La muestra 25 fue tratada con un gel de agar y acetona con Reemay®, el lavado posterior fue con D-celuloase en H₂O y, un lavado con agua y etanol para eliminar cualquier resto de enzima. El aumento de resistencia es del 36%.

El papel 28 ha sido tratado con el gel de agar y acetona con Reemay® y lavado con D-cellobiose en H₂O y lavado posteriormente con agua y etanol. El aumento de resistencia es del 75%

Para el papel 30 se empleó el gel de agar y acetona con Reemay® y lo lavamos varias veces con D.cellobiose en tampón acetato. El aumento de su resistencia mecánica es del 44%.

El tratamiento en los papeles del libro ha sido muy efectivo, las hojas han sido consolidadas de un 36 a un 75%. En este caso, hay que preguntarse las causas de tal éxito y puede que sea, los lavados antes del tratamiento, que eliminan parte de la suciedad, acidez y elementos que puedan inhibir el tratamiento enzimático.

A continuación, se prosigue con los resultados obtenidos con el espectrofotómetro de reflectancia que mide la blancura del papel.

IV.9.5 Resultados con el espectrofotómetro de reflectancia

A la hora de realizar la espectrofotometría de reflectancia, escogimos las muestras que habían sido reforzadas según los resultados de los test mecánicos.

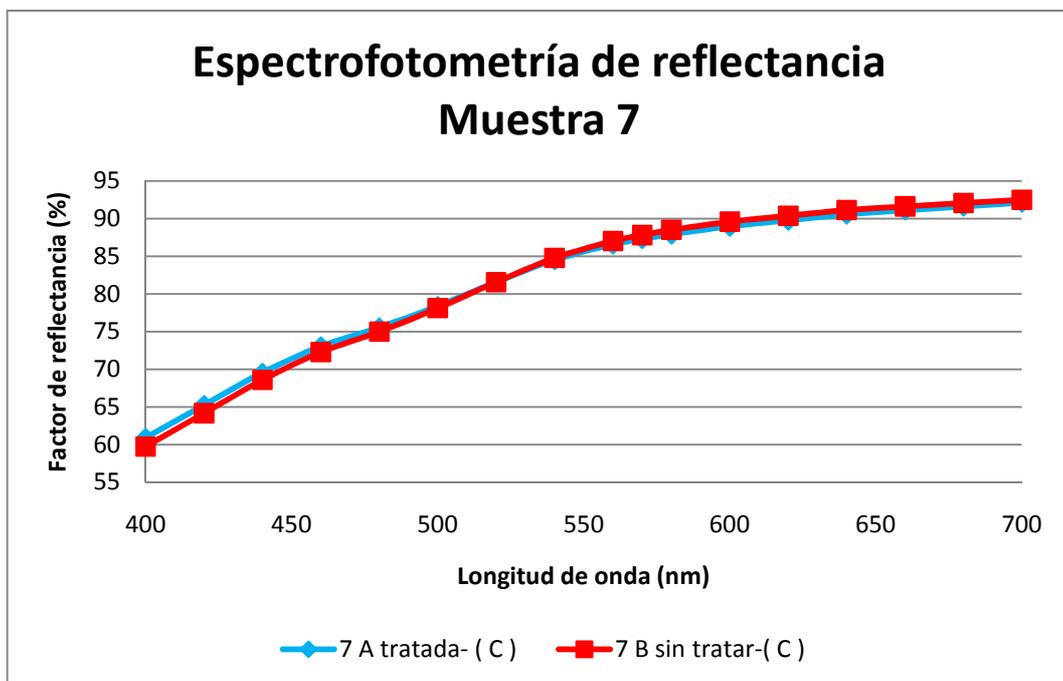


Gráfico 158. Espectrofotometria de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada y sin tratar son bastante similares, por lo que la blancura es similar y el tratamiento no ha afectado nada al papel.

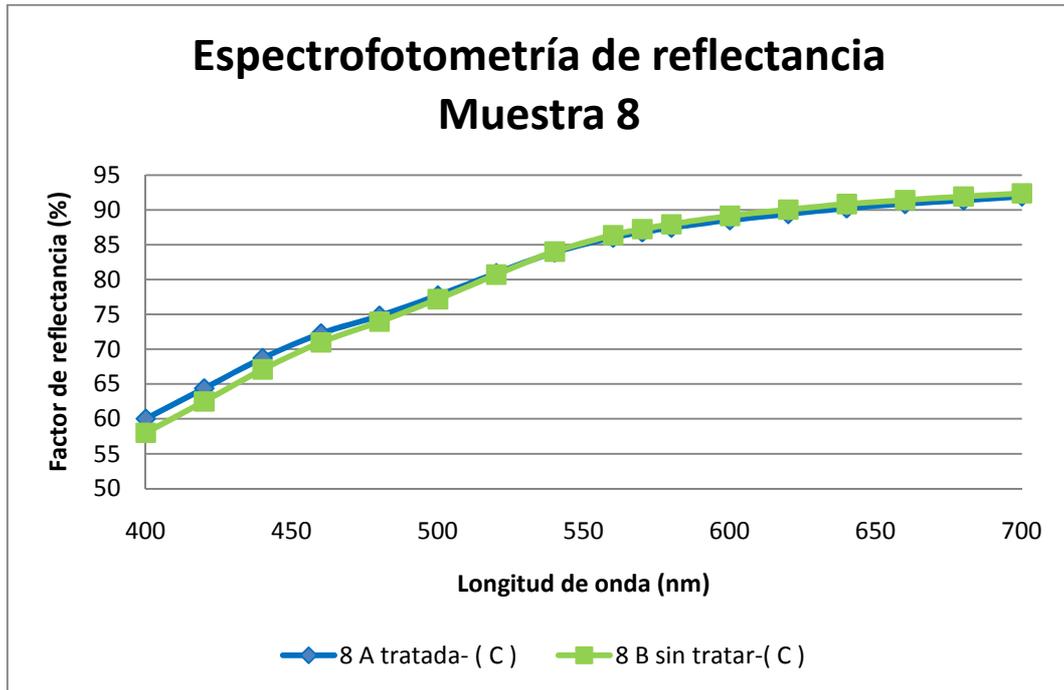


Gráfico 159. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada y sin tratar son bastante similares, por lo que la blancura es similar y el tratamiento no ha afectado nada al papel.

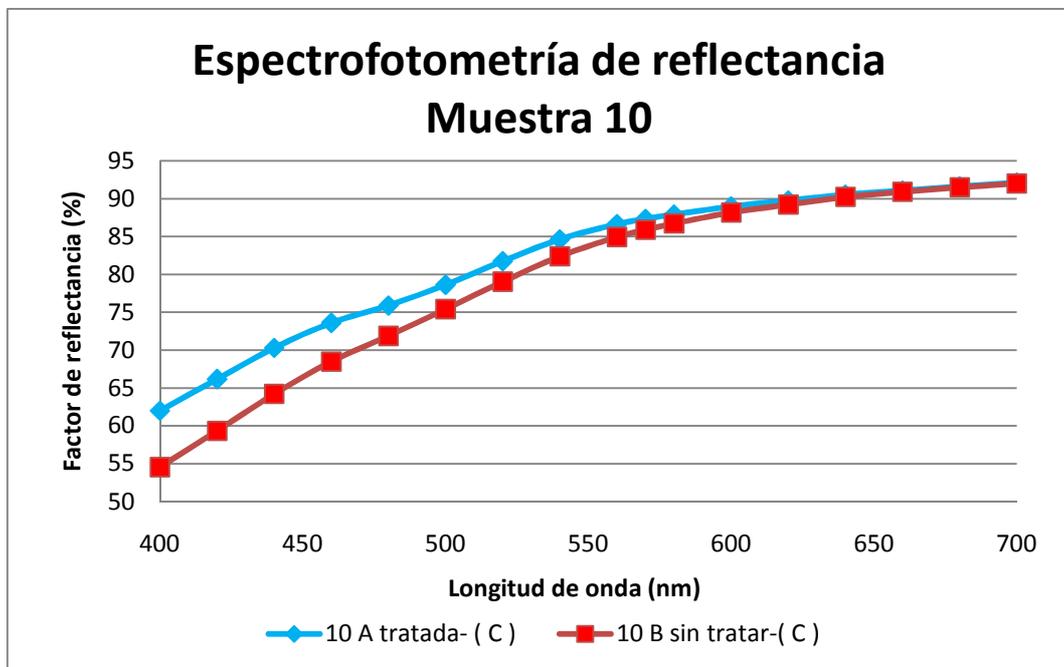


Gráfico 160. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada es superior a la no tratada, el papel aumenta su blancura por lo que el tratamiento enzimático ha tenido buenos resultados.

En la muestra 10 se observa una mejora del espectro de reflexión del papel. Es más notable entre 400 y 550 nm. Esto significa que el papel con el tratamiento ha ganado en blancura porque cuanto más luz es reflejada quiere decir que el papel es más blanco y absorbe menos luz. Además se puede poner que la blancura ISO es el factor de reflectancia a 457 nm y se puede observar que ha habido una ganancia de blancura de 5 puntos.

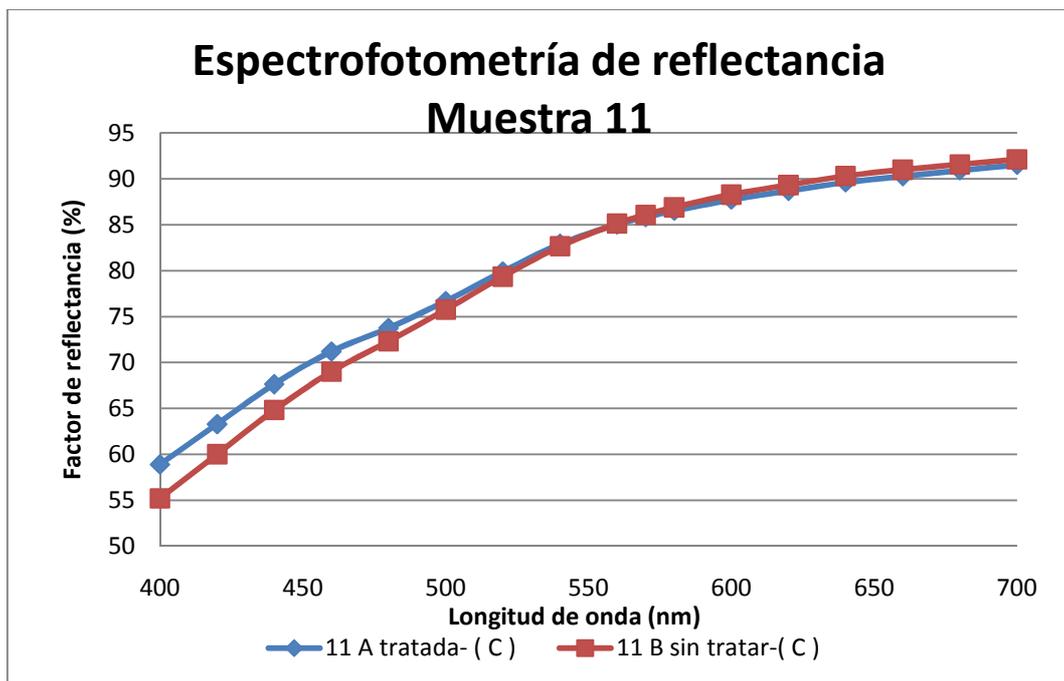


Gráfico 161. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada es superior a la no tratada, el papel aumenta su blancura por lo que el tratamiento enzimático ha tenido buenos resultados.

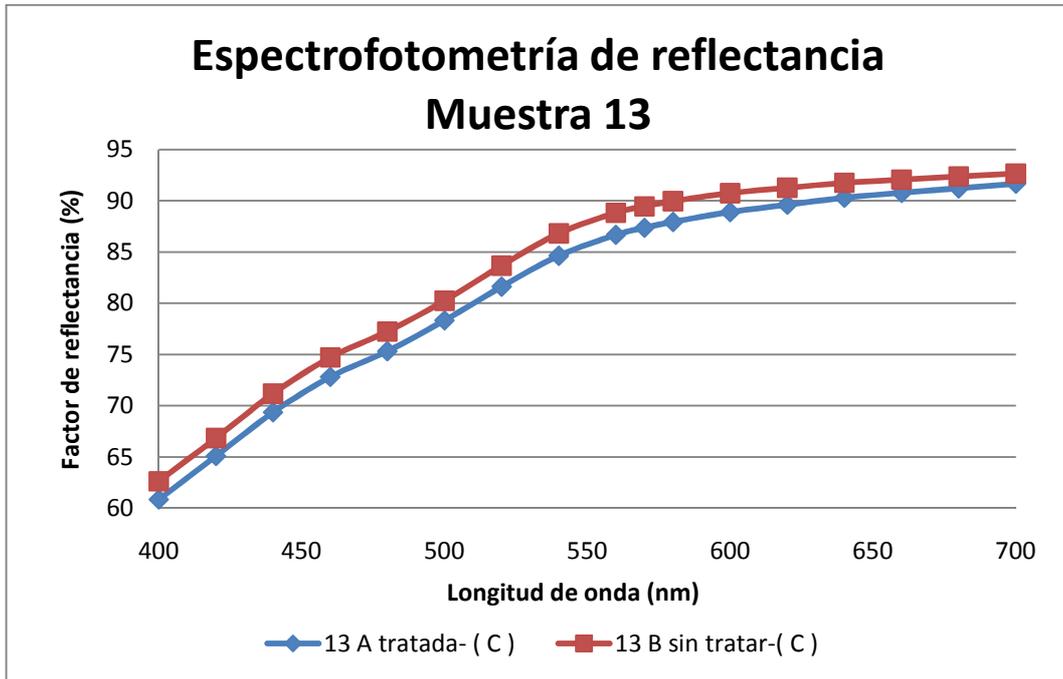


Gráfico 162. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra no tratada es superior a la tratada, el papel disminuye su blancura por lo que el tratamiento enzimático no ha sido muy efectivo. No obstante, esta pérdida de blancura puede ser debida a los lavados, por lo que tampoco se considera muy importante.

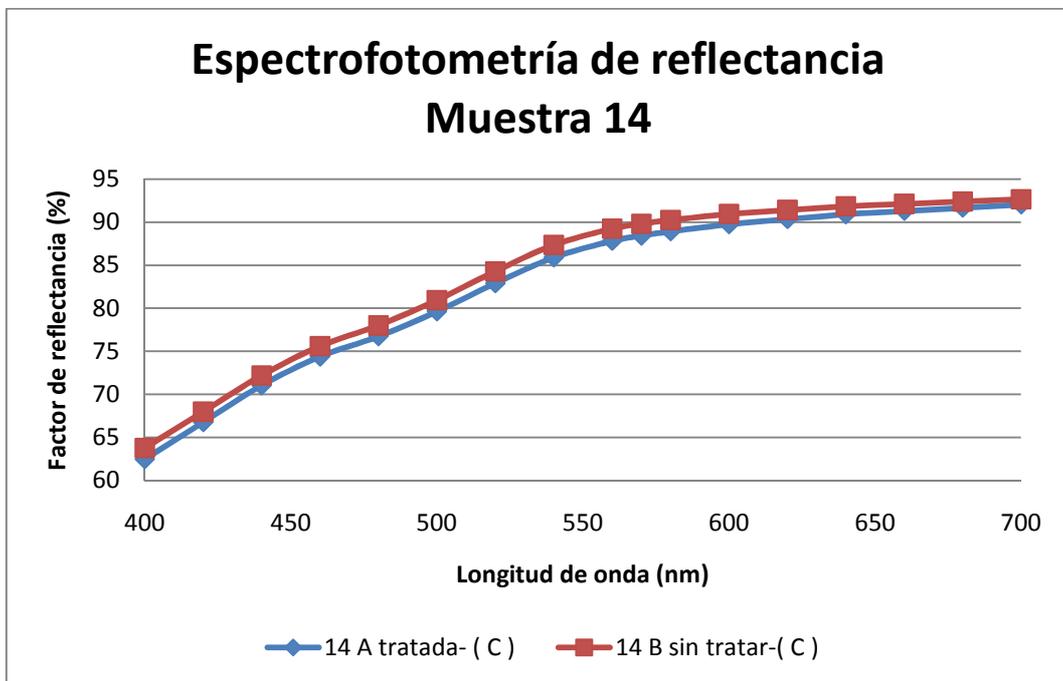


Gráfico 163. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra no tratada es superior a la tratada, el papel disminuye su blancura por lo que el tratamiento enzimático no ha sido muy efectivo. No obstante, esta pérdida de blancura puede ser debida a los lavados, por lo que tampoco se considera muy importante.

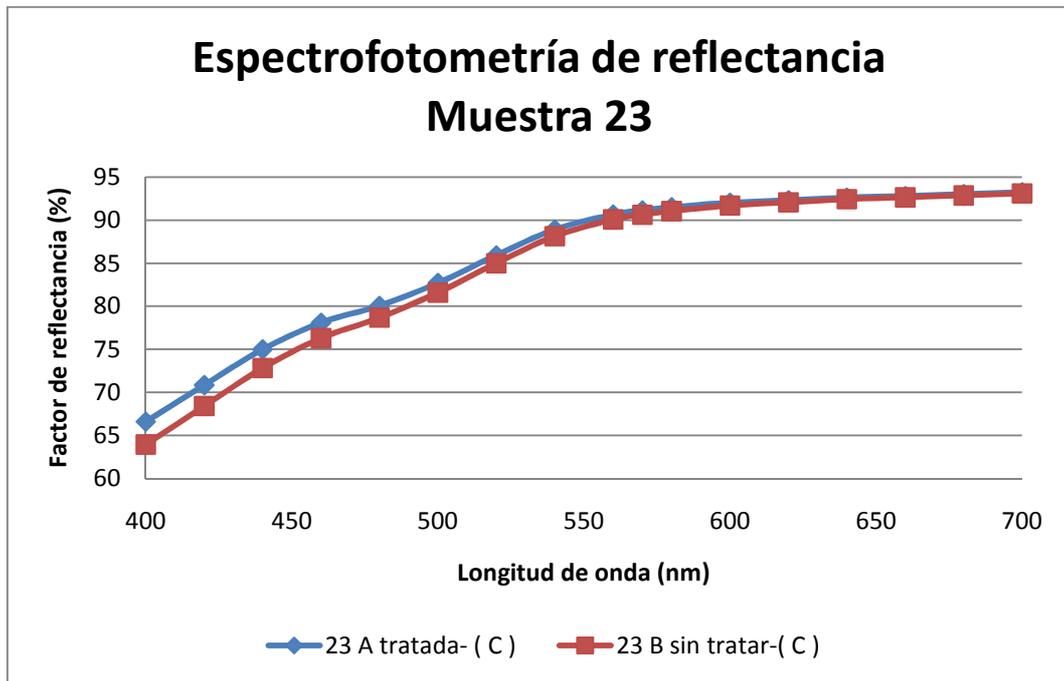


Gráfico 164. Espectrofotometria de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada es superior a la no tratada, el papel aumenta su blancura por lo que el tratamiento enzimático ha tenido buenos resultados.

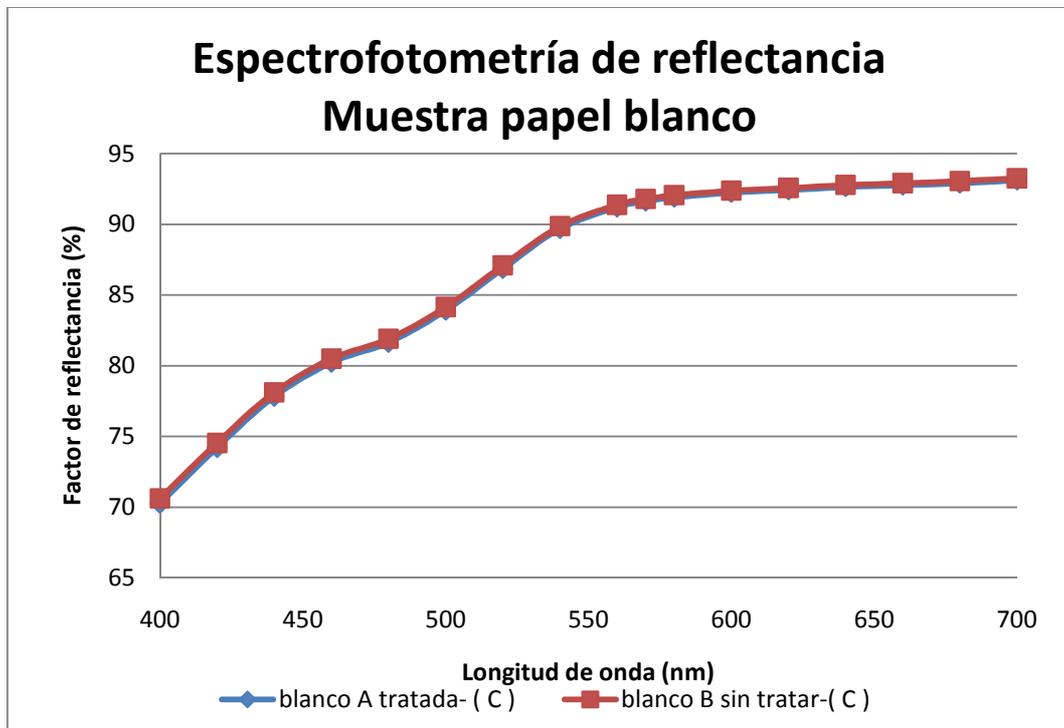


Gráfico 165. Espectrofotometria de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra tratada y sin tratar son bastante similares, por lo que la blancura es similar y el tratamiento no ha afectado nada al papel.

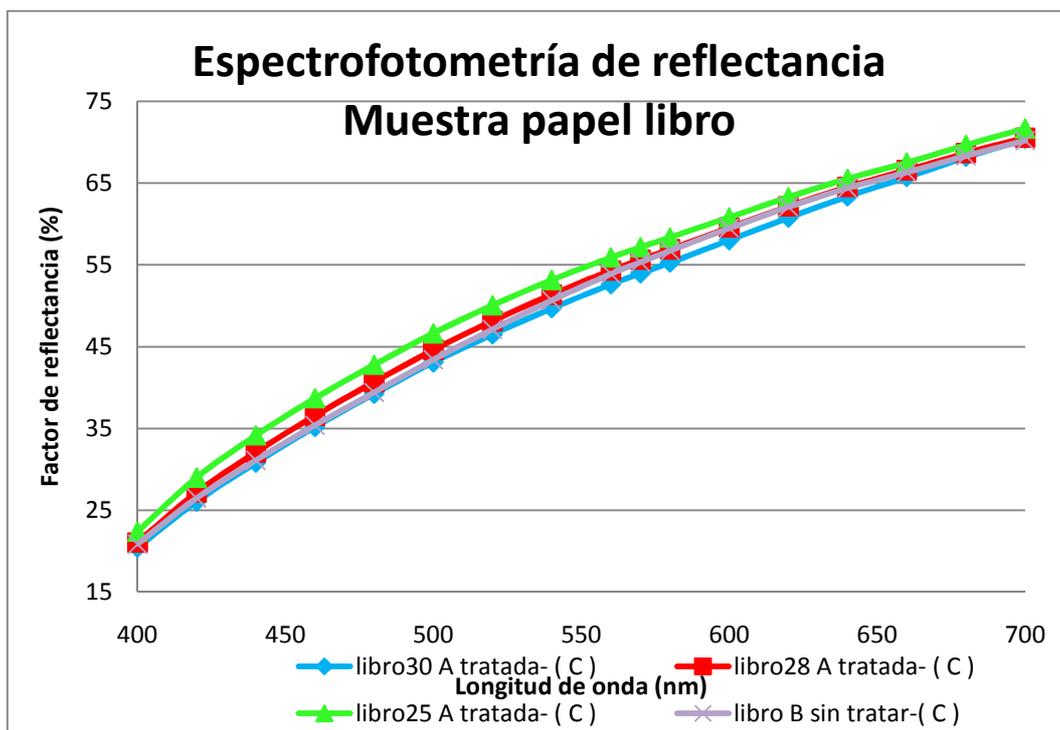


Gráfico 166. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas es superior a la no tratada casi siempre menos para la muestra 30. Los papeles han aumentado de blancura por lo que el tratamiento enzimático ha tenido buenos resultados.

IV.9.6 Climatología de los días de tratamiento

Lo que se intenta a continuación es observar si el efecto de algún elemento climatológico hace variar la actividad enzimática de los geles.

A continuación se muestran los gráficos de los días que se trataron los papeles. Los gráficos han sido obtenidos de la página Weather underground ^[449]. Se marcarán en rojo la franja horaria donde han sido tratados los papeles.

449

http://www.wunderground.com/history/airport/LFLY/2009/4/7/DailyHistory.html?req_city=NA&req_state=NA&req_statename=NA

Gráficos

- Primer gráfico para las muestras 1 y 2, tratadas a las 3 y 5 de la tarde.

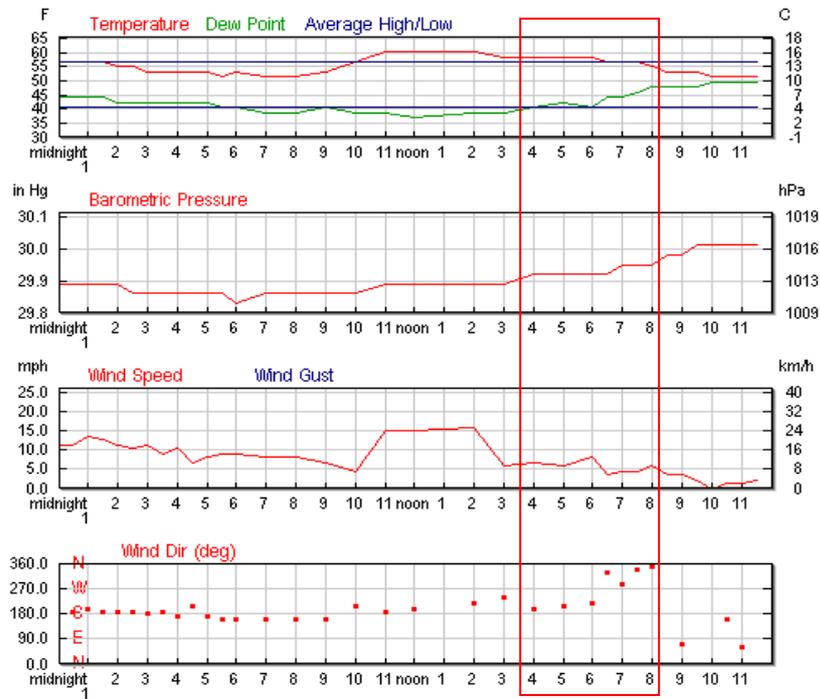


Gráfico 167. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- Gráficos para los papeles numerados del 4 al 6.

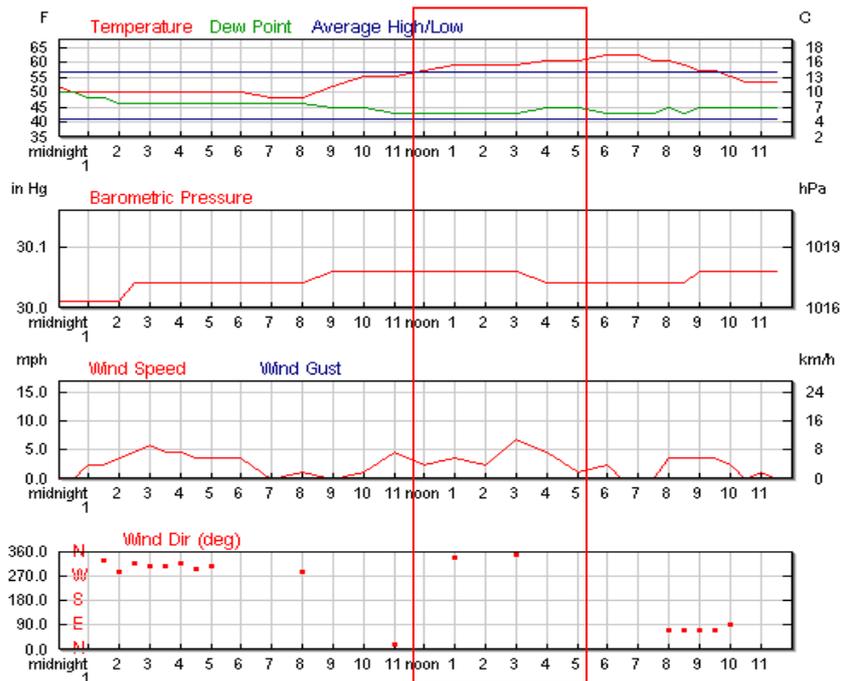


Gráfico 168. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- Curvas de temperatura, presión, viento para las muestras del 7 al 10.

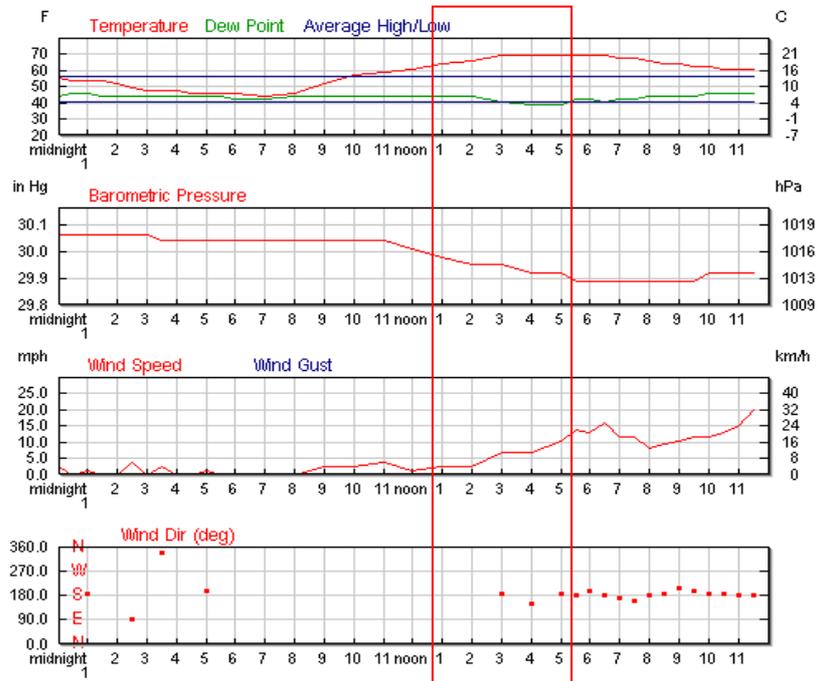


Gráfico 169. Climatología del momento de la aplicación enzimática. Curvas de temperatura, presión y viento.

- Gráficos para los papeles del 11 al 14.

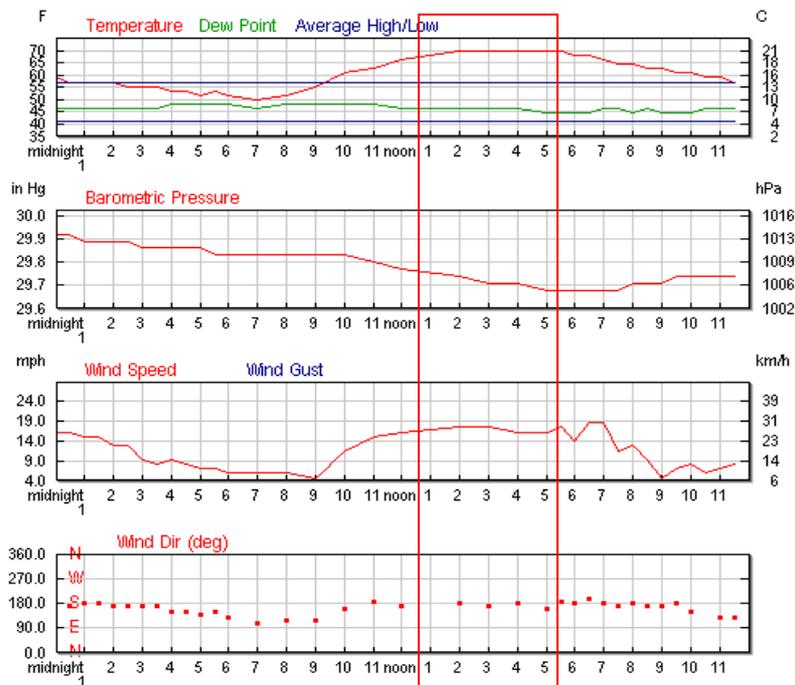


Gráfico 170. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- Gráficos para las muestras 15 al 18, tratadas a las 12, 13, 14 y 15 horas.

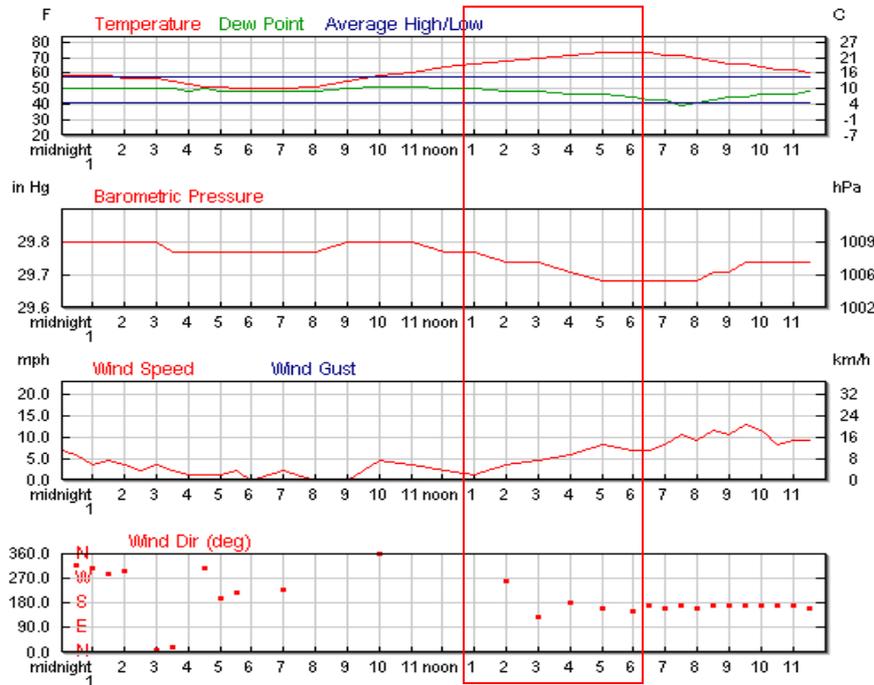


Gráfico 171. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- Gráficos para las probetas expuestas al gel números 19 al 22

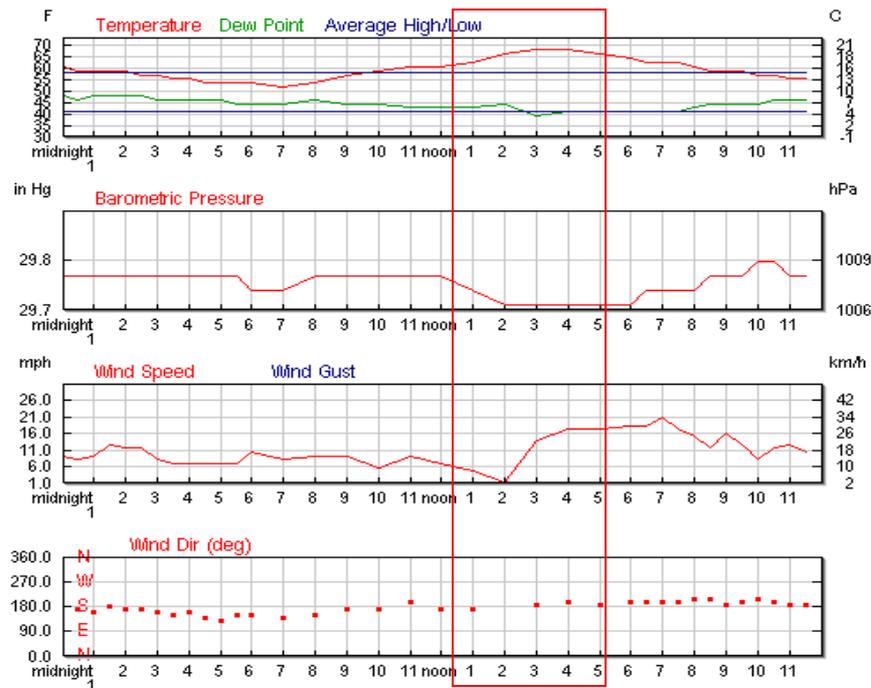


Gráfico 172. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

Gráficos para los papeles del 23 al 28.

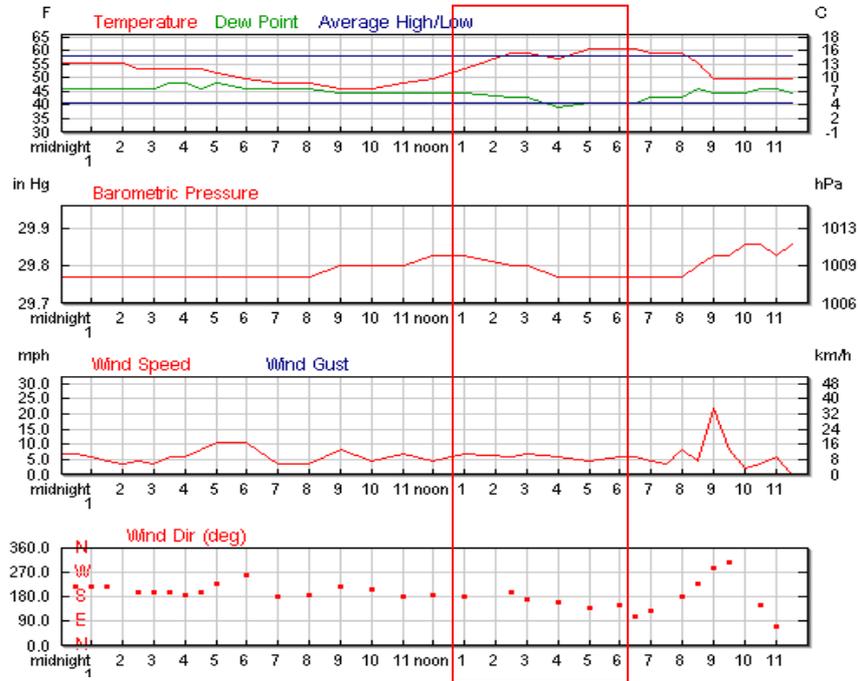


Gráfico 173. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- Gráfico para las muestras del 29 al 31.

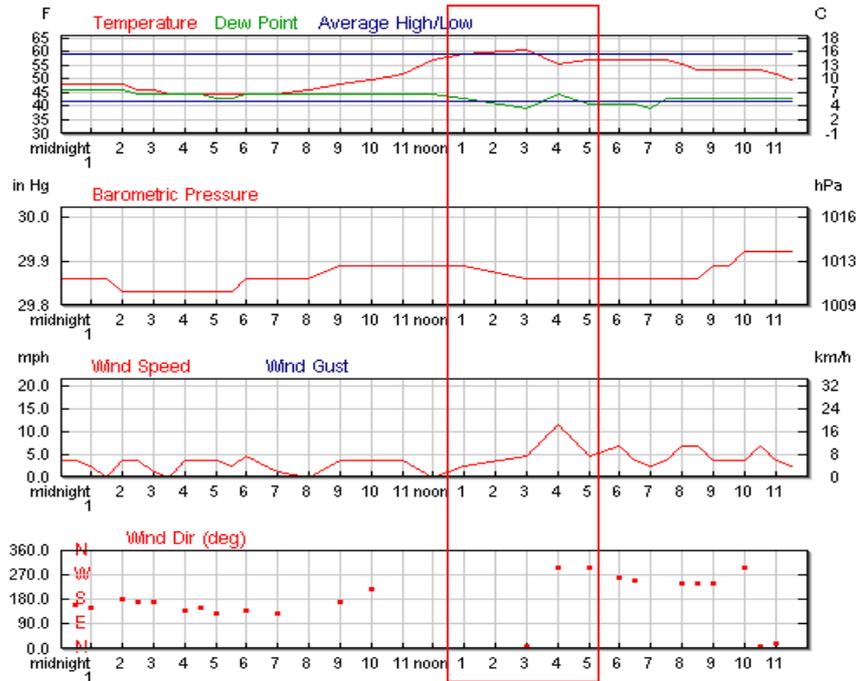


Gráfico 174. Climatología del momento de la aplicación enzimática.

- **Tabla recopilatoria de los datos de los gráficos**

Esta tabla recopila la hora, la temperatura ambiente, la humedad relativa, la presión y las condiciones normales de la calle, durante el tratamiento enzimático. Se ha marcado en rojo, los datos donde los papeles fueron reforzados.

Muestras	Hora	Temperatura	Humedad	Presión al Nivel del Mar	Condiciones Normales
1	15:00	15.0 °C	48%	1012 HPA	Nublado
2	17:00	15.0 °C	55%	1013 HPA	Nublado
3 y 4	12:00	14.0 °C	59%	1018 HPA	Nublado
5 y 6	14:00	15.0 °C	55%	1018 HPA	Nublado
7 y 8	12:00	16.0 °C	55%	1016 HPA	Despejado
9 y 10	14:00	19.0 °C	46%	1014 HPA	Despejado
11 y 12	12:00	19.0 °C	49%	1008 HPA	Parcialmente Nublado
13 y 14	14:00	21.0 °C	43%	1007 HPA	Parcialmente Nublado
15	12:05	18.0 °C	59%	1008 HPA	Parcialmente Nublado
16	13:00	19.0 °C	56%	1008 HPA	Parcialmente Nublado
17 y 18	14:00	20.0 °C	49%	1007 HPA	Parcialmente Nublado
19 y 20	12:00	16.0 °C	52%	1008 HPA	Nublado
21 y 22	14:00	19.0 °C	46%	1006 HPA	Nubes dispersas
23, 24 y 25	12:00	10.0 °C	82%	1010 HPA	Nublado
26, 27 y 28	14:30	15.0 °C	55%	1009 HPA	Nubes dispersas
29 y 30	12:00	14.0 °C	63%	1012 HPA	Nubes dispersas
31	15:00	16.0 °C	45%	1011 HPA	Nubes dispersas

Tabla 16. Datos de la climatología ambiente en el momento de la aplicación enzimática. Se trata de buscar una relación entre la climatología y la efectividad del tratamiento.

Los datos de temperatura, humedad y presión no parecen relevantes. No difieren en exceso o en nada con otros días donde el tratamiento no funciona. Por lo tanto en esta ocasión, se puede decir que la temperatura ambiente no juega un papel

importante en el logro de la consolidación de los papeles con los geles enzimáticos. No obstante, se da el fenómeno que en días más fríos, el tratamiento funciona mejor, por lo que se tendrá muy en cuenta este dato en futuras pruebas.

IV.9.7 Discusión

Se desconoce porqué ha funcionado tan bien el tratamiento en las hojas del libro antiguo y sin embargo en las hojas Fabriano 100% algodón, la resistencia ha disminuido en la mayoría de las ocasiones.

Se debe averiguar el factor que hace que el tratamiento aumente considerablemente la resistencia mecánica de nuestros papeles.

Se reflexionó sobre las diferentes causas:

- El gel no funciona: Se pensó en la posibilidad que algún producto hubiera caducado después de tanto tiempo (3 años). Sin embargo, hemos visto que algunos papeles sí mejoraban su resistencia mecánica. Los mejores resultados para los papeles de Fabriano se han producido con el gel etanol con Reemay y la mayor pérdida de resistencia ha sido con el gel con acetona. No obstante, nunca se habían obtenido resultados tan satisfactorios para los papeles del libro cómo con el gel de acetona. Por lo que contrastaremos esos resultados con el gel etanol y/o acetonitrilo en pruebas sucesivas y descartamos el uso de la acetona para papeles de algodón.
- Los lavados después del tratamiento no son lo suficientemente eficaces. Lo extraño es obtener buenos resultados para los papeles del libro. Si el lavado no funcionara nada, estos papeles también estarían más degradados. De todos modos, el mayor refuerzo de las fibras se ha producido con los lavados de D-cellobiose con H₂O. Por lo que este inhibidor da mejores resultados con agua destilada que con Tampón acetato.
- Los factores externos alteran la actividad reparadora de las muestras. Según los gráficos de la climatología de los días en los que el gel funcionó, la

actividad enzimática no parece alterarse según la temperatura o humedad de ese día. De todos modos, en pruebas anteriores, en los días más fríos, el gel funcionaba mejor.

- Tipo de fibras. Dependiendo del tipo de fibras, el tratamiento enzimático tiene mejores resultados. Se ha pensado en la posibilidad de que el tratamiento sólo funcione con fibras de árbol. Los mejores resultados se obtuvieron siempre en papeles de fotocopiar, fabricados industrialmente y con fibras madereras. Cabe la posibilidad que el efecto reparador de las celulasas funcione en este tipo de fibras y no tanto en las vegetales como el algodón.

IV. 10 Diferentes lavados en el tratamiento

En esta última fase se dio mucha importancia a los lavados, así como a la temperatura durante el tratamiento enzimático. En las pruebas anteriores, se observaron ciertas variaciones en los resultados dependiendo del lavado después del tratamiento. Según los datos de la climatología de aquellos días, la temperatura no tenía nada que ver para que la consolidación del papel con el gel se produjera. Sin embargo, durante toda la investigación, durante los días más gélidos del invierno, los resultados del tratamiento enzimático eran buenos y, durante el verano, la mejora de la resistencia del papel no era tan satisfactoria.

IV.10.1 Preparación de las probetas

Los papeles envejecidos aceleradamente en Leioa, no habían sido envejecidos correctamente. Por este motivo se pidió al INIA que envejeciera aceleradamente los papeles, según la Norma UNE 57092-4 de tratamiento con calor húmedo a 80°C y 65% de humedad relativa.

IV.10.2 Gel

La preparación del gel fue modificada. El disolvente fue el mismo pero se aumentó el sustrato cellobiosyl fluoride: 0,575ml en vez de 0,375 ml.

Una vez preparado el gel se introdujo en el frigorífico, a una temperatura constante de 4°C porque la temperatura ambiente era demasiado elevada. De esta manera se testaba si el gel reparaba a temperaturas bajas. El tratamiento también se efectuó a la misma temperatura. No obstante, algunos papeles permanecieron a temperatura ambiente para poder contrarrestar los resultados.

IV.10.3 Los lavados

Se decidió realizar diferentes tipos de lavados, para observar cuál era el más efectivo para inhibir la acción de las celulasas, una vez el solvente fuese evaporado:

1. Tampón acetato 100%
2. Etanol al 1% en tampón acetato (3 lavados)
3. Etanol al 1% en tampón acetato entre papeles secantes
4. Etanol 100% entre papeles secantes.
5. D-cellobiose 100mM
6. Tpool 3%
7. Hiposulfito sódico al 3%
8. Etanol puro unos segundos y sumergir luego en Etanol al 1% en tampón acetato.

Cada papel fue cortado en fragmentos de 5cm de ancho por 20 cm de largo para poder realizar todos los lavados y efectuar posteriormente una comparativa.

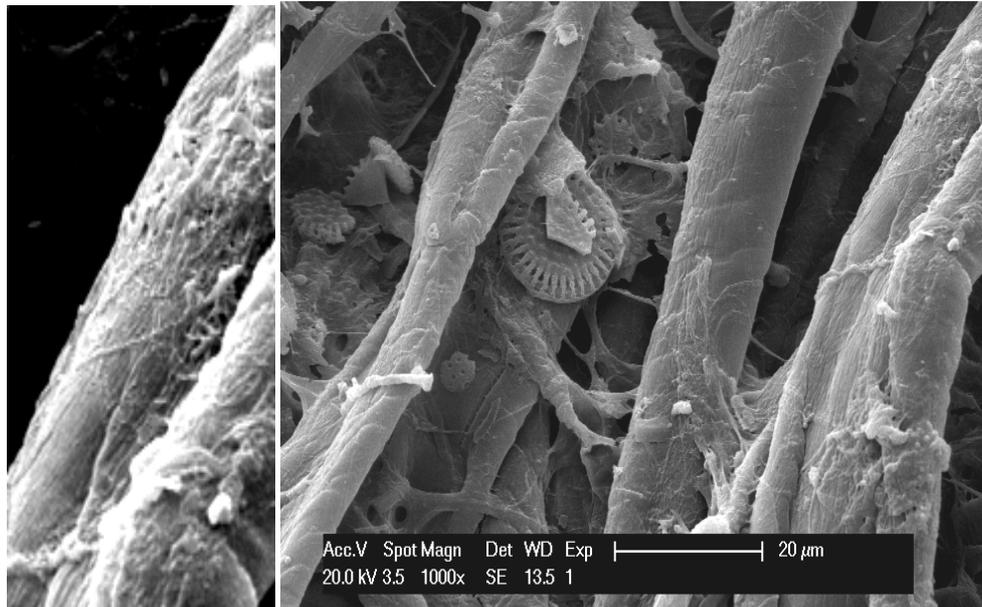
IV.10.4 Resultados

IV.10.4.1 Fotografías SEM de los diferentes lavados de los papeles

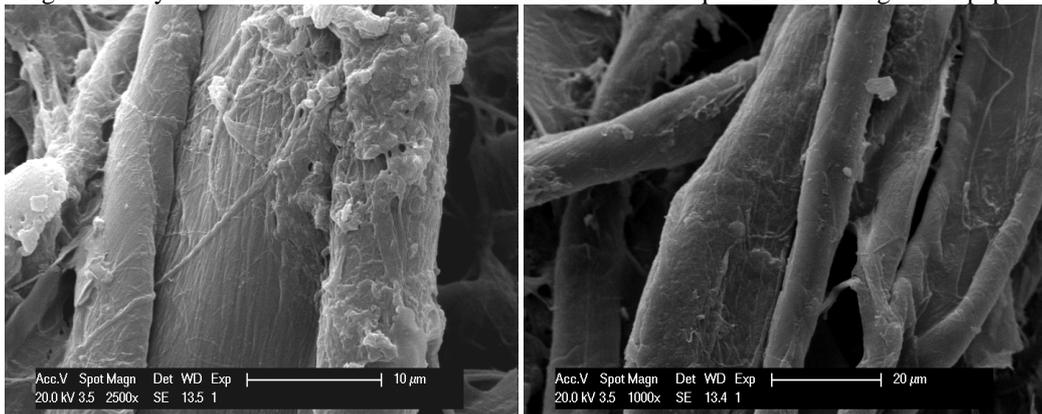
a-Papeles sin policromía

a1- Papel Fabriano sin técnicas pictóricas y sin tratar.

Los papeles blancos fueron degradados según la norma UNE anteriormente descrita. Y posteriormente, se lavaron antes del tratamiento para eliminar cualquier sustancia que pudiera inhibir el tratamiento enzimático. El resultado visto a través del microscopio electrónico fue el siguiente:



Figuras 206 y 207. Fibras de Fabriano. Se observan diatomeas que sirven de carga en el papel.



Figuras 208 y 209. Fibras del papel 100% algodón de Fabriano. La fotografía fue tomada después de degradar las fibras y lavarlas antes del tratamiento. La fibra de arriba a la izquierda es una ampliación de una fibra de algodón.

Se observa que existen diatomeas [Figura 207]. Estas algas microscópicas que aparecen en diferentes fotografías podrían ser *Cyclotella meneghiniana* ^[450]. La industria papelera las añade al papel como carga y de esta manera mejoran sus

⁴⁵⁰ Las diatomeas poseen estructuras silíceas (conchas), con muchos agujeros en su estructura que provocan reflexiones de la luz. Dependiendo de su orientación muestran diferentes gamas de colores.

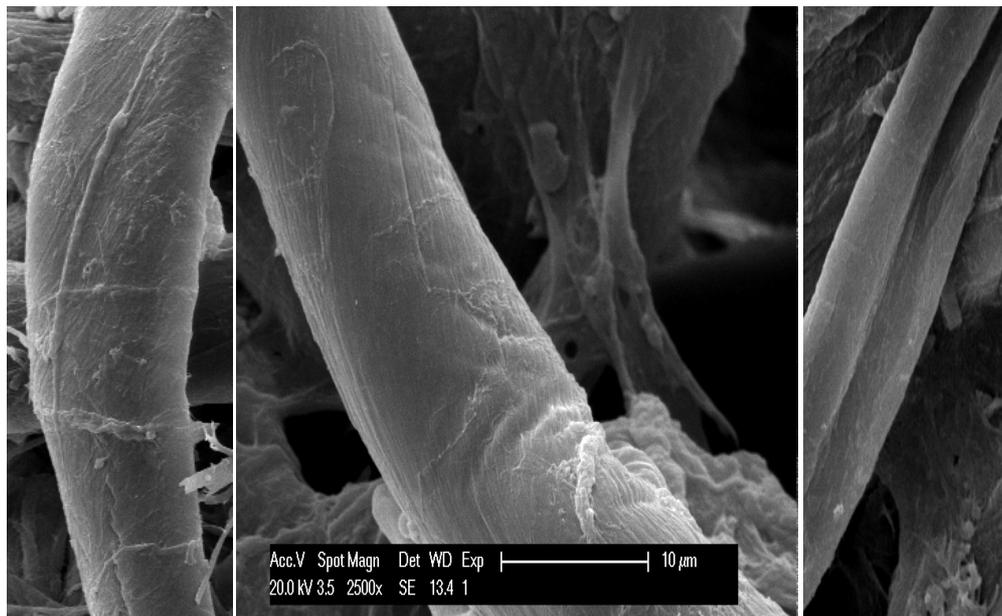
Puede que esta diatomea sea una *Cyclotella meneghiniana*, aparece una imagen parecida en <http://es.wikipedia.org/wiki/Diatomea> y <http://www.bgsu.edu/departments/biology/algae/index.html>. http://www.google.es/imgres?imgurl=http://museovirtual.csic.es/salas/micros/imagenes/fot15.jpg&imgrefurl=http://museovirtual.csic.es/salas/micros/m17.htm&usq=__9K20dh3OJrN_eO4G3POWqfxgFSc=&h=305&w=300&sz=12&hl=es&start=6&um=1&itbs=1&tbnid=5-r12MQwRI6ujM:&tbnh=116&tbnw=114&prev=/images%3Fq%3DCyclotella%2Bmeneghiniana,%26um%3D1%26hl%3Des%26rlz%3D1T4TSEH_es__ES362%26tbs%3Disch:1 y http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=32146&sk=0&from=results.

propiedades ópticas al conferirles más blancura, opacidad y homogeneidad al color. También sirven para dar mayor estabilidad dimensional, abaratar el coste de la producción y rellenar las irregularidades de la superficie para mejorar la imprimación. No obstante, las cargas disminuyen la resistencia mecánica porque se sitúan en las uniones entre las fibrillas de la celulosa.

a-2 Lavado1, tampón acetato 100%

- Tratamiento enzimático con Reemay

Las próximas fotografías SEM han sido realizadas después del tratamiento enzimático.



Figuras 210, 211 y 212. Fotografías de tres fibras tratadas con el gel enzimático y lavadas con Tampón acetato 100%

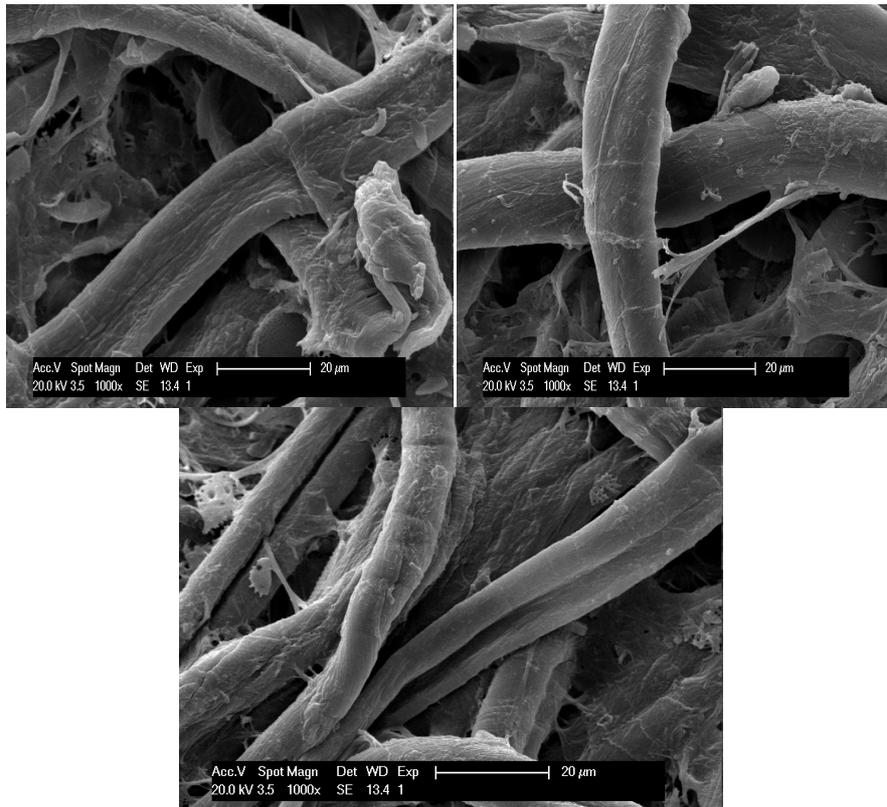


Figura 213, 214 y 215. Fotografías del estado del papel Fabriano tratado con el gel enzimático y lavado con tampón acetato.

- Tratamiento enzimático sin Reemay

Las siguientes fotografías SEM muestran el resultado del tratamiento enzimático de etanol con el gel y sin Reemay. Observamos en algunas fibras restos del gel.

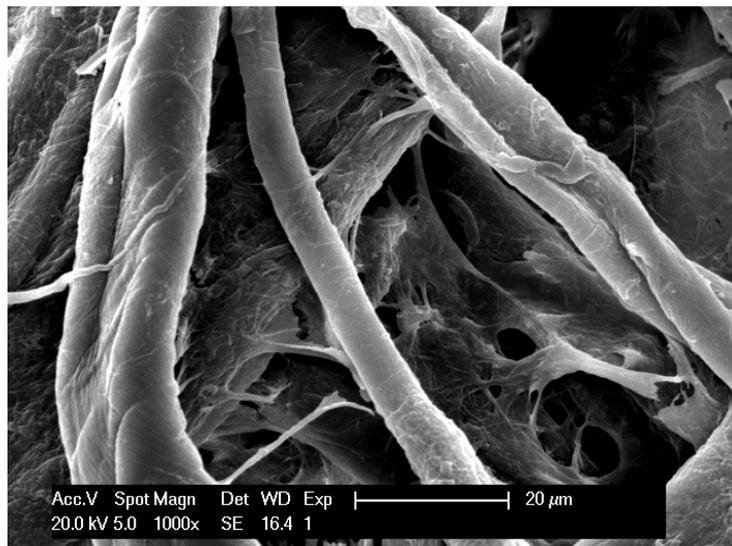
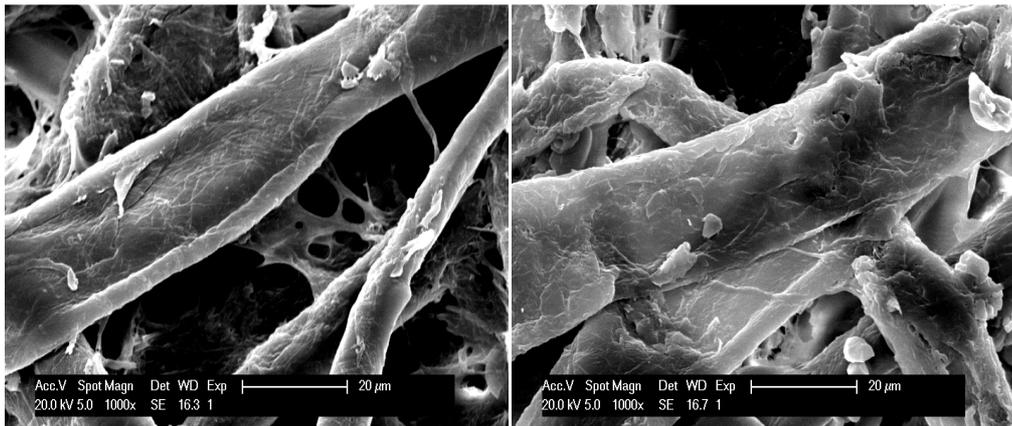


Figura 216. Fibras tras el tratamiento enzimático sin Reemay



Figuras 217 y 218. Fotografías de las fibras de algodón después del tratamiento enzimático sin Reemay y lavadas con el tampón acetato.

Comentario:

Tras múltiples fotografías, es evidente que las fibras quedan más limpias y con mejor aspecto físico después de un tratamiento enzimático -ya sea con etanol o con acetónitrilo- con Reemay. Por lo tanto es fundamental el uso de este tejido no tejido durante el tratamiento.

α-3 Lavado 2, tampón acetato más etanol 1% (3 lavados).

A continuación mostramos diferentes fotografías. Las dos primeras son dos fibras de algodón tratadas con el gel enzimático y con Reemay:

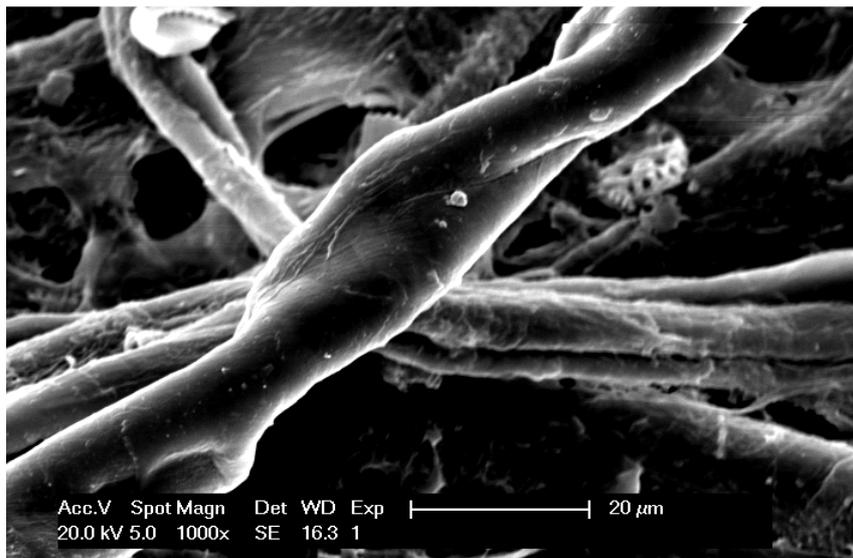


Figura 219. Fibras de algodón después del tratamiento enzimático y lavado 2.

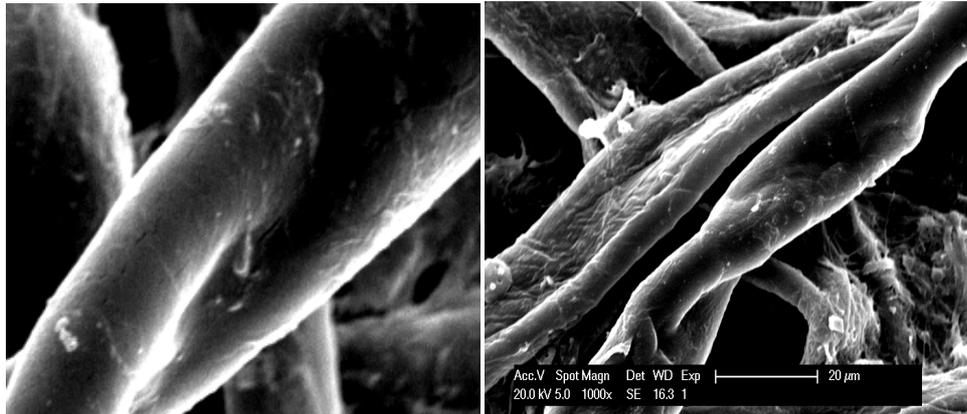


Figura 220 (izquierda) Detalle de una fibra.

Figura 221 (derecha) Fibras de algodón.

- Tratamiento sin Reemay:

Las siguientes fotografías muestran el resultado del tratamiento sin Reemay. Observamos claramente la existencia de restos de gel.

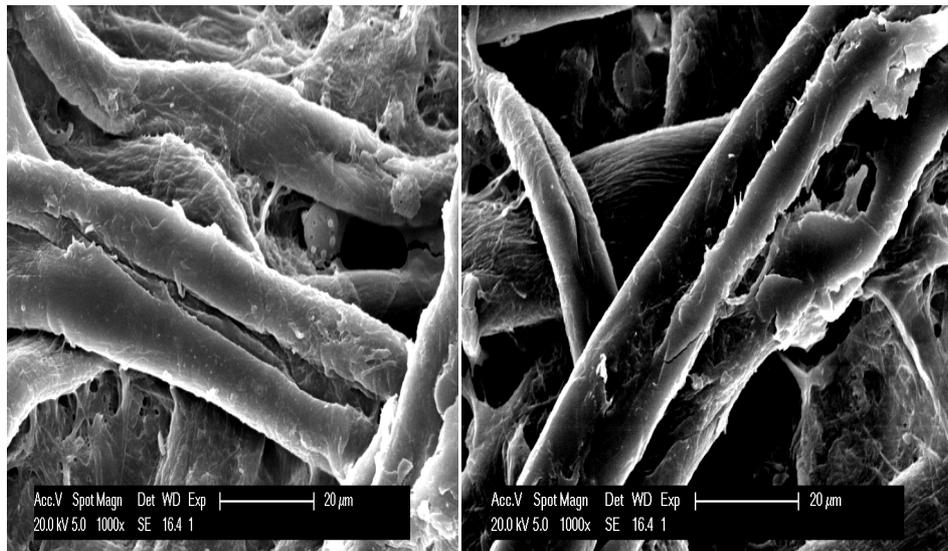


Figura 222. Fibras con restos de gel enzimático.

- Resultado del mismo tratamiento en otras fibras:

Algunos de los papeles tratados mostraban fibras con peor aspecto.

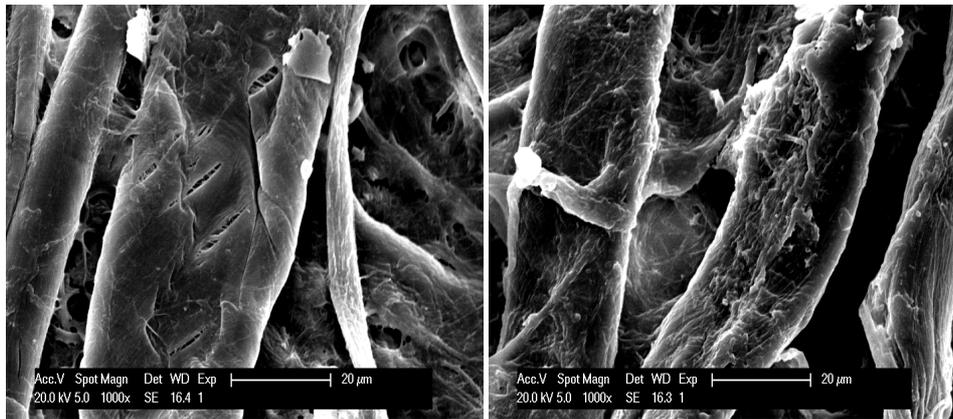
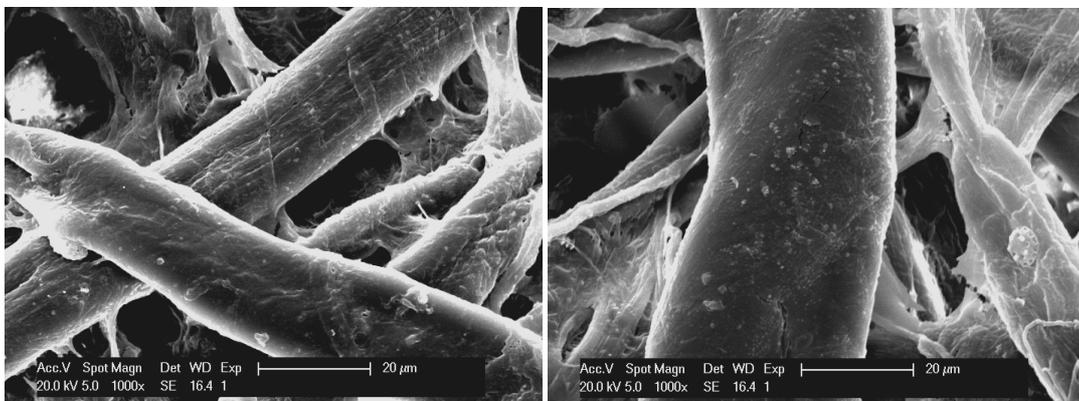


Figura 223. Fibras con peor aspecto que en fotografías anteriores.

El tratamiento enzimático con el lavado 2 – tampón acetato y etanol al 1%- no tiene tan buenos resultados como en otros lavados, algunas fibras aparecen con el aspecto que se ve. Por lo tanto se descarta este lavado.

a-4 Lavado 4, 100% etanol entre papeles secantes

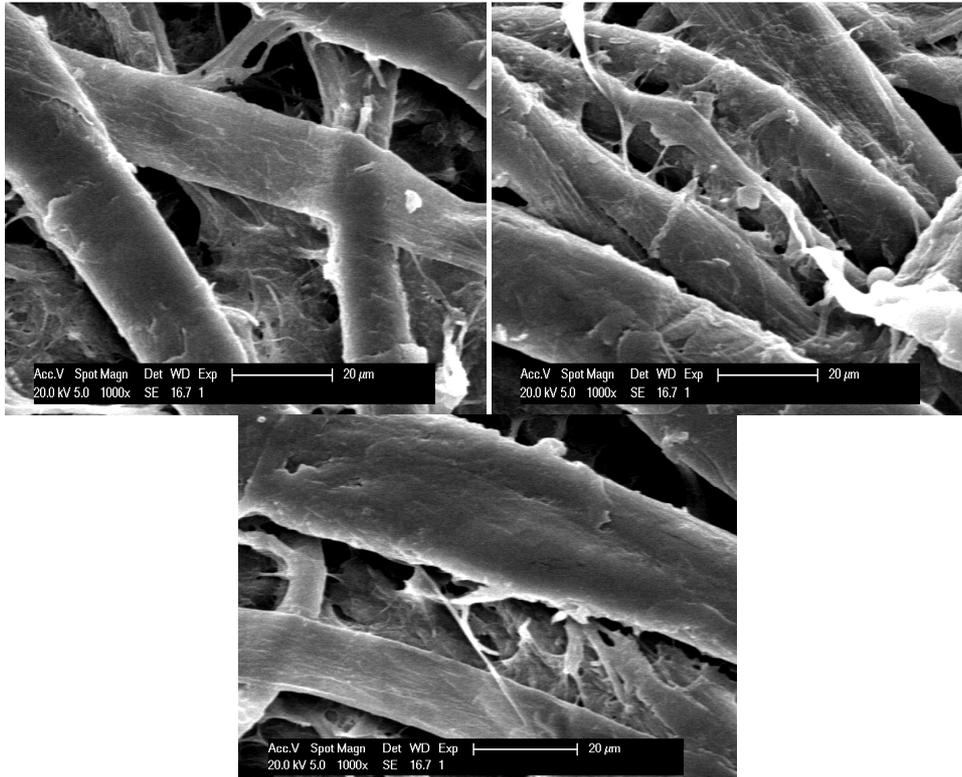
Las siguientes muestras muestran el estado de las fibras después del tratamiento enzimático y el lavado 4 con papeles secantes. Al no aclarar los papeles, las fibras aparecen con pequeñas partículas.



Figuras 224 y 225. Fibras de algodón después del lavado entre papeles secantes embebidos con etanol 100%.

a-5 Lavado 6, Tpool 3% blanco

Las siguientes fotografías muestran el estado de las fibras del papel Fabriano, después del tratamiento enzimático y el lavado 6 con Tpool al 3% en agua destilada.



Figuras 226, 227 y 228. Fibras lavadas con Tpool al 3% en H₂O después del tratamiento enzimático.

a-6 Lavado 7, Hiposulfito sódico al 3%

Las imágenes captadas por el microscopio electrónico de barrido, revelan el verdadero estado de las fibras.

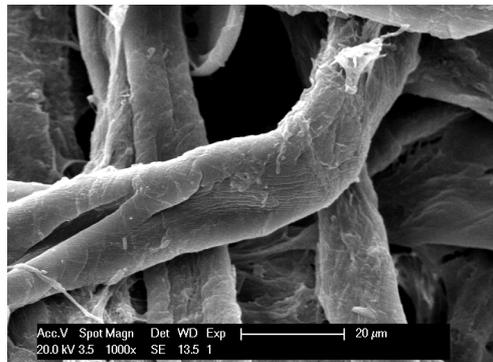


Figura 229. Fibra de algodón tras el tratamiento enzimático y lavado 7

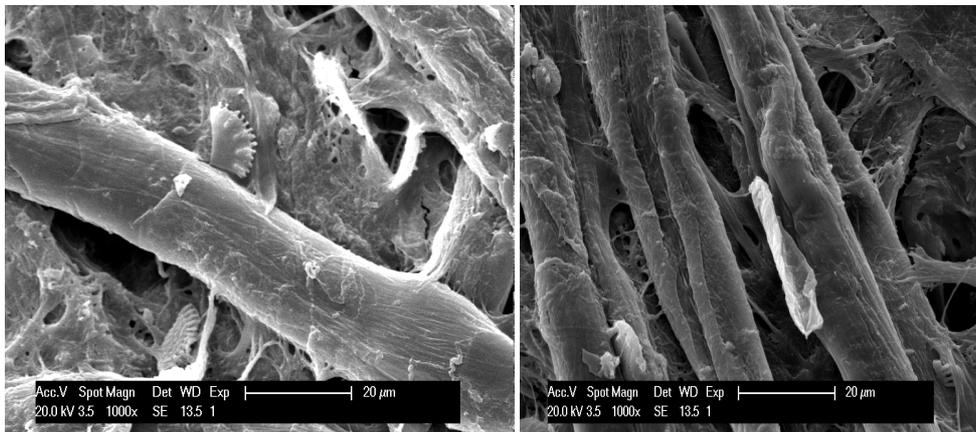


Figura 230 y 231. Fotografías de algunas fibras de algodón tras el tratamiento enzimático y lavado 7.

Comentario:

Aparentemente este lavado no es el más adecuado para inhibir la acción de las enzimas. Se debe esperar a los resultados de los test mecánicos para saber si son reforzadas mecánicamente las fibras.

a-7 Lavado 8

Este tratamiento consiste en introducir rápidamente la hoja en etanol 100% unos segundos y aclarar rápidamente en tampón acetato y etanol al 1% durante unos minutos. El resultado se ve a continuación en las fotografías SEM.

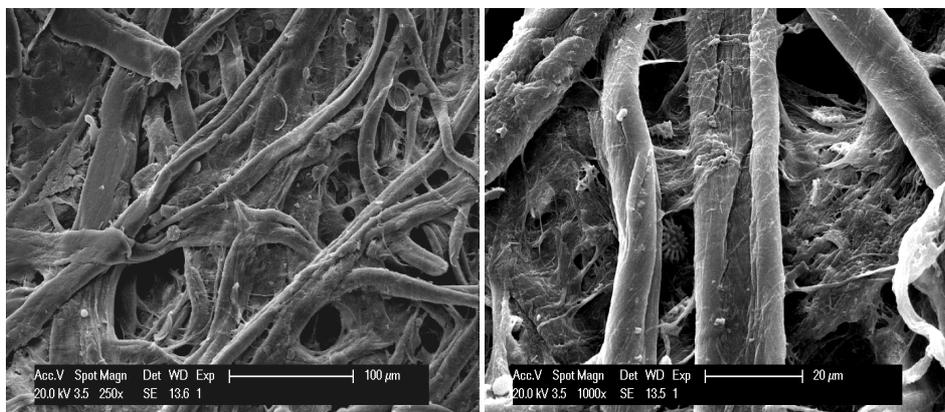


Figura 232 (izq.) Fotografía general del estado del papel tras el tratamiento 8.

Figura 233. (Dcha.) Fotografía de unas fibras de algodón después del lavado 8.

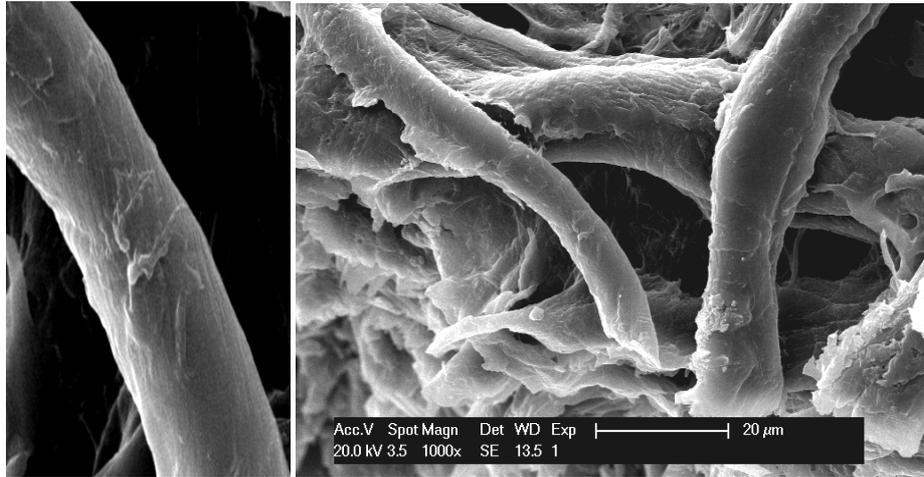


Figura 234 y 235. Fotografías de unas fibras de algodón después del lavado 8.

a-8 Tabla recopilatoria

Con esta tabla se pretende comparar las fibras de celulosa para observar cuál es el lavado más adecuado.

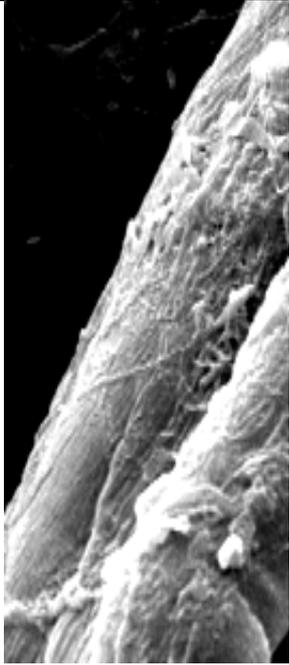
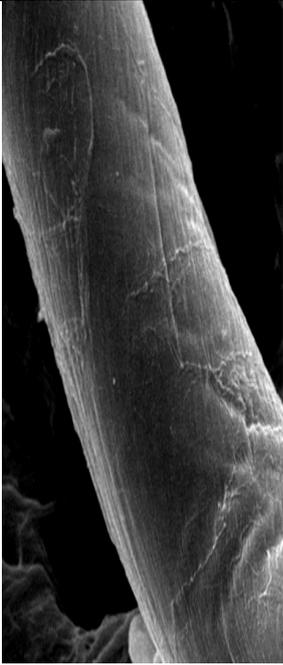
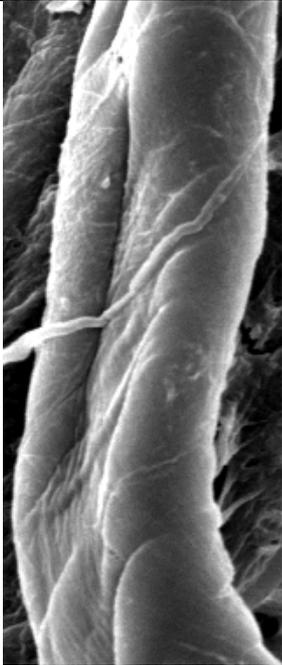
		
Fibra sin tratar pero lavada con agua destilada	Fibra lavado1 con Reemay	Fibra lavado 1 sin Reemay

Tabla 17. Comparación de diferentes tratamientos enzimáticos en las fibras de celulosa.

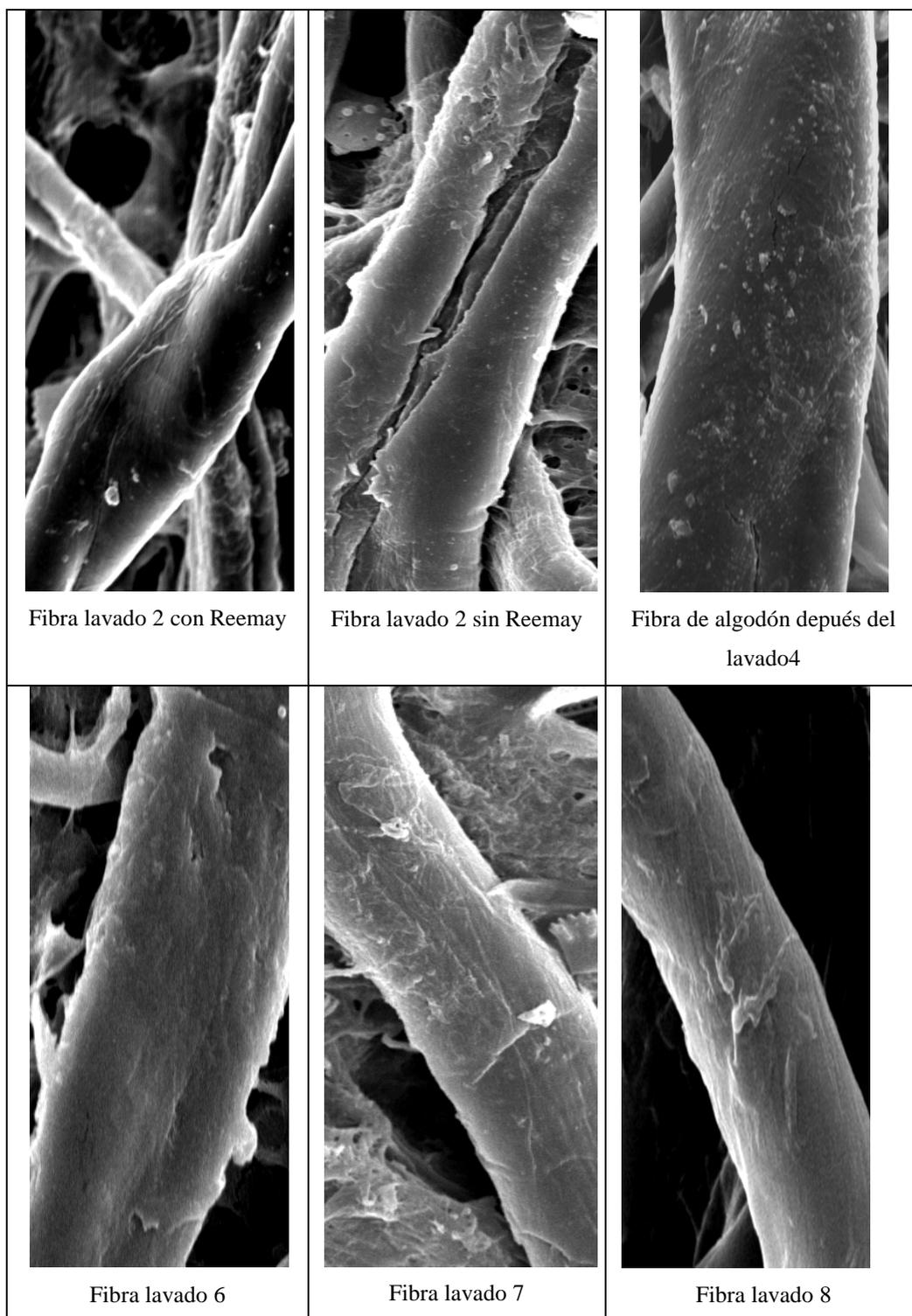


Tabla 17 (continuación). Resultado de los diferentes lavados en las fibras celulósicas.

Aparentemente los mejores lavados son el primero y el segundo pero hay que cerciorarse con otras pruebas para dar una conclusión exacta.

b- Tratamientos en papeles con policromía

b-1 Lavado 1, tampón acetato 100 %.

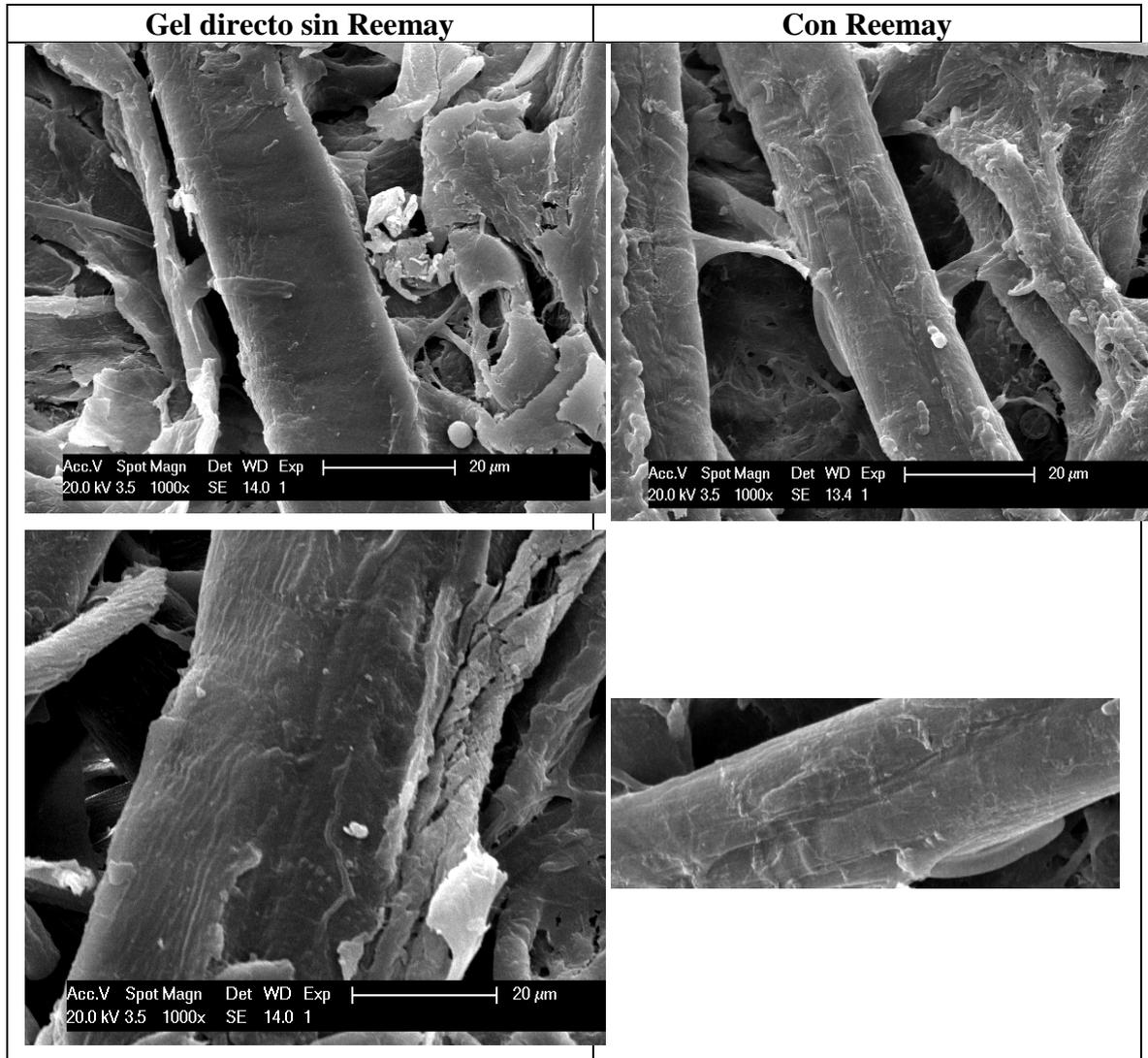


Tabla 18. Fotografías de microscopía electrónica de barrido de los papeles con policromías tratados con el gel con y sin Reemay, y lavados con 100% tampón acetato.

Este gel de etanol sin Reemay tiene peores resultados que el gel de acetonitrilo y obviamente los papeles con el tejido no tejido presentan mejor aspecto.

b-2 Lavado 2, tampón acetato más etanol 1%, en papel con policromía acrílica amarilla.

A continuación, mostramos en otra tabla los resultados del tratamiento con y sin Reemay y lavado dos.

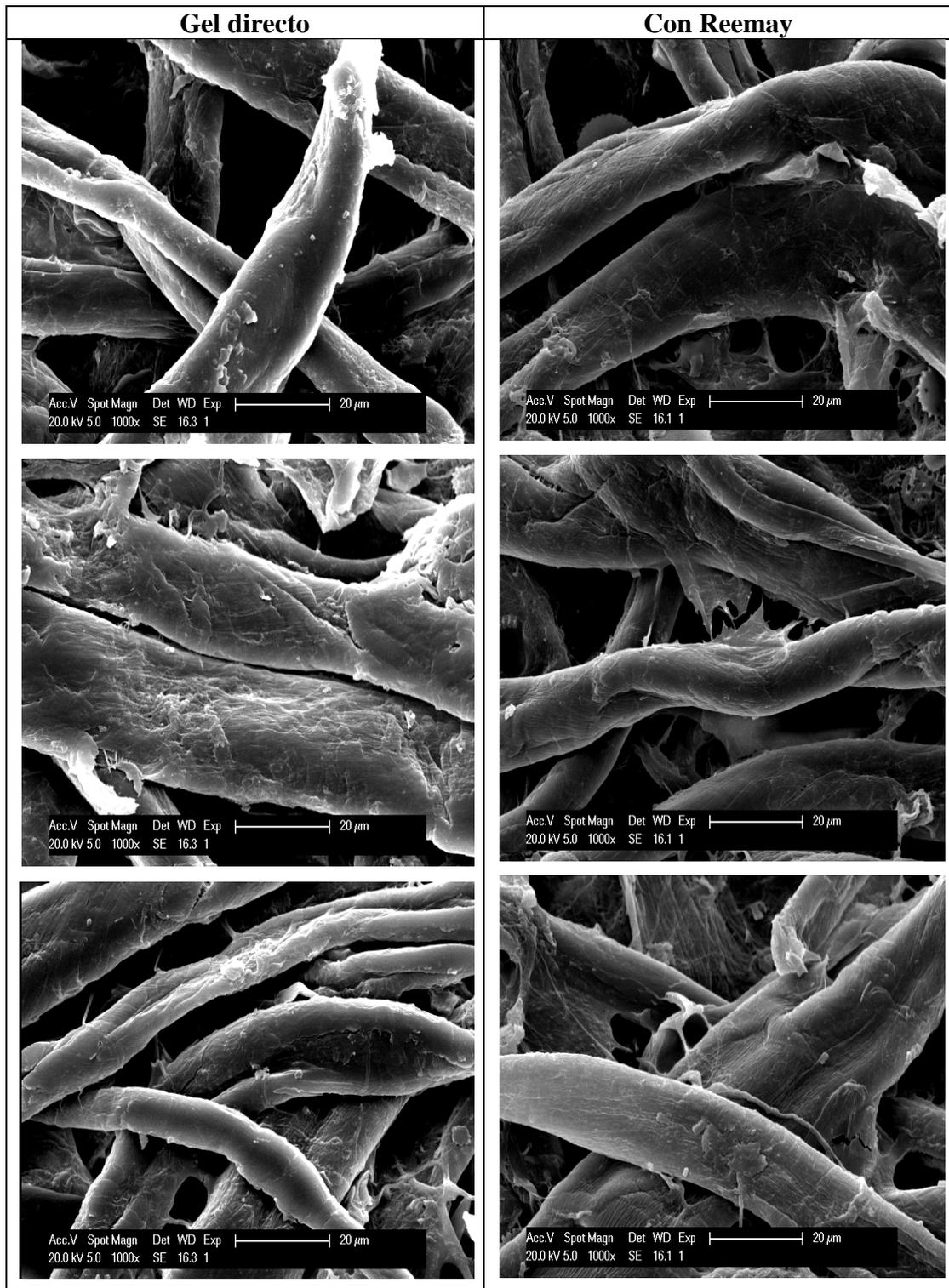


Tabla 19. Tabla comparativa del tratamiento con y sin Reemay, y el lavado2.

La diferencia entre el tratamiento de las fibras con o sin tejido no tejido, reside en la limpieza final que se ve en las fotografías.

- **Comparativa entre lavados uno y dos**

Una comparativa entre los lavados, papeles con y sin técnica y, el efecto del tratamiento con y sin Reemay, era necesario. Por este motivo se realizó la tabla siguiente:

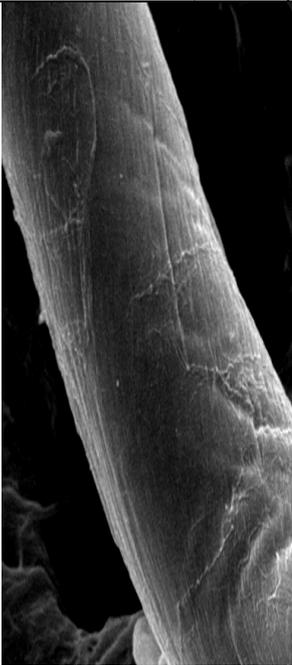
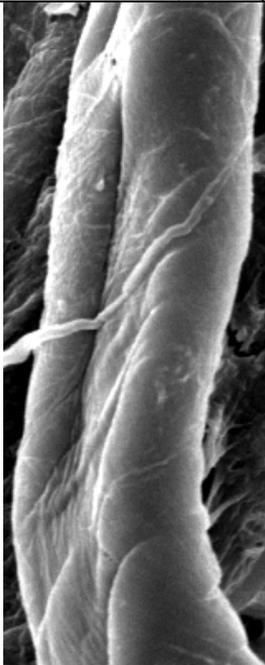
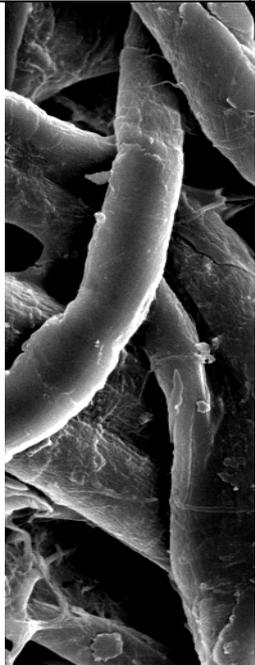
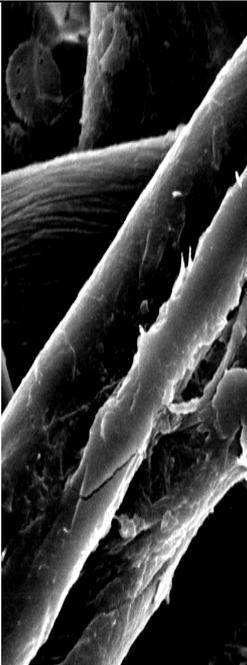
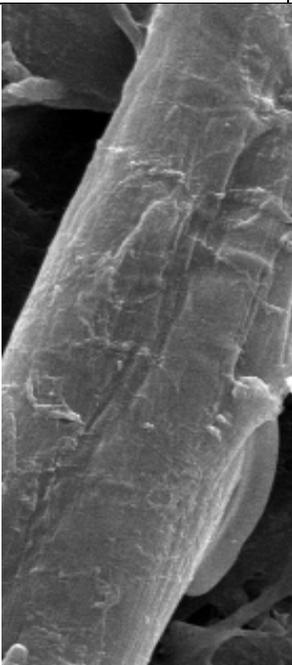
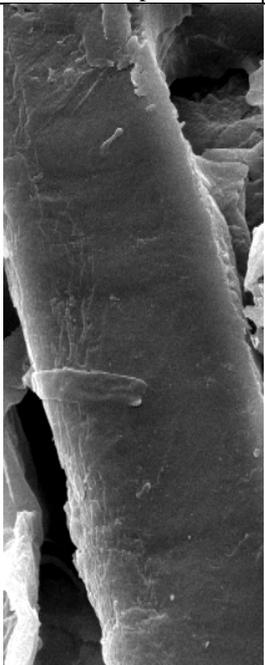
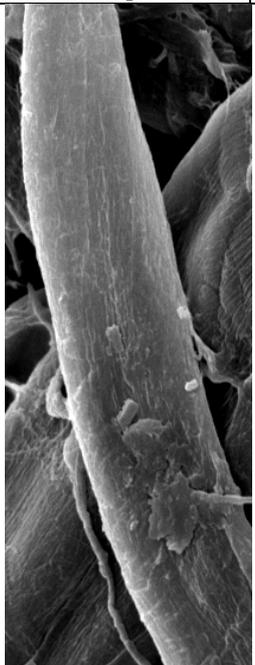
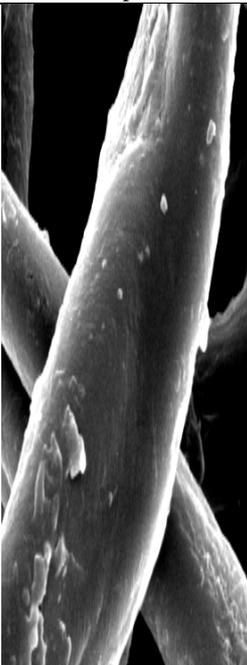
Fibra lavado1 con Reemay	Fibra lavado 1 sin Reemay	Fibra lavado2 con Reemay	Fibra lavado 2 sin Reemay
			
Sin técnica pictórica	Sin técnica pictórica	Sin técnica pictórica	Sin técnica pictórica
			
Con técnica pictórica	Con técnica pictórica	Con técnicapictórica	Con técnica pictórica

Tabla 20. Tabla comparativa de los lavados uno y dos, con y sin Reemay.

No parece que exista una gran diferencia entre el tratamiento con o sin Reemay en los papeles con o sin técnica pictórica. No obstante, tanto unas fibras como otras, poseen buen aspecto, por lo que el tratamiento aparentemente tiene buenos resultados.

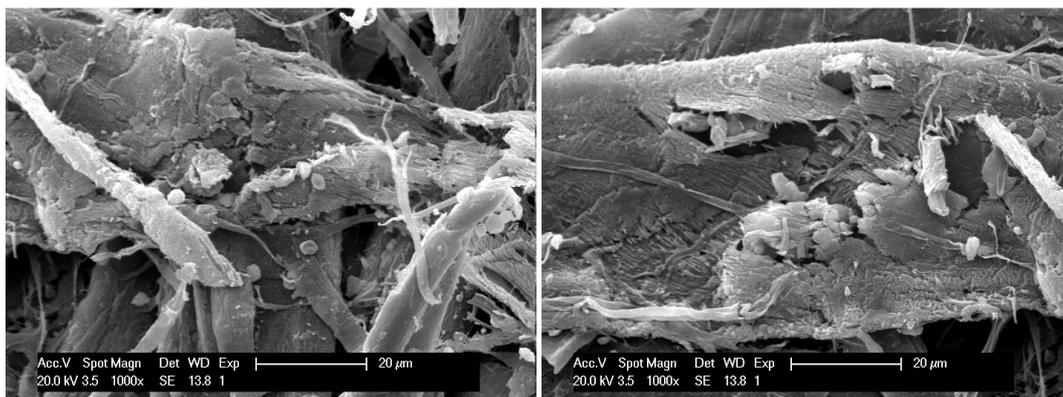
Por estas razones, es de suma importancia realizar otro tipo de test para poder realizar unas conclusiones. Pero antes, se debe realizar más fotografías SEM de las otras fibras.

c- Libro antiguo

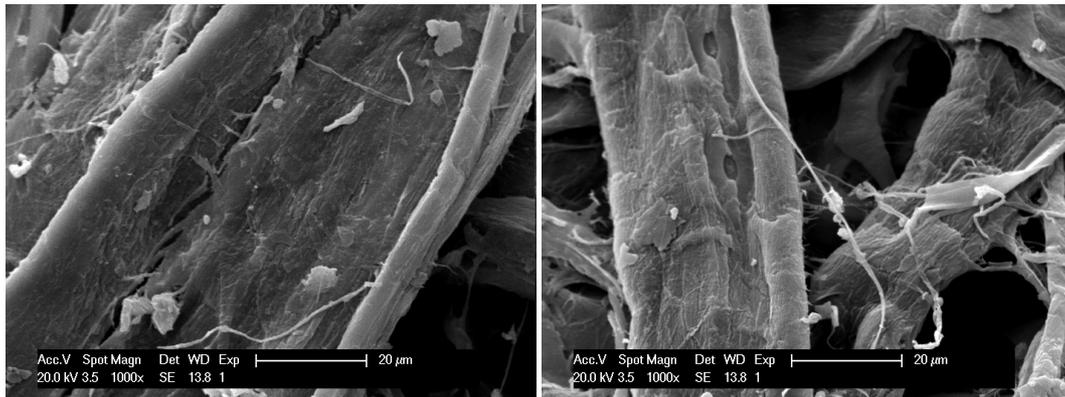
El libro fue tratado y lavado de la misma manera que los papeles de Fabriano. Las siguientes fotografías SEM muestran el estado de las fibras antes del tratamiento.

c-1 Libro sin tratar

Las próximas fibras pertenecen al libro antiguo del siglo XX, sin valor sentimental, artístico o histórico. Encontramos fibras muy degradadas y otras con mejor estado físico.



Figuras 236 y 237. Fibras muy deterioradas del libro del sigloXX. Las fibras estaban sin lavar ni tratar.

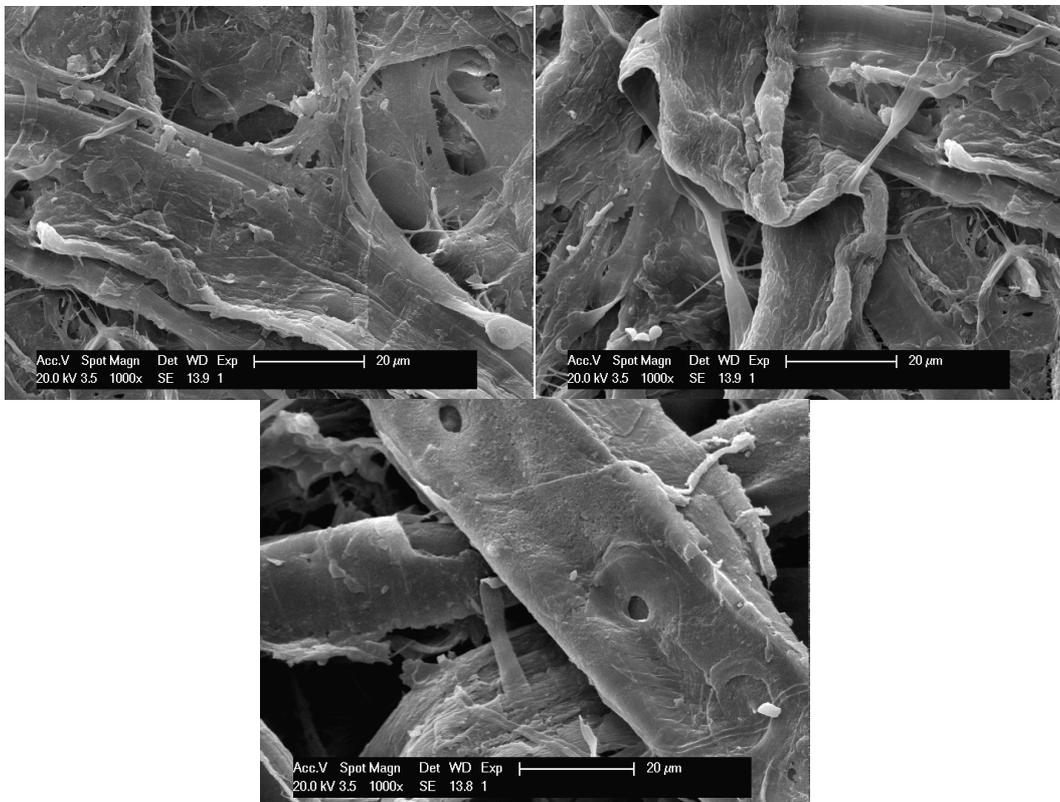


Figuras 238 y 239. Otras fibras del libro con mejor aspecto, que están sin tratar.

c-2 Libro sin tratar lavado

Antes del tratamiento se decidió realizar unos lavados con agua destilada para observar el efecto de la limpieza del agua y la restitución de los puentes de hidrógeno en las fibras de papel.

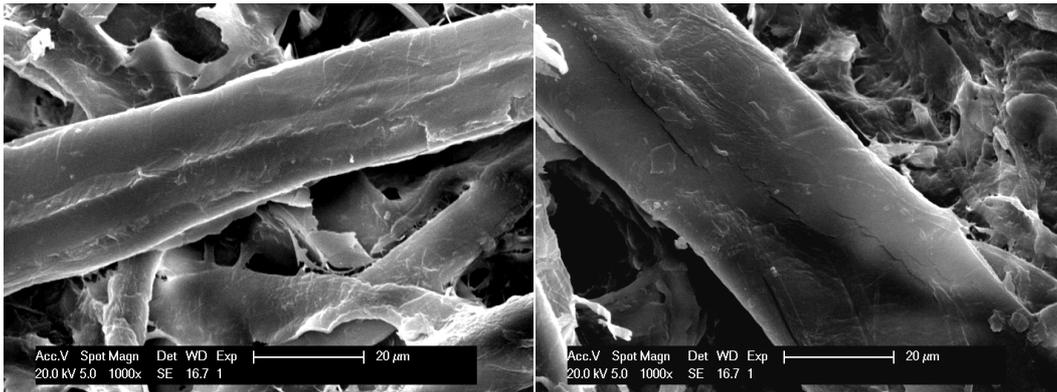
Estos lavados como se puede observar mejoran bastante el estado del papel.



Figuras 240, 241 y 242. Fibras del libro lavadas pero sin tratar con el gel enzimático.

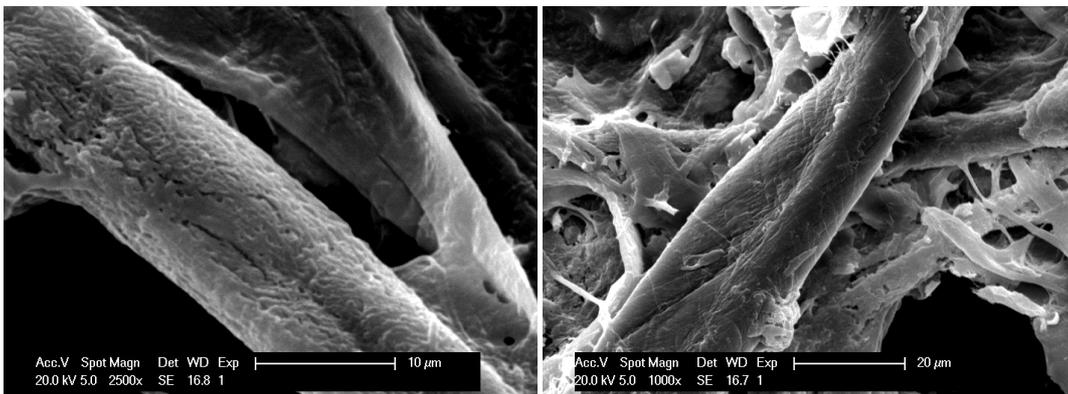
c-3 Lavado1, 100% tampón acetato

El primer lavado fue realizado según la metodología explicada con anterioridad. En las fibras de algodón la mejora del estado de la fibra es evidente, en las fibras madereras lo vamos a ver a continuación:



Figuras 243 y 244. Fibras madereras lavadas con 100% tampón acetato.

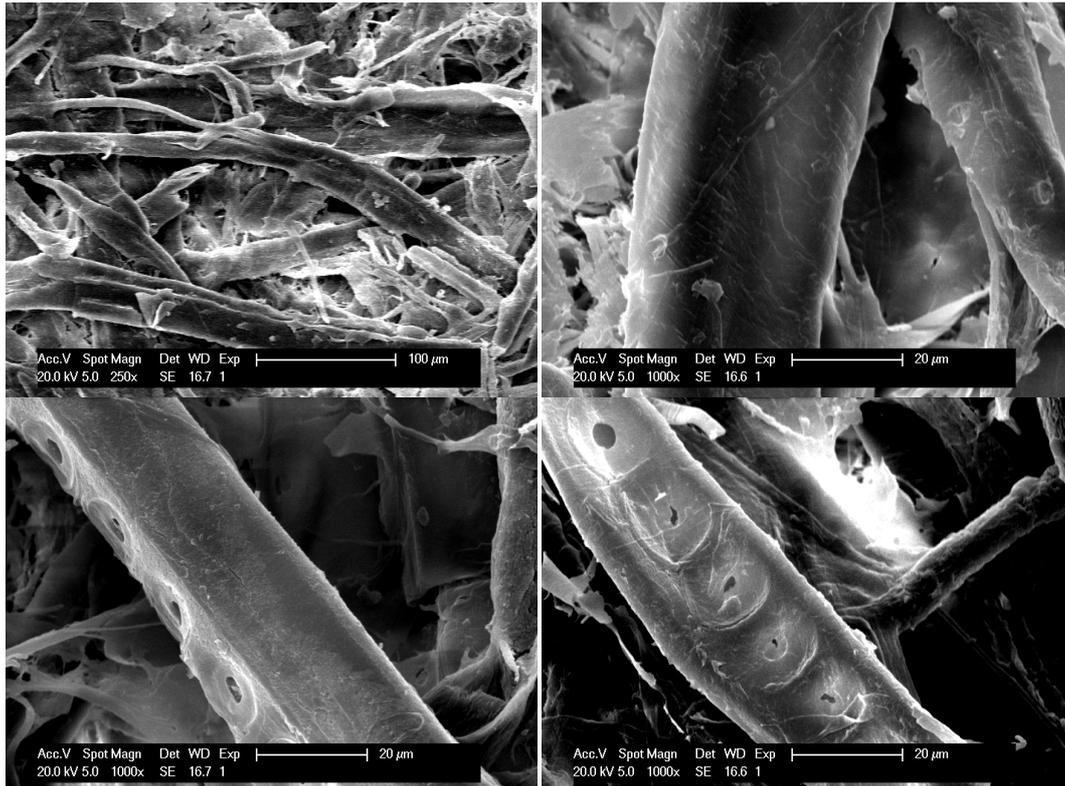
Comparando estas fibras con las no tratadas, es evidente que existe una recuperación física de las fibras. No obstante, se han fotografiado otras fibras (ver las siguientes fotografías SEM) con un peor aspecto. Se puede pensar que estas fibras estaban en muy mal estado y que el tratamiento las consolida hasta cierto punto, pero no recuperan el aspecto de cuando eran nuevas.



Figuras 245 y 246. Fibras de madera tratadas con el tratamiento enzimático y lavado 1.

c-4 Lavado 2, tampón acetato más etanol 1% (3 lavados).

El lavado con etanol al 1% en tampón acetato, no obtuvo los mejores resultados en las fibras de algodón. Sin embargo, las próximas fibras del libro presentan muy buen aspecto después del tratamiento enzimático con Reemay.



Figuras 247, 248, 249 y 250. Fibras del libro después del tratamiento enzimático con Reemay y lavado2.

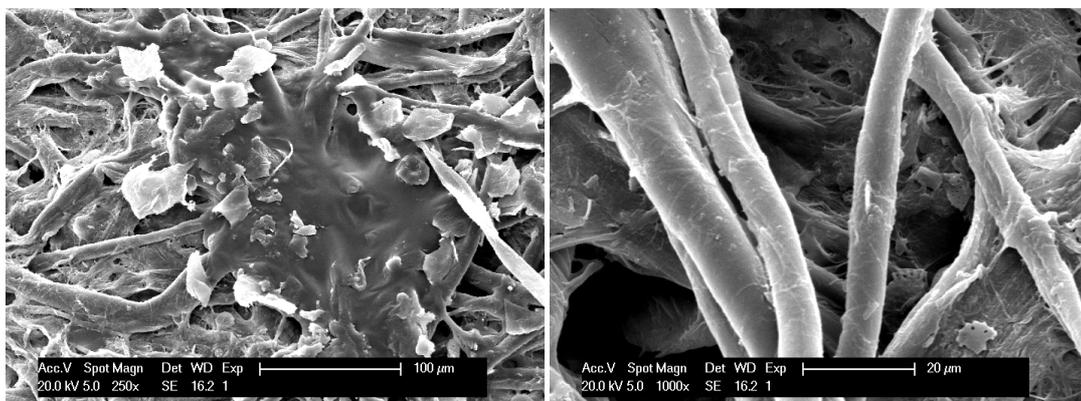
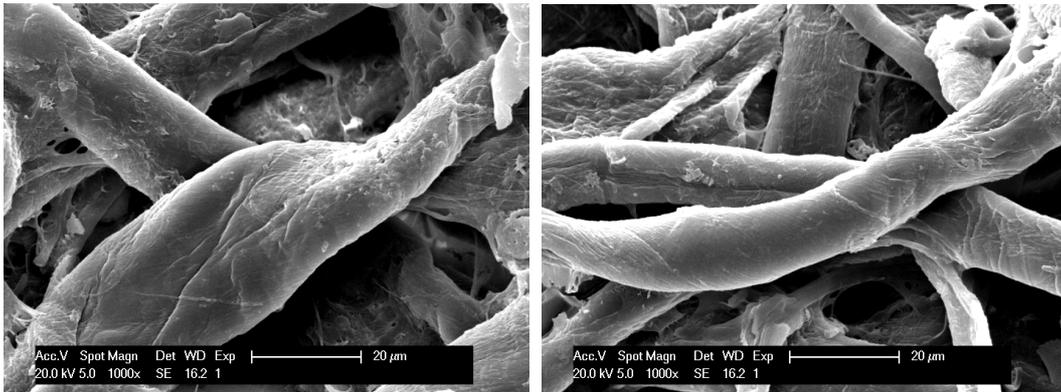


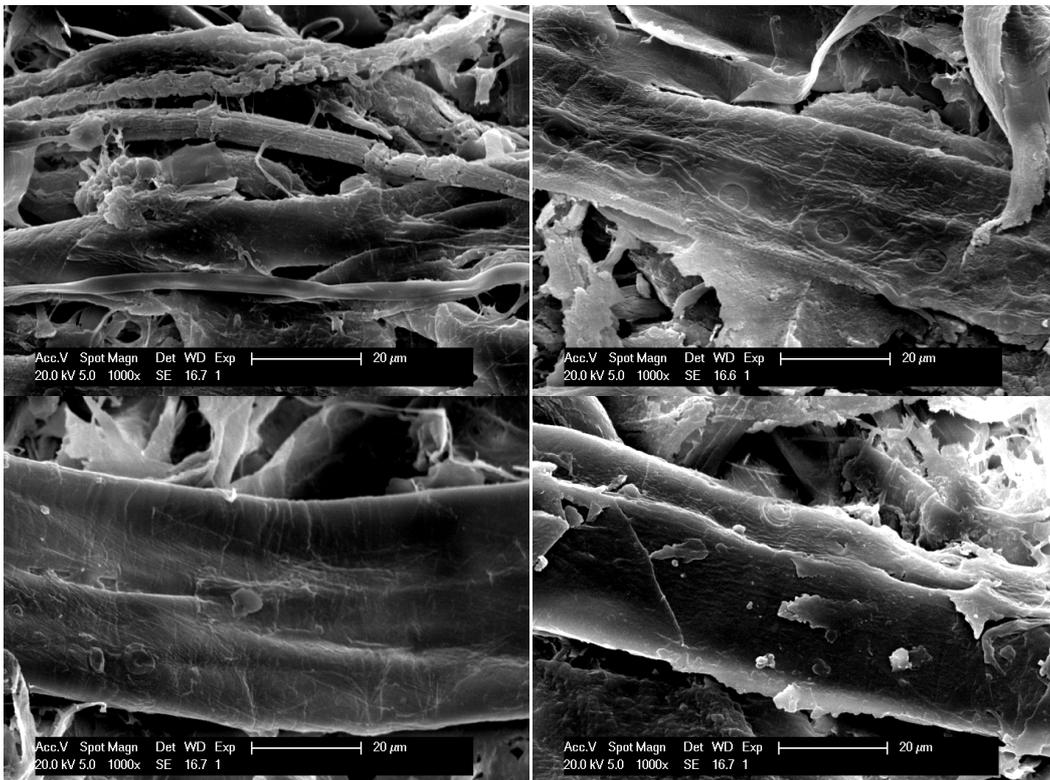
Figura 251 (Izq.) Fibras del libro con tinta de escribir empleada para la escritura del texto del libro. Figura 252 (Dcha). Detalle de las fibras después del tratamiento con Reemay y lavado con tampón acetato y etanol al 1%.



Figuras 253 y 254. Fibras del libro del sigloXX después del tratamiento enzimático.

- Libro lavado 2 gel directo

Las siguientes fotografías muestran las fibras después de un tratamiento enzimático sin Reemay, es decir el gel permanece en contacto durante todo el tratamiento, y los lavados son efectuados con tampón acetato y etanol al 1%.

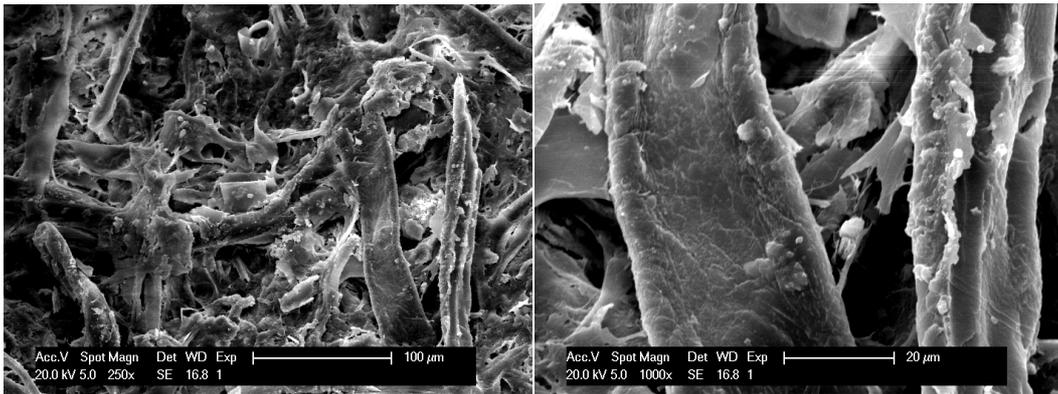


Figuras 255, 256, 257 y 258. Fibras tratadas con el gel enzimático y lavadas con tampón acetato y etanol al 1%.

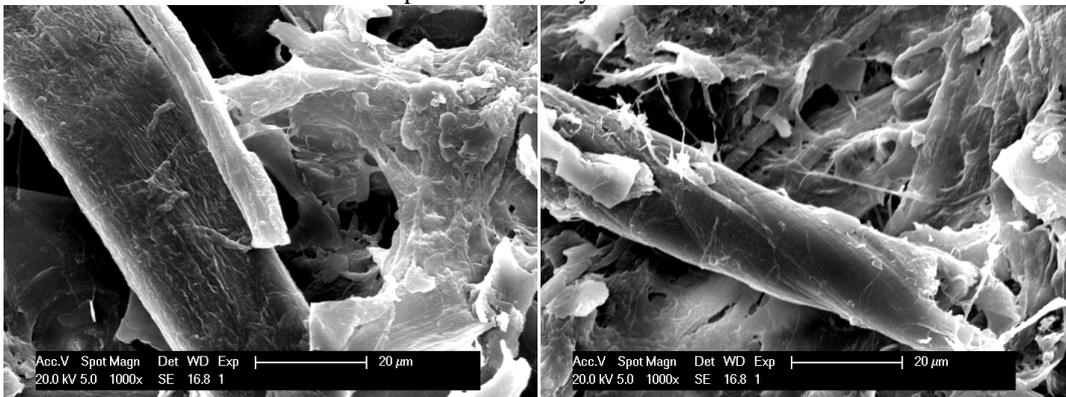
Se observa que existen restos de gel sobre las fibras. Por lo tanto es importante separar el gel con el tejido no tejido durante el tratamiento enzimático.

c-5 Lavado 4, 100% etanol entre papeles secantes

En el papel de algodón, el resultado para el tratamiento enzimático con el lavado número 4, era aceptable. Sin embargo, el aspecto de las fibras del libro no es el más óptimo como se puede ver a continuación.



Figuras 259 y 260. Fibras tratadas con el gel enzimático y lavadas con etanol entre papeles secantes. Estas fibras parecen reseca y con cierta suciedad.



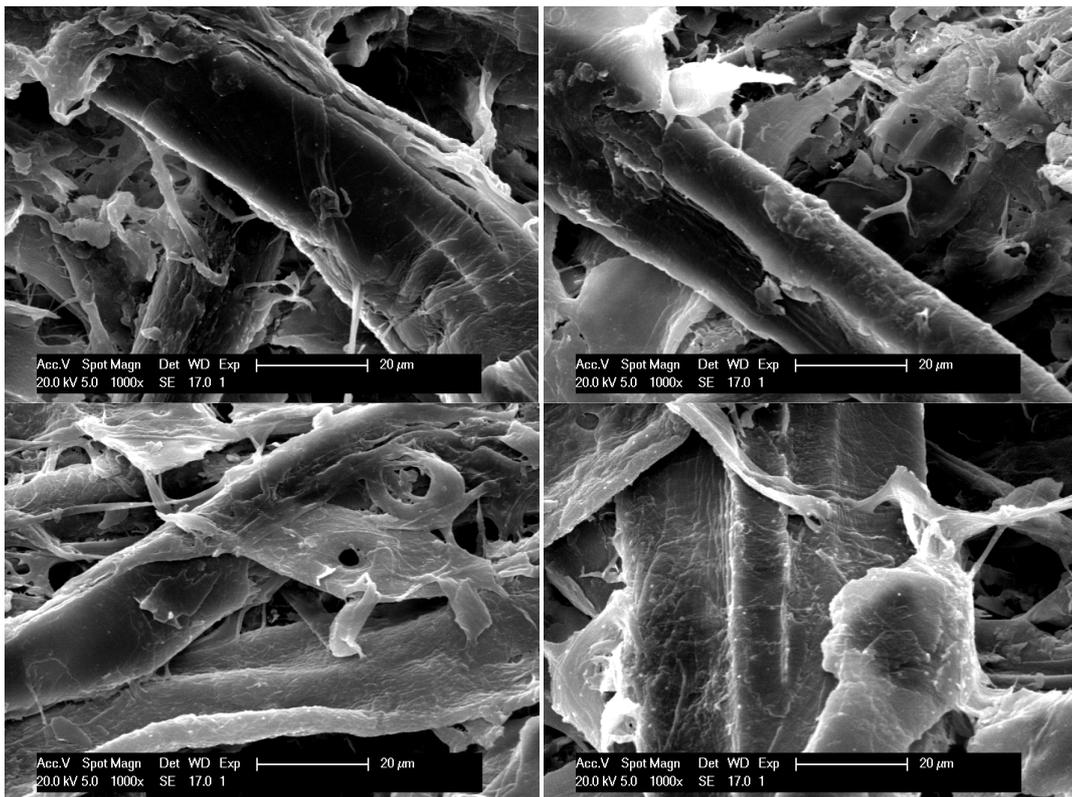
Figuras 261 y 262. Fibras tratadas con el gel enzimático y lavadas con etanol entre papeles secantes. En estas dos fotografías

Comentario

El aspecto en general de las fibras es peor que con otros lavados. Las fibras parecen muy degradadas y el estado del papel parece bastante sucio y degradado. Por lo tanto, queda descartado su empleo en papeles de fibra maderera.

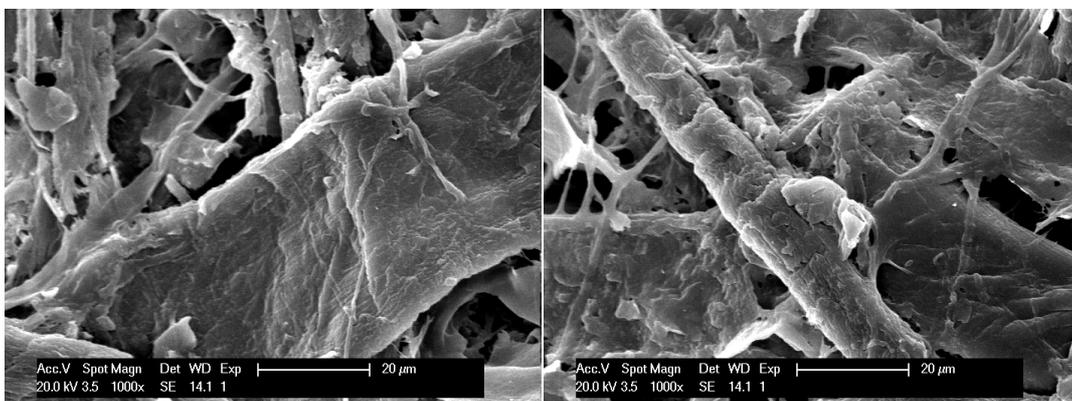
c-6 Lavado 5, D-cellobiose 100mM

La D-cellobiose es un inhibidor de la actividad enzimática de las celulasas. Con este lavado se trata de inhibir y arrastrar los restos de celulasas que permanezcan después del tratamiento enzimático. Las siguientes fotografías muestran los resultados.



Figuras. 263, 264 264 y 266. Fibras en aparente buen estado, después del tratamiento con el inhibidor.

No obstante, también se encontraron las siguientes fibras que estaban en peor estado.



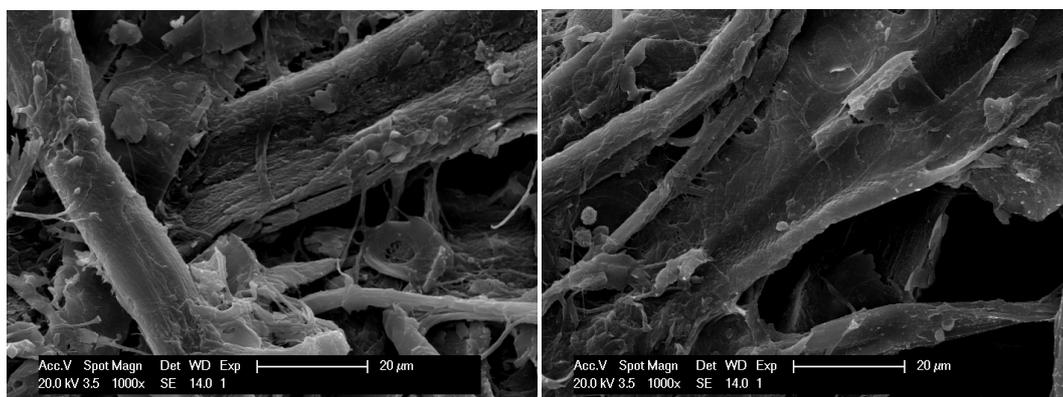
Figuras 267 y 268. Fibras del libro del siglo XX después del tratamiento con el gel enzimático y el lavado con el inhibidor D-cellobiose a 100mM.

Comentarios:

Se ve que existen fibras que han recuperado un aspecto bueno pero que en otras, la superficie de la fibra sigue siendo irregular y, la fibra parece degradada y quebradiza. Este tratamiento en las fibras madereras no es tan efectivo como otros empleados con anterioridad, como el lavado dos, pero sin embargo, parece obtener mejor resultado que el tratamiento con el etanol entre papeles secantes.

c-7 Lavado 7, Hiposulfito sódico al 3%

El hiposulfito sódico se utiliza en restauración de obras de arte. Por este motivo, fue seleccionado para la posible limpieza e inhibición de las celulosas. El resultado es el siguiente:



Figuras 269 y 270. Fibras de celulosa del libro antiguo lavadas con hiposulfito sódico al 3%.

Observamos que el papel está muy sucio. Parecen permanecer residuos después del lavado con el hiposulfito sódico al 3%. Pueden ser restos del hiposulfito o suciedad del propio papel. Por este motivo, no se piensa que sea el mejor método para la limpieza del tratamiento enzimático.

c-8 Tabla recopilatoria

Se efectúa a continuación, una recopilación y comparación de varios lavados realizados a las fibras después del tratamiento enzimático.

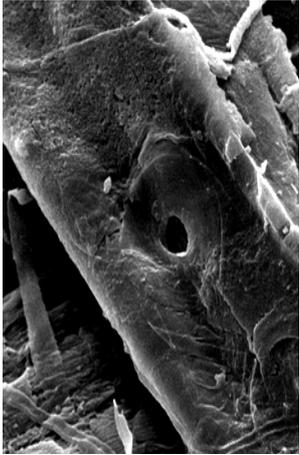
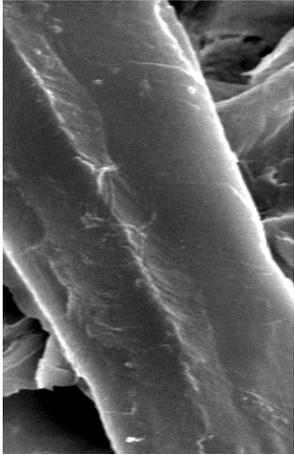
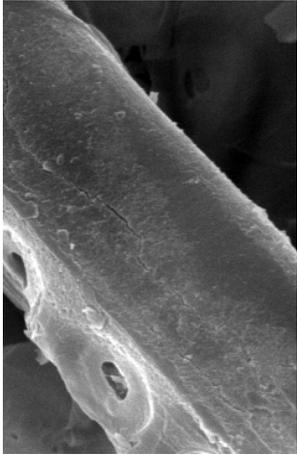
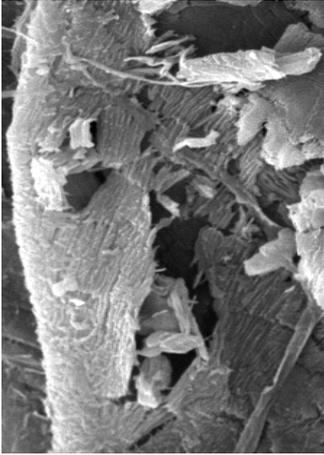
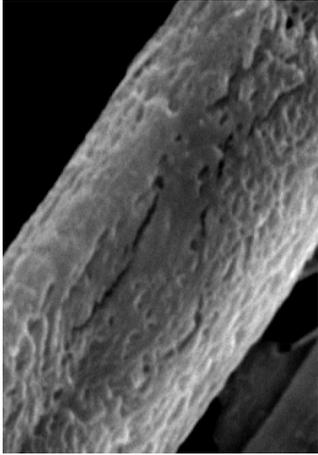
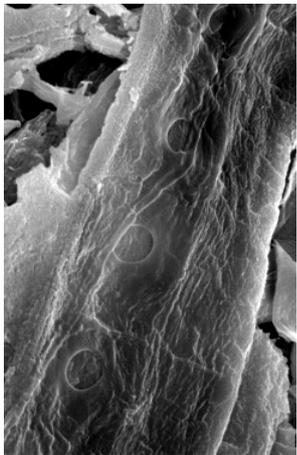
		
Fibra sin tratar pero lavada con agua destilada	Una fibra con buen aspecto lavado1	Una fibra con buen aspecto lavado 2
		
Fibra sin lavar	Fibra de peor aspecto lavado1	Fibra de peor aspecto lavado2

Tabla 21. Recopilación de las fotografías de las fibras antes y después de los lavados uno y dos. Se comparan también las fibras con mejor y peor aspecto que se han encontrado en las fotografías MEB/SEM.

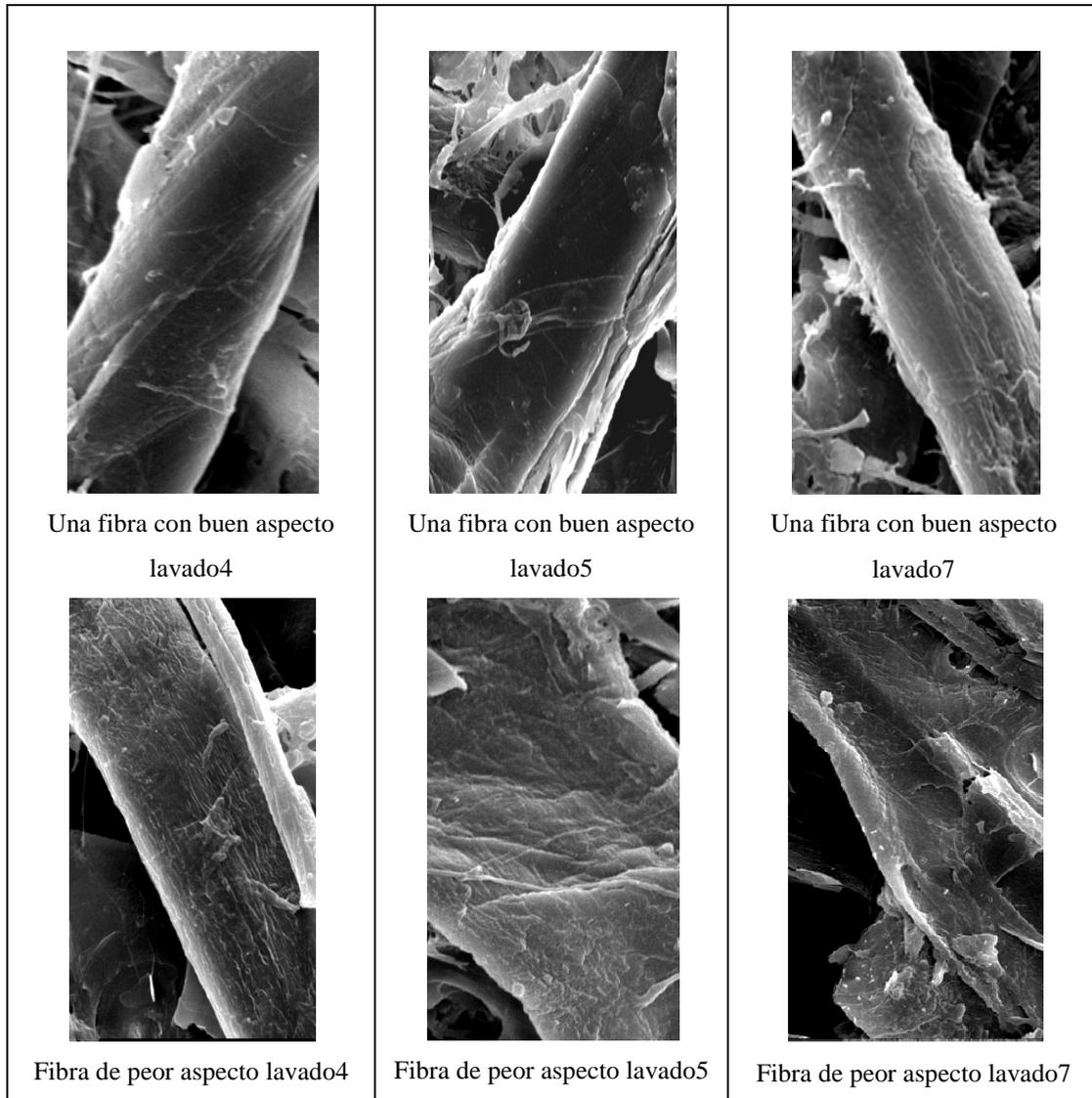


Tabla 22. Recopilación de las fibras tratadas y lavadas con el lavado 4, 5 y 7. Al igual que la tabla anterior, se comparan las fibras con mejor y peor aspecto, encontradas en las fotografías MEB/SEM.

- **Comentario:**

Es difícil determinar con las fotografías del microscopio electrónico de barrido, cuál de los lavados es mejor para las fibras. Se pueden observar cuáles presentan un mejor aspecto y qué tratamiento da mejor resultados visualmente. Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos, podemos pensar lo siguiente:

- Los tratamientos con Reemay son mejores para las fibras.

- El tratamiento enzimático en papeles policromados o en blanco es prácticamente igual.
En los dos casos, las fibras presentan una recuperación de su aspecto físico. No obstante, en las fotografías de los papeles blancos se encuentran más fibras en buen estado que en los papeles policromados. Por lo tanto, se puede pensar que la aplicación de una técnica pictórica conlleva una mayor manipulación del papel y por tanto una mayor degradación y suciedad del papel. También puede ser que las técnicas pictóricas inhiben la actividad enzimática y reparadora del gel.
- Los mejores lavados son el primero -tampón acetato 100%-, segundo -tampón acetato y etanol al 1%-, cuarto -100% etanol entre papeles secantes-, quinto-D-cellobiose- y octavo- en etanol 100% un segundo y aclarar rápidamente en tampón acetato y etanol al 1% durante unos minutos-.
- Los peores son el sexto -Tpool al 3%- y el séptimo -hiposulfito sódico al 3%-. Dejan más residuos y las fibras presentan peor aspecto.
- Se ha constatado que las fibras madereras tienen una recuperación mayor que las las fibras de algodón. Con el lavado antes del tratamiento, las fibras mejoran mucho su aspecto.
- Con las fotografías SEM/MEB no se puede saber cuánto se han reforzado las fibras, por lo que siempre será necesario recurrir a otras técnicas para saber a ciencia cierta si el gel enzimático a reforzado el papel.

IV.10.4.2 Test mecánicos

Los resultados de los test mecánicos se han ordenado por técnicas pictóricas y colores. Posteriormente se ha realizado una comparativa de la resistencia mecánica de los papeles con el tipo de lavado efectuado.

Se vuelven a citar los diferentes tipos de lavados empleados en nuestros experimentos para tener en mente la numeración de cada lavado:

- | | |
|---|--|
| 1 | Tampón acetato 100% |
| 2 | Etanol al 1% en tampón acetato (3 lavados) |

- 3 Etanol al 1% en tampón acetato entre papeles secantes
- 4 Etanol 100% entre papeles secantes.
- 5 D-cellobiose 100mM
- 6 Tpool 3%
- 7 Hiposulfito sódico al 3%
- 8 Etanol puro unos segundos y sumergir luego en Etanol al 1% en tampón acetato.

a- Papeles sin técnicas pictóricas

En primer lugar se van a exponer los resultados de los test mecánicos obtenidos en los papeles sin técnicas pictóricas o blancos. En segundo lugar, se mostrará un gráfico con los porcentajes de aumento o disminución de la resistencia de los papeles con respecto con el papel de referencia blanco sin tratar.

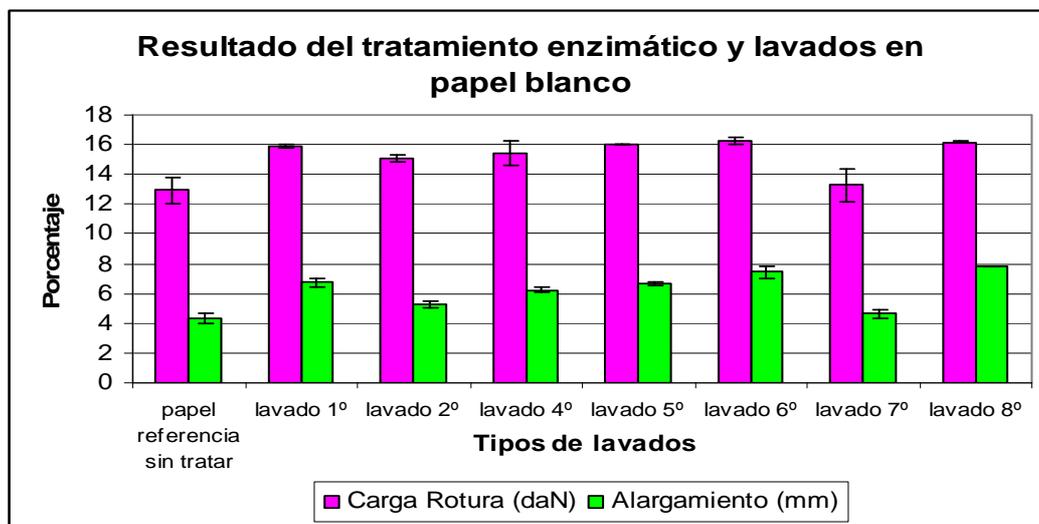


Grafico 175. Resultados de los test mecánicos en el papel blanco. El mayor aumento del papel blanco aparece en el lavado 1, 5, 6 y 8. No obstante, el lavado 6 en las fotografías MEB/SEM parece un poco perjudicial para las fibras por lo que se descarta.

- Porcentajes de aumento o disminución del tratamiento:

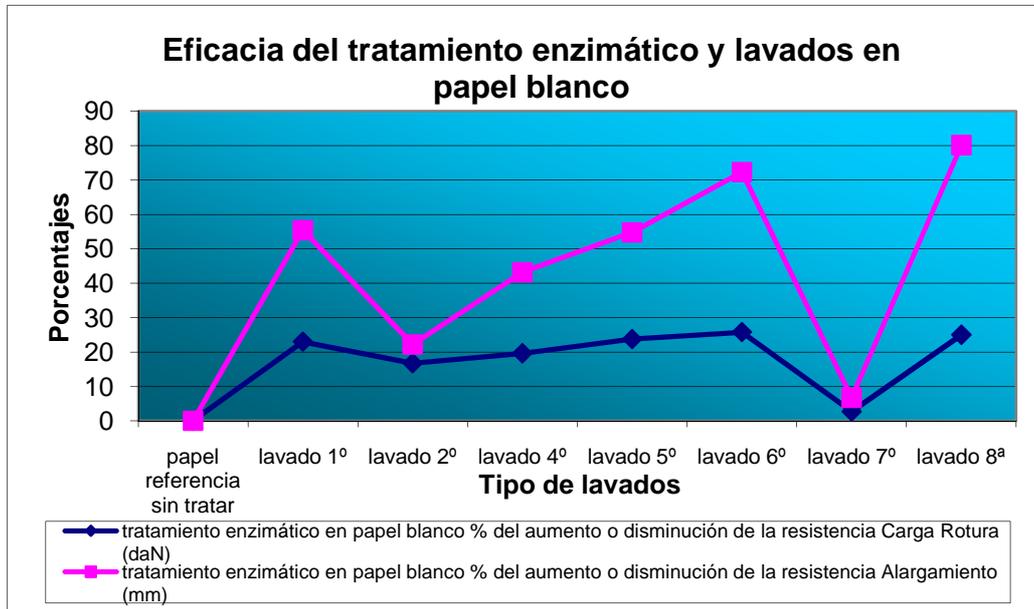


Gráfico 176. Porcentajes de los lavados en papeles blancos. El mayor aumento lo experimentan las fibras lavadas con el lavado 1, 5, 6 y 8. El lavado 6 ha sido descartado anteriormente y se concluye que el lavado 1, 5 y 8, tienen el mayor aumento de la resistencia de las fibras.

En papeles sin técnicas pictóricas los lavados que han obtenido mejores resultados son el primero – tampón acetato-, el quinto – 100% etanol entre papeles secantes, el sexto -Tpool 3%- y el octavo -etanol puro unos segundos y sumergir luego en tampón acetato y etanol al 1%-. El lavado 6 queda descartado porque en las fotografías MEB/SEM, aparecen las fibras muy sucias.

Se debe mencionar que el resto de los lavados también ha obtenido buenos resultados: todos rondaban el 20% de aumento de su resistencia.

- Comentario

Por problemas de presupuesto, no se pudo efectuar todos los lavados. En el papel blanco faltó el lavado número tres (etanol 1% en tampón acetato entre papeles secantes).

b- Acuarela

Los resultados de los test mecánicos para las acuarelas fueron divididos por colores. A continuación veremos los resultados para la acuarela amarilla, azul y magenta.

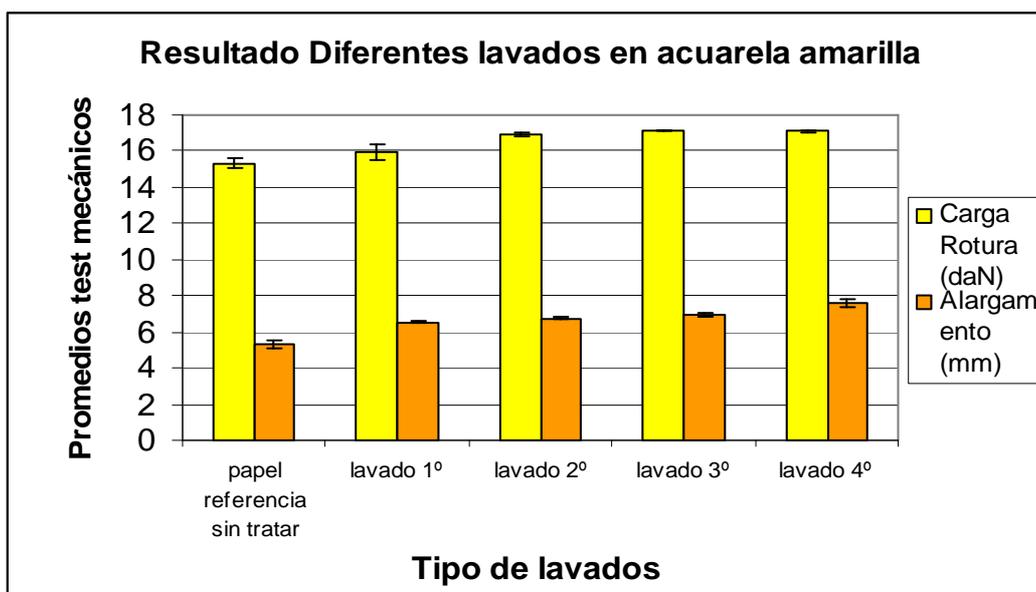


Gráfico 177. Resultados test mecánicos en acuarela amarilla. Los lavados 3 y 4 consiguen el mayor aumento de resistencia.

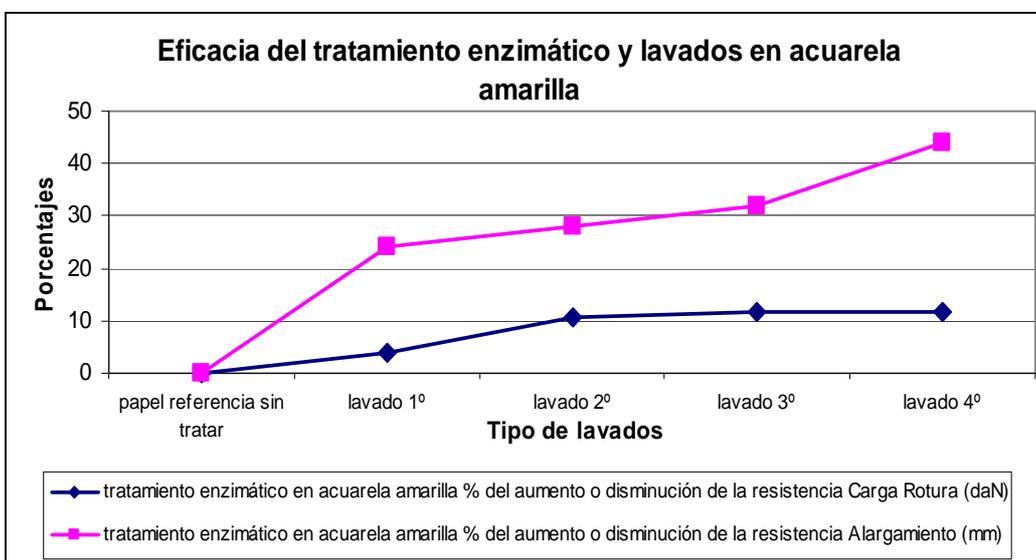


Gráfico 178. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en la acuarela amarilla. El mayor aumento de la resistencia en las fibras es con los lavados 2, 3 y 4.

El aumento de la resistencia a la carga y rotura de los papeles con acuarela amarilla está bastante igualado en los lavados dos, tres y cuatro. Sin embargo, la resistencia al alargamiento aumenta considerablemente en el lavado cuatro. Este dato se

pensaba al principio que era buena señal. Sin embargo, se observó que en múltiples resultados de los test mecánicos, los papeles con menor resistencia a la carga y rotura, presentaban un aumento del alargamiento hasta la rotura de sus fibras.

Por lo tanto, se piensa que es mejor que el aumento del alargamiento no sea tan grande. Posiblemente este aumento pueda ser debido a la rotura de algunos enlaces en las fibras celulósicas. De todos modos, en estos test, la resistencia al alargamiento es bastante proporcional al aumento de la resistencia a la Carga y Rotura.

- Comparación del lavado 3 y 4 en la acuarela rosa y azul:

Los siguientes gráficos muestran los resultados del lavado 3 (Etanol al 1% en tampón acetato entre papeles secantes) y el lavado 4 (100% etanol entre papeles secantes). Estos lavados tienen buenos resultados en muchos papeles, por este motivos los comparamos otra vez:

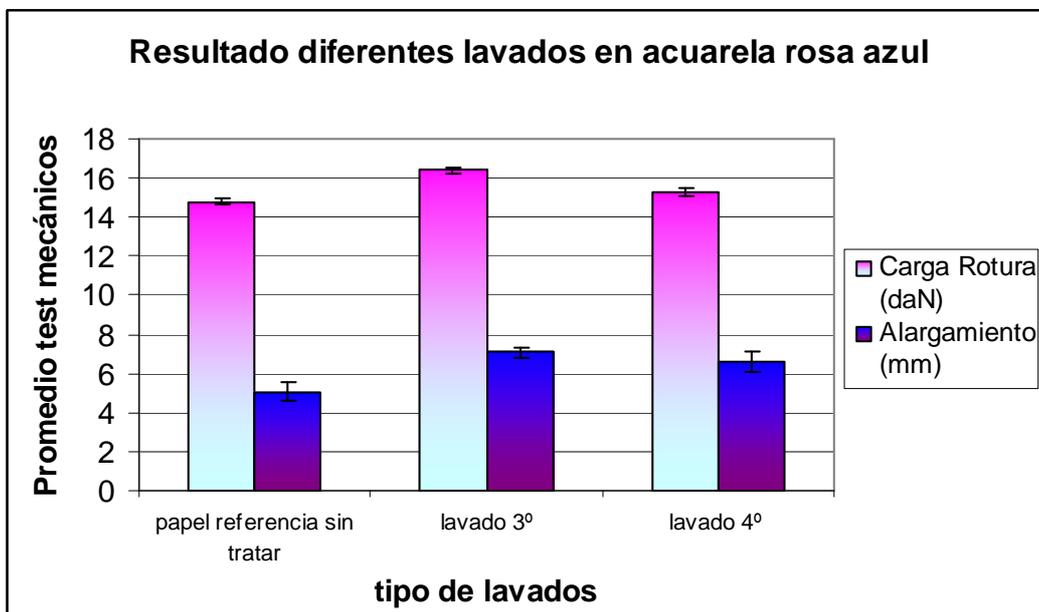


Gráfico 179. Resultados test mecánicos en acuarela Rosa-azul. Es evidente que la resistencia a la carga y rotura es mayor en el lavado 3. Sin embargo, el resultado del lavado 4 no es tan malo y el alargamiento parece menor.

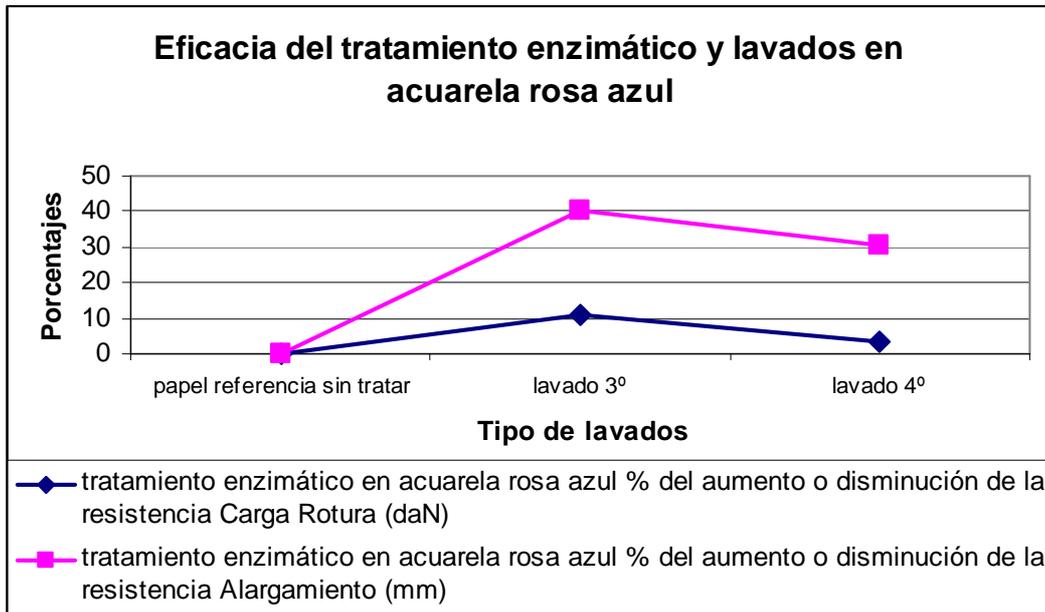


Gráfico 180. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en la acuarela rosa y azul. Los aumentos de la carga-rotura y alargamiento son proporcionales en los dos lavados. Y el mejor resultado es para el lavado 3.

- Comentario

Si se comparan los resultados de estos dos tipos de lavados, el lavado 3 (etanol al 1% en tampón acetato entre papeles secantes) consigue aumentar hasta un 10% la resistencia del papel, mientras que el lavado 4 (100% etanol entre papeles secantes) aumenta sólo un 5%. El aumento del alargamiento hasta la rotura parece aumentar proporcionalmente a su resistencia. Por lo tanto es más aconsejable lavar con etanol al 1% en tampón acetato entre papeles secantes.

- Resultados para otra acuarela azul y rosa:

Se vuelven a comparar los resultados de los lavados en las fibras de celulosa en el gráfico siguiente.

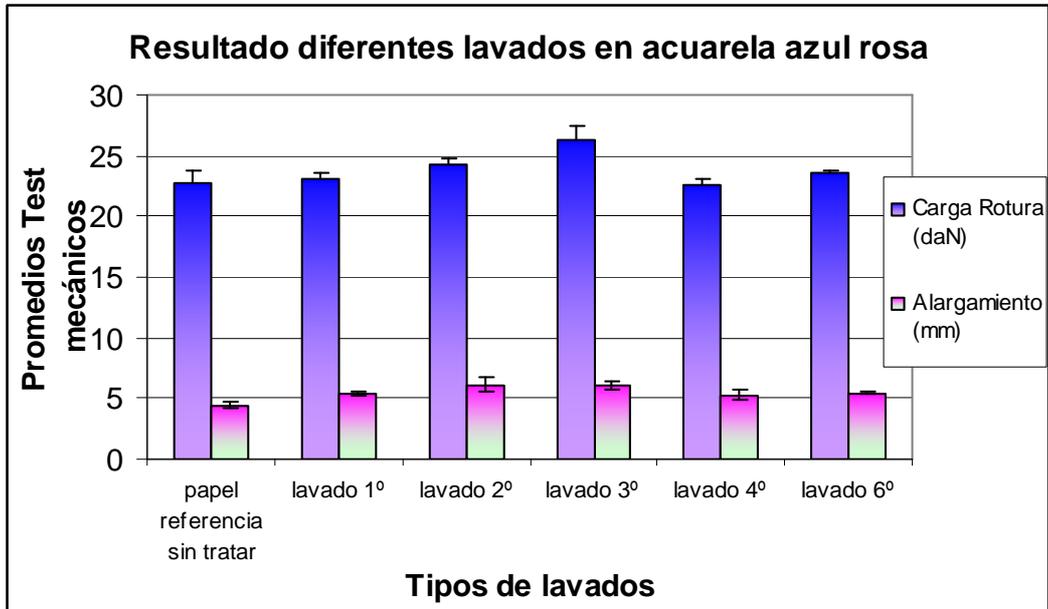


Gráfico 181. Resultados test mecánicos en acuarela azul-rosa. El mayor aumento aparentemente es para el lavado 3, pero se debe observar el gráfico siguiente con los porcentajes de aumento para estar totalmente seguros.

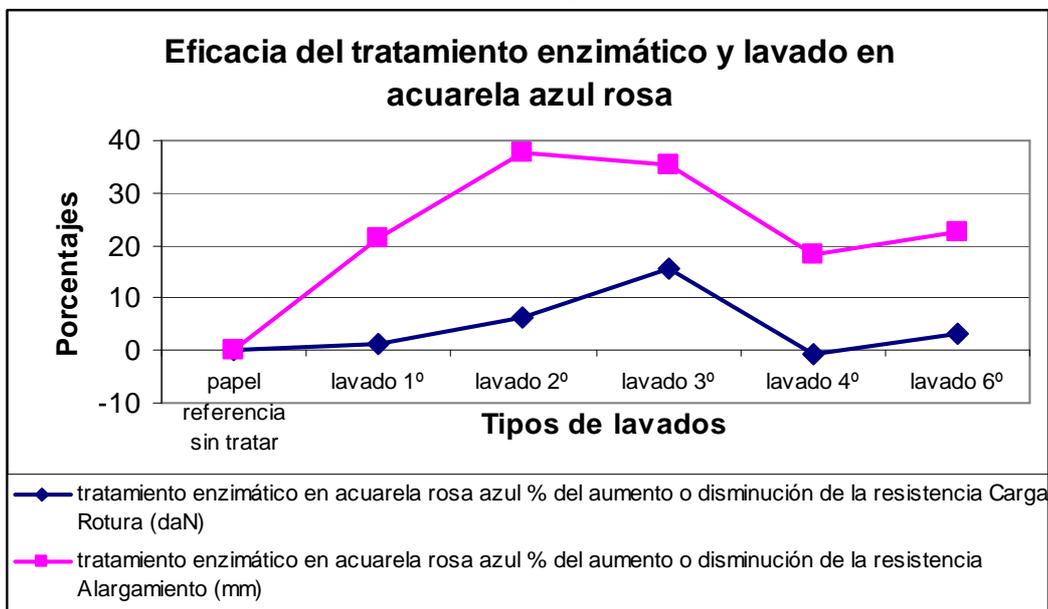


Gráfico 182. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en la acuarela azul y rosa. Con diferencia, el lavado 3 es el que mejores resultados proporciona.

En esta ocasión el lavado número 3 –etanol al 1% en tampón acetato aplicado entre papeles secantes- es el más conveniente para consolidar papeles con la técnica

pictórica de la acuarela. El papel aumenta un 15% de su resistencia mecánica a la carga y rotura, y un 35% al alargamiento.

- Media del aumento del porcentaje de resistencia en los papeles con acuarelas.

Resultado general del tratamiento en acuarelas:

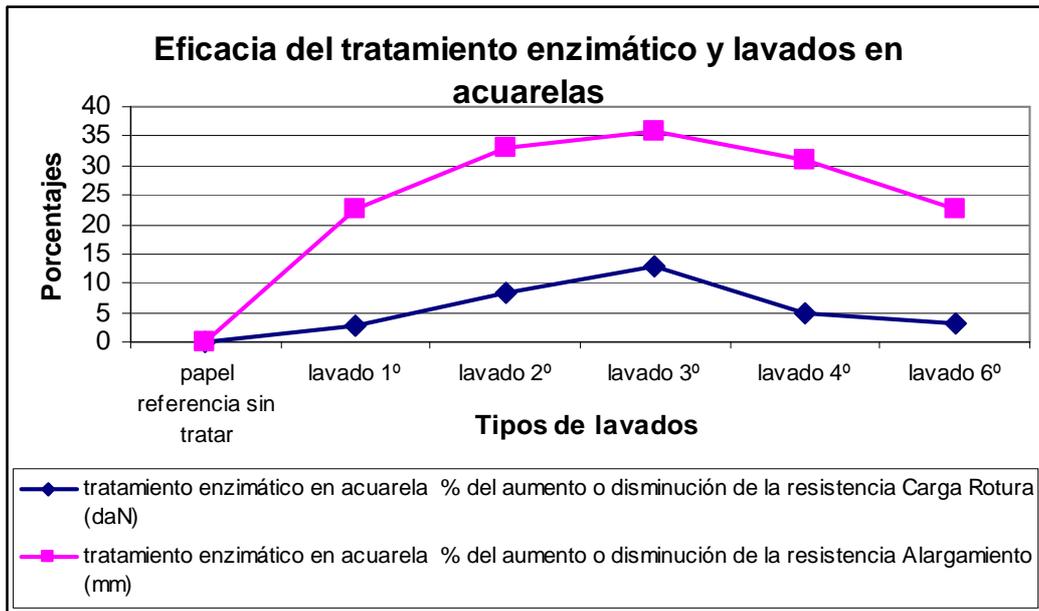


Gráfico 183. Media de los porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en las acuarelas. Sin lugar a dudas, el mejor resultado es para el lavado3 en las acuarelas.

- Comentario:

En todas las acuarelas empleadas, el mayor aumento de la resistencia mecánica se produce en los papeles lavados entre papeles secantes con etanol al 1% en tampón acetato. El lavado 2, donde se aplica directamente al papel, el etanol al 1% en tampón acetato, también mejora la resistencia a la carga y rotura pero el resultado no es tan bueno.

c- Temperas

Los siguientes gráficos muestran los resultados de los test mecánicos para los diferentes papeles con témperas. En esta ocasión se va a realizar un gráfico global con todos los resultados de los porcentajes de aumento o disminución de la resistencia a la carga y rotura, y al alargamiento de los papeles.

- Tempera amarilla negra:

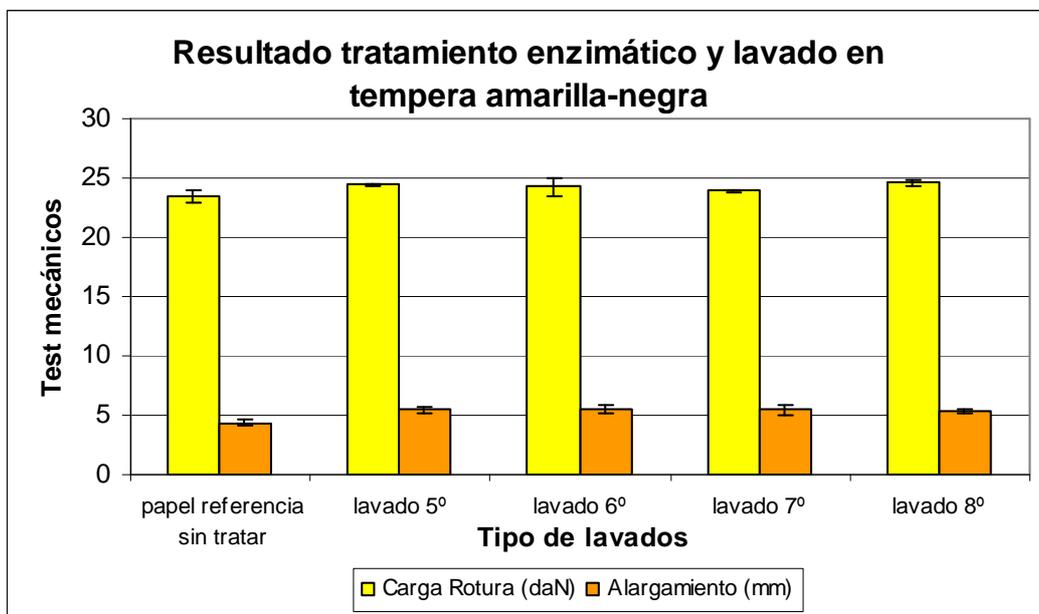


Gráfico 184. Resultados test mecánicos en témpera amarilla negra. El mejor lavado en este gráfico es el 8 (etanol puro unos segundo y sumergir en etanol al 1% en tampón acetato).

En esta témpera y sin haber podido realizar los otros tipos de lavados -por falta de presupuesto-, los lavados que mejores resultados han obtenido son el quinto -D-cellobiose 100mM- y el octavo -etanol puro unos segundos y sumergir luego en Etanol al 1% en tampón acetato-.

- Témpera magenta y azul:

A continuación, se presentan los resultados de dos papeles diferentes, pintados con témpera magenta y azul. Se invertirán el orden de los colores para poder diferenciarlos y realizar la comparativa con su papel de referencia.

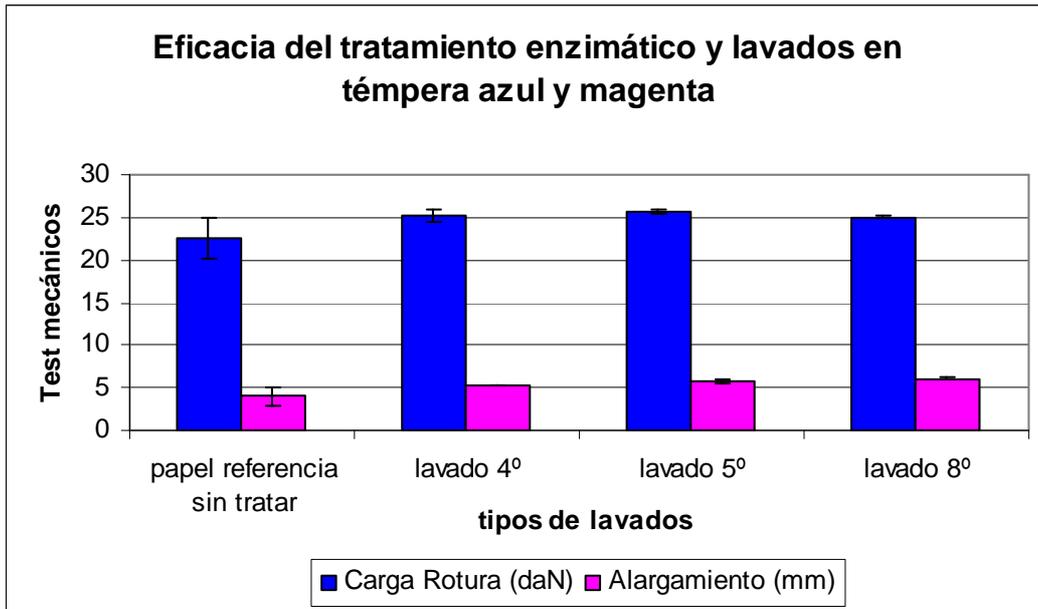


Gráfico 185. Resultados test mecánicos en témpera azul y magenta. El 5º lavado es en esta ocasión el que mejor resultado tiene, aunque el 4º y 8º están muy igualados.

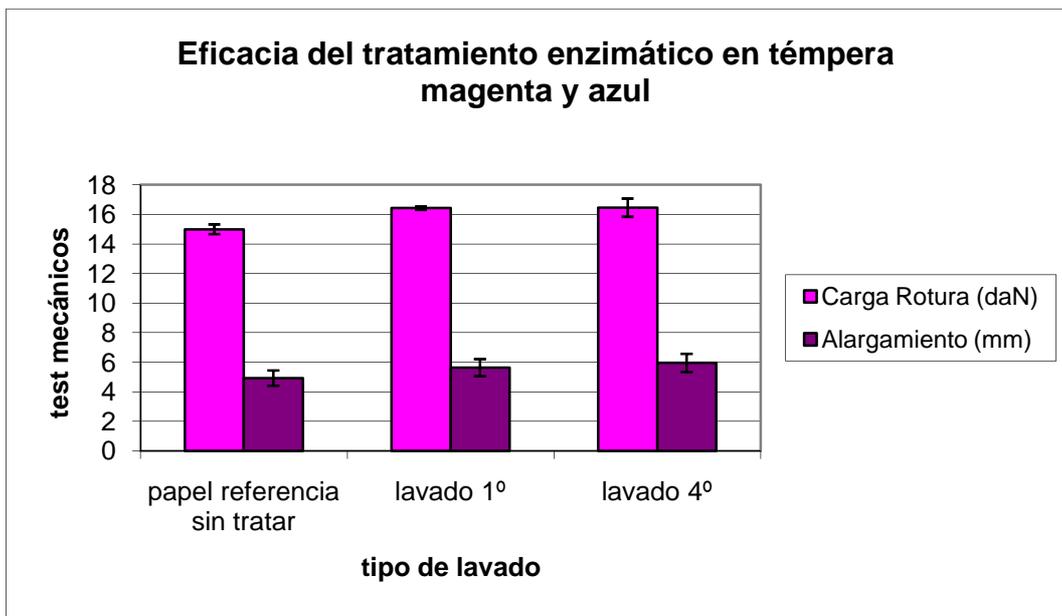
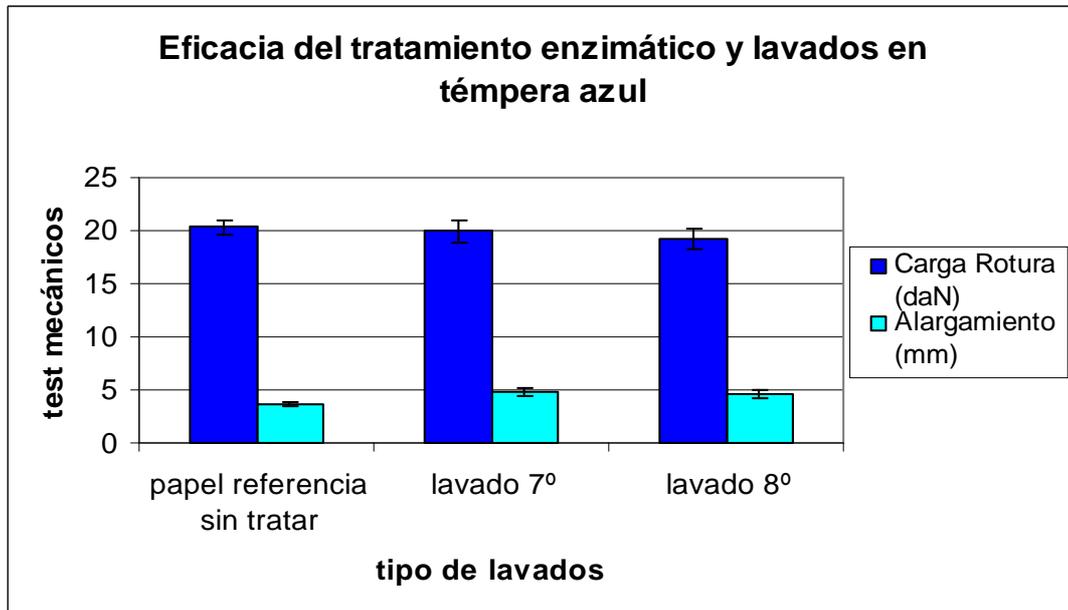
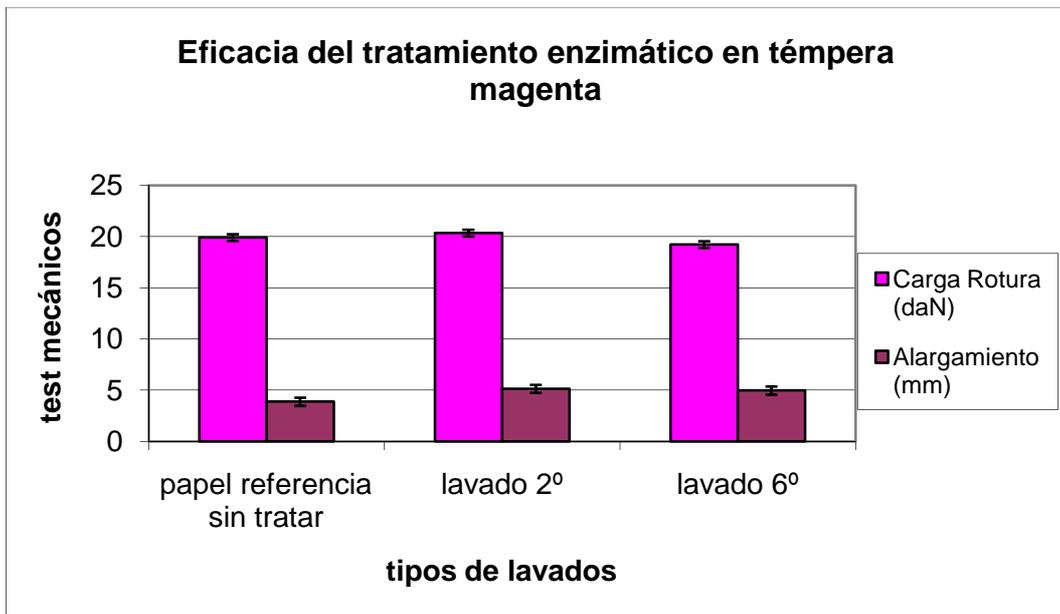


Gráfico 186. Resultados test mecánicos en témpera magenta y azul. Los resultados son muy similares.



Gráfico 187. Resultados test mecánicos en témpera azul. En esta ocasión ha habido pérdida de resistencia.



Gráfico 188. Resultados test mecánicos en témpera magenta. El lavado 2 mejora ligeramente la resistencia del papel, mientras que el lavado 6, reduce la resistencia mecánica.

En estos dos últimos gráficos la resistencia del papel es similar al papel de referencia o han sido ligeramente debilitados. La  nica diferencia que existe para que haya ocurrido este fenómeno es el haber tratado los papeles a una temperatura superior a cuatro grados centígrados, a la temperatura ambiente del laboratorio. Por

lo tanto, es fundamental en este tipo de tratamientos que el gel permanezca a una temperatura inferior a 15 °C durante el procedimiento enzimático.

- **Porcentajes del tratamiento enzimático con los lavados.**

En el siguiente gráfico se resumen todos los porcentajes de aumento o disminución de la resistencia para las témperas.

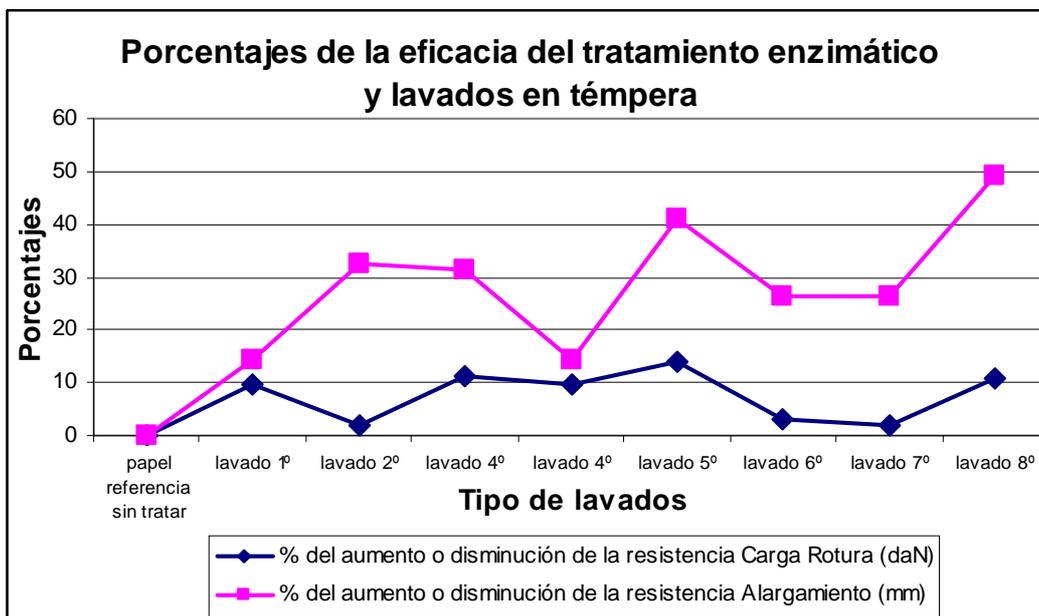


Gráfico 189. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en la témpera azul y rosa.

En témperas los lavados más adecuados son el cuarto, quinto y octavo. De todos modos, falta el lavado número tres, que ha obtenido muy buenos resultados en las acuarelas.

d- Acrílicos

Los siguientes gráficos muestran los resultados de los test mecánicos para los papeles con acrílicos.

- Acrílico verde y rosa

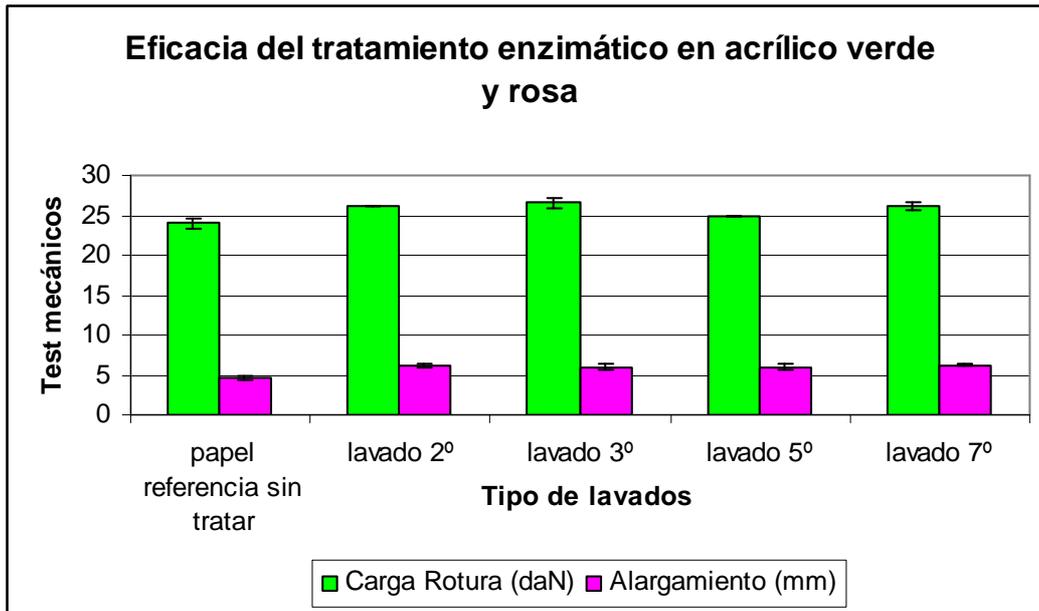


Gráfico 190. Resultados test mecánicos en acrílico verde y rosa. El lavado 3 sigue consiguiendo el mejor resultado.

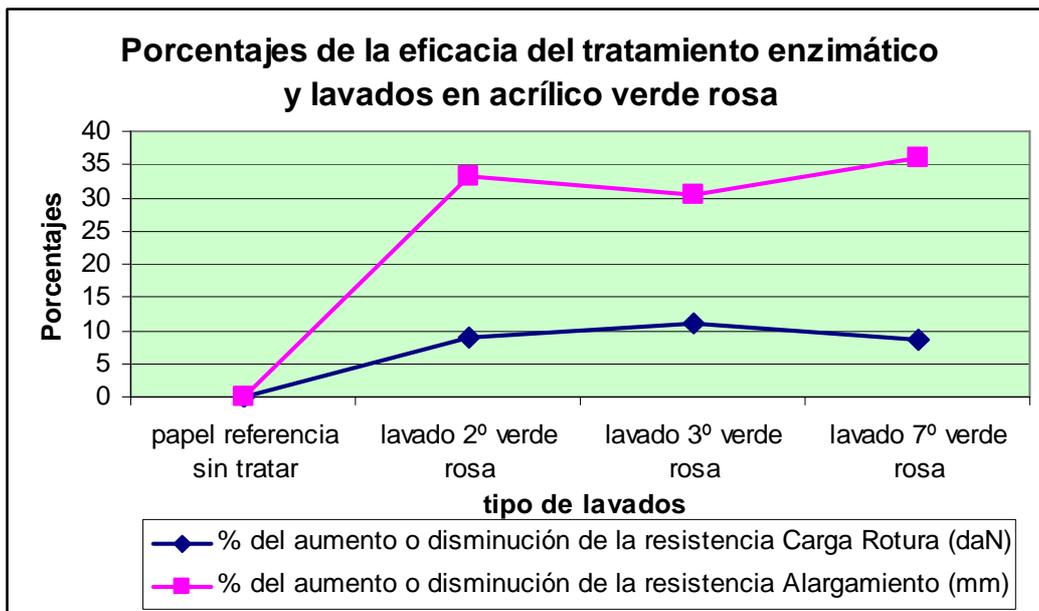


Gráfico 191. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en acrílico verde y rosa. Se observa que el lavado 3 tiene el mayor aumento del porcentaje de la resistencia y el menor, en el alargamiento.

En esta ocasión, el papel lavado con etanol al 1 % en tampón acetato entre papeles secantes, consigue el mayor aumento de resistencia. De todos modos, los otros resultados también son satisfactorios.

- Acrílico amarillo azul

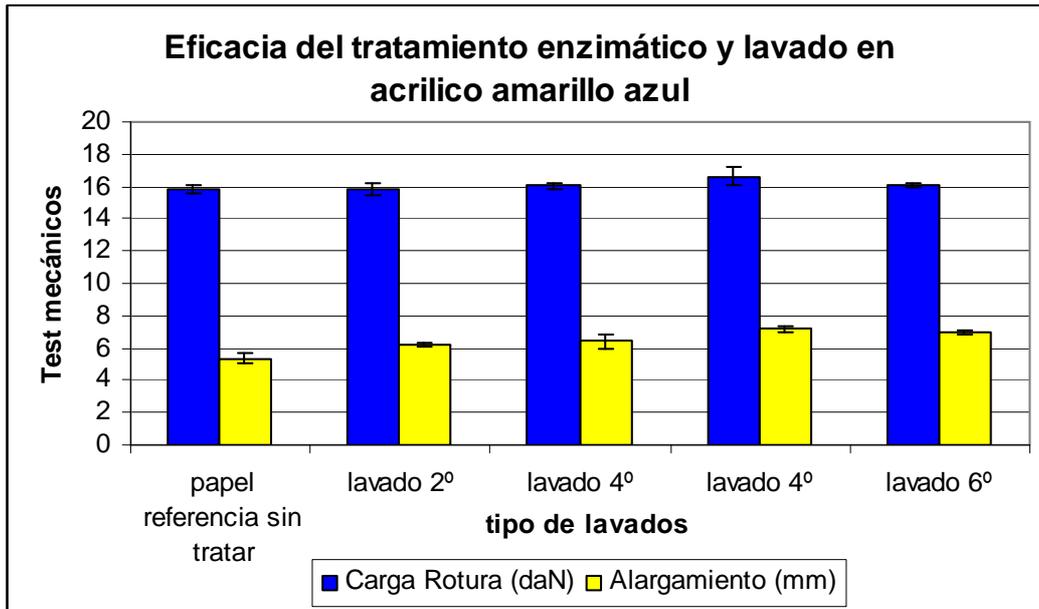


Gráfico 192. Resultados test mecánicos en acrílico amarillo y azul. En esta ocasión, entre todos los lavados que hay, el 4º es el que mejores resultados obtiene en cuanto al aumento de resistencia se refiere.

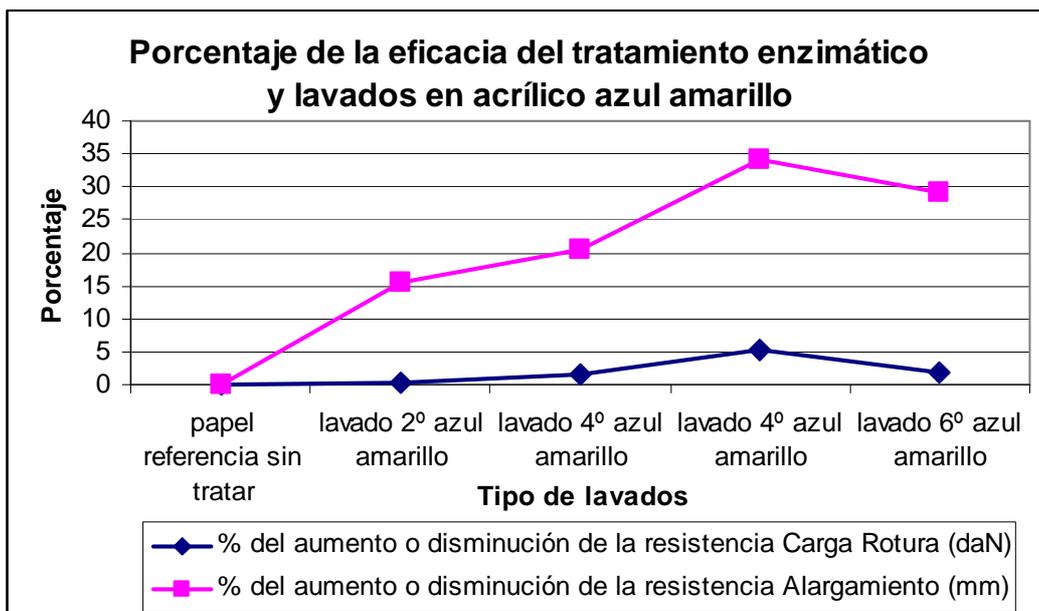


Gráfico 193. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en acrílico azul y amarillo. Como se ha observado en el gráfico anterior, el lavado 4, es el que mayor aumento de la resistencia de la carga obtiene y también al alargamiento.

En los acrílicos, los lavados 3 y 4 han obtenido los mejores resultados. El aumento de resistencia a la carga oscila entre el 5-10 %.

La actividad enzimática es muy sensible a variaciones de temperatura y pH. Por lo tanto estos resultados demuestran una vez más, que la temperatura ambiental juega un papel importante en los resultados.

e- Libro antiguo sin ningún valor artístico, histórico o sentimental

A continuación se van a exponer todos los resultados obtenidos para el libro antiguo. En esta ocasión, se pudieron realizar todos los tipos de lavados y ver en general, cómo afectan al resultado del tratamiento que suele ser diferente a las fibras vegetales de algodón de las otras muestras tratadas.

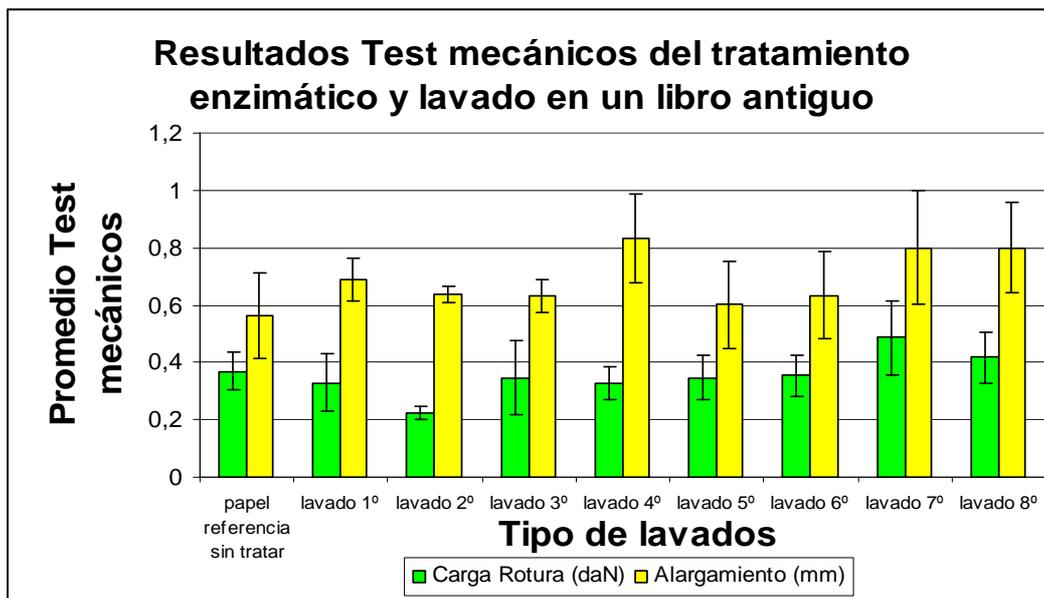


Gráfico 194. Resultados de los test mecánicos en un libro antiguo.

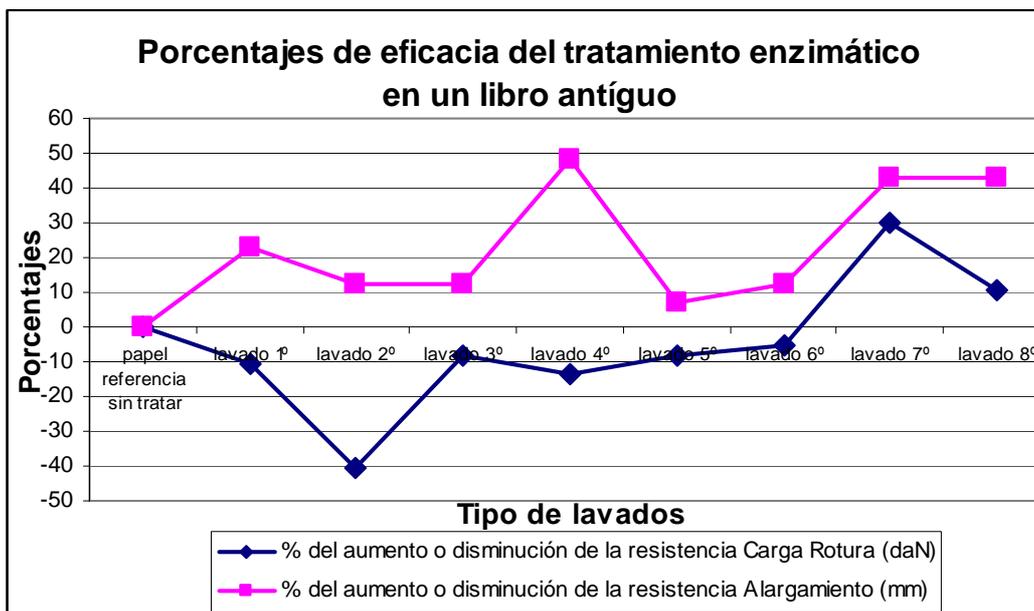


Gráfico 195. Porcentajes del aumento o de la disminución de la resistencia en el libro antiguo.

Contrariamente al papel de algodón, el papel de pasta química aumenta su resistencia con el lavado número 7 -Hiposulfito sódico al 3% en agua destilada-. En las pruebas anteriores, el papel del libro se vio reforzado mientras que el papel de algodón fue degradado o muy poco consolidado.

En un primer momento se pensó que podía ser debido al lavado antes del tratamiento. Los papeles del libro antiguo, antes de ser tratados con el gel enzimático, fueron lavados con etanol al 0,5% en agua destilada y con jabón al 0,5% en agua destilada y aclarados múltiples veces con agua destilada, para eliminar los restos de jabón que pudiesen inhibir la actividad enzimática.

Ahora se cree que debido a la diferente composición de las fibras de cada papel, puede que los lavados actúen de diferente manera y por eso, se va a realizar la comparativa entre los resultados de todos los papeles que se poseen.

- Comparativas entre técnicas

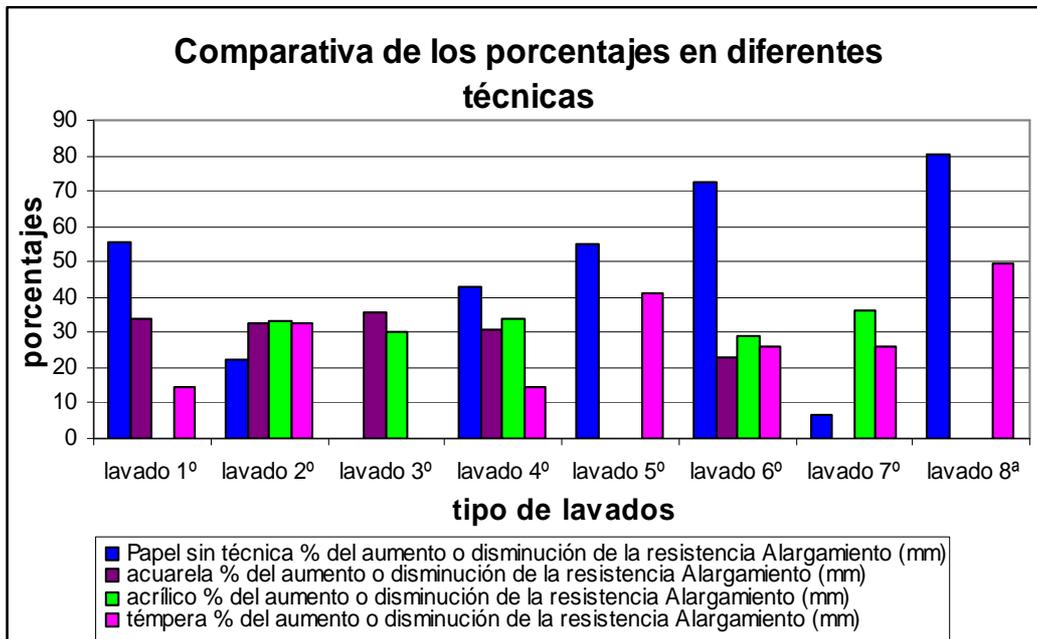


Gráfico 196. Comparativa de los porcentajes que se poseen de los diferentes papeles y técnicas.

Lavado 1 sólo obtiene un considerable aumento de la resistencia en el papel sin técnica, no poseemos el efecto en el acrílico.

El **lavado 2** consigue una mejor resistencia en casi todas las técnicas, menos en la témpera. La cual aumenta su resistencia a la carga menos de un 5%.

El **lavado 3**, desgraciadamente no se posee el resultado para el papel sin técnicas y la témpera. No obstante, el resultado en los lavados en la acuarela y el acrílico es muy superior a los resultados de los otros lavados.

Lavado 4: se ve una mejoría bastante evidente en el papel sin técnica y témpera, pero en acrílico y acuarela es inferior a otros lavados (2 y 3).

Lavado 5: sólo se tienen los resultados para el papel blanco y la témpera, y en ambos casos el resultado es muy satisfactorio.

Lavado 6: El aumento es muy inferior a lo deseado en todas las técnicas menos en el papel en blanco que obtiene más de un 25% de resistencia con respecto al papel de referencia.

Lavado 7: Es el lavado que peores resultados da. Se descarta su utilización

Lavado 8: Tanto en el papel blanco, como en el papel con témpera, la mejora es buena.

La comparativa de los resultados revela que las técnicas pictóricas inhiben la actividad enzimática del tratamiento. De todos modos, existe una cierta reparación en los papeles, por lo que la técnica de consolidación sirve, aunque la reparación sea inferior.

IV.10.4.3 Resultados espectrofotometría de reflectancia

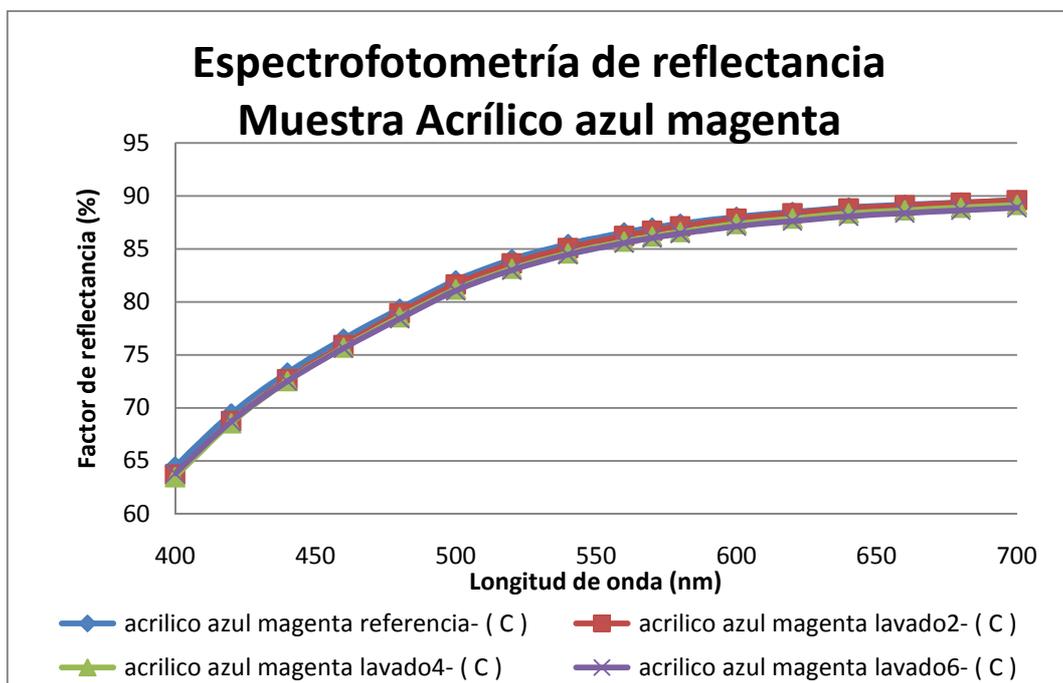


Gráfico 197. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene y el lavado 6 el que menos. Esto puede ser producido por los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

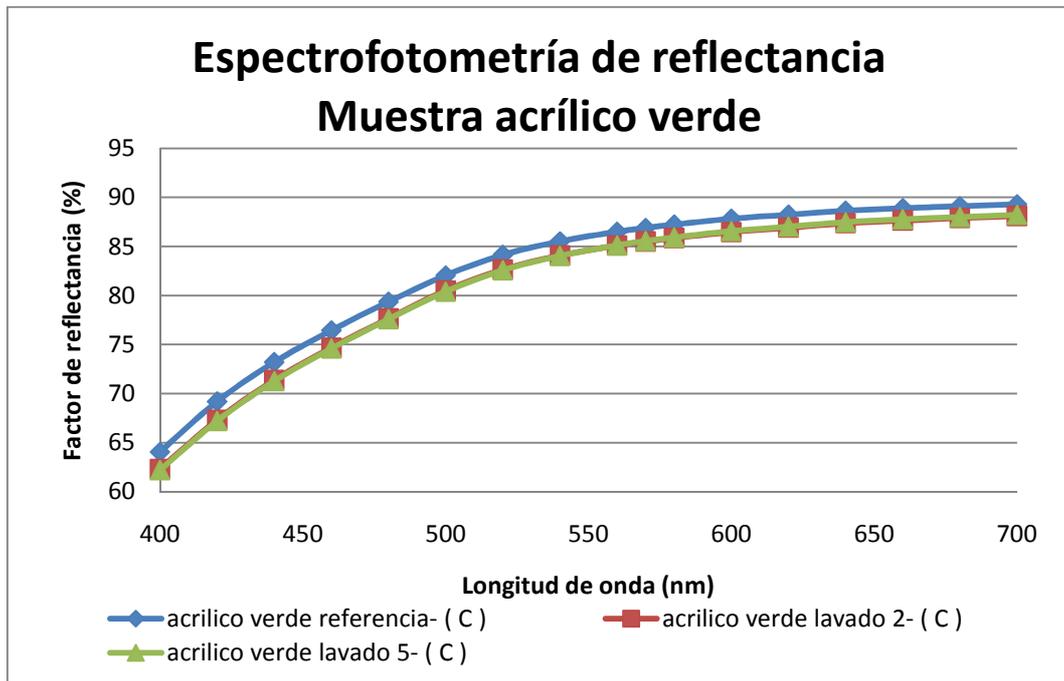


Gráfico 198. Espectrofotometria de reflectancia. El factor de reflectancia de la muestra de referencia es mayor que el del resto de los papeles. Sin embargo, esto puede ocurrir después de los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

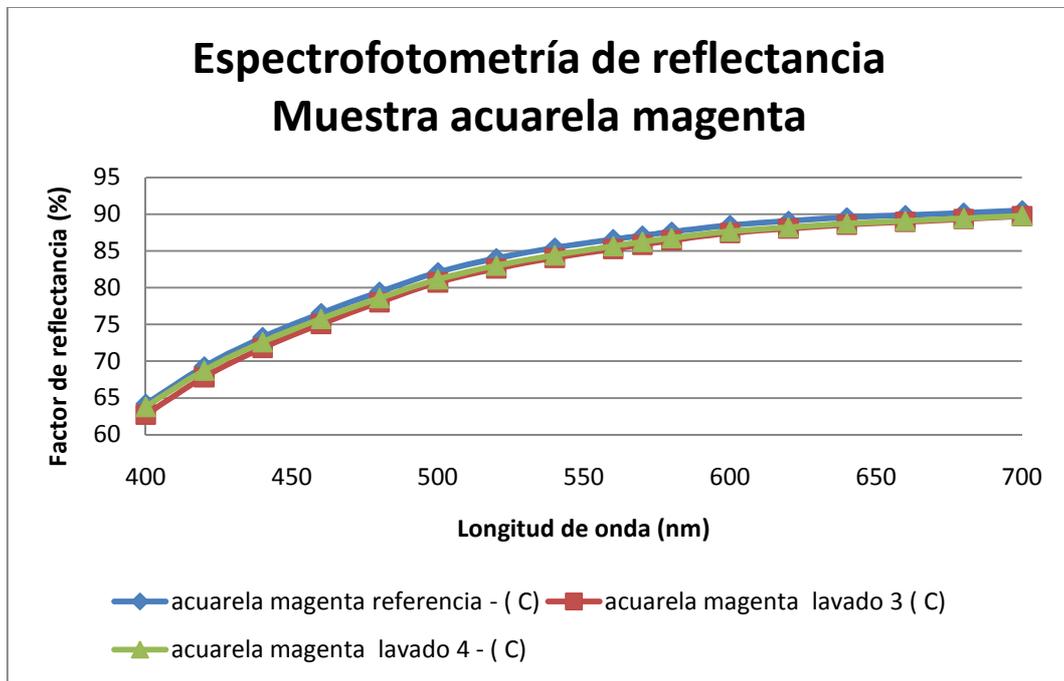


Gráfico 199. Espectrofotometria de reflectancia. La mínima diferencia que existe entre la muestra de referencia y las tratadas, puede ser debido a los lavados, por lo que la blancura es similar y el tratamiento no ha afectado al papel.

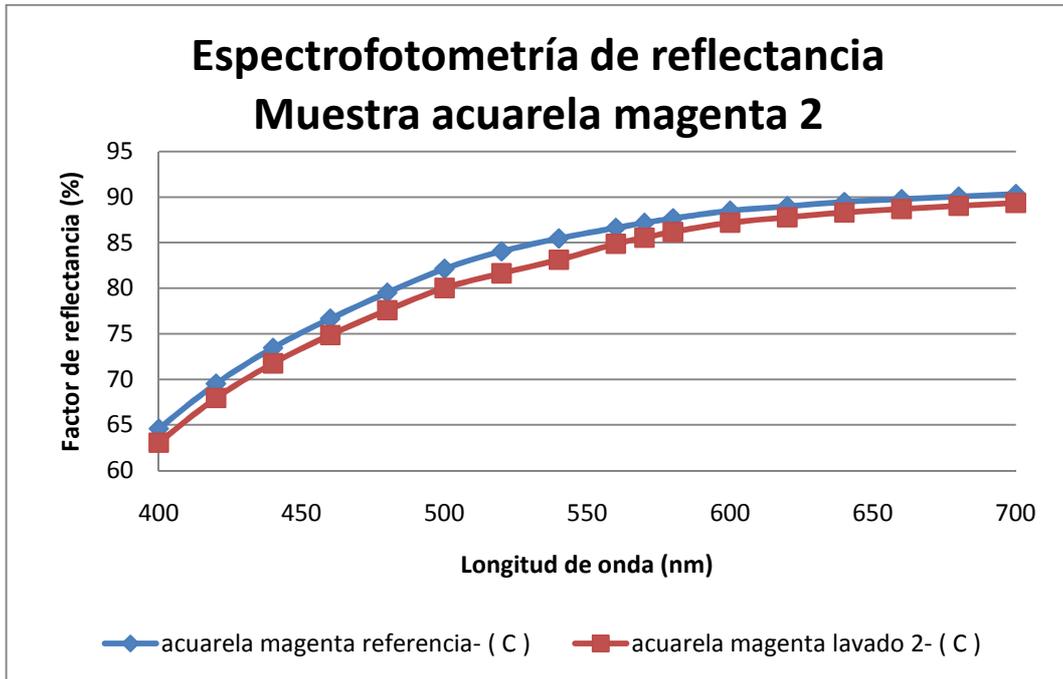


Gráfico 200. Espectrofotometria de reflectancia. La pérdida de reflectancia es totalmente justificable por el lavado realizado al papel. Esta disminución de este factor no es preocupante y no afecta al estado del papel.

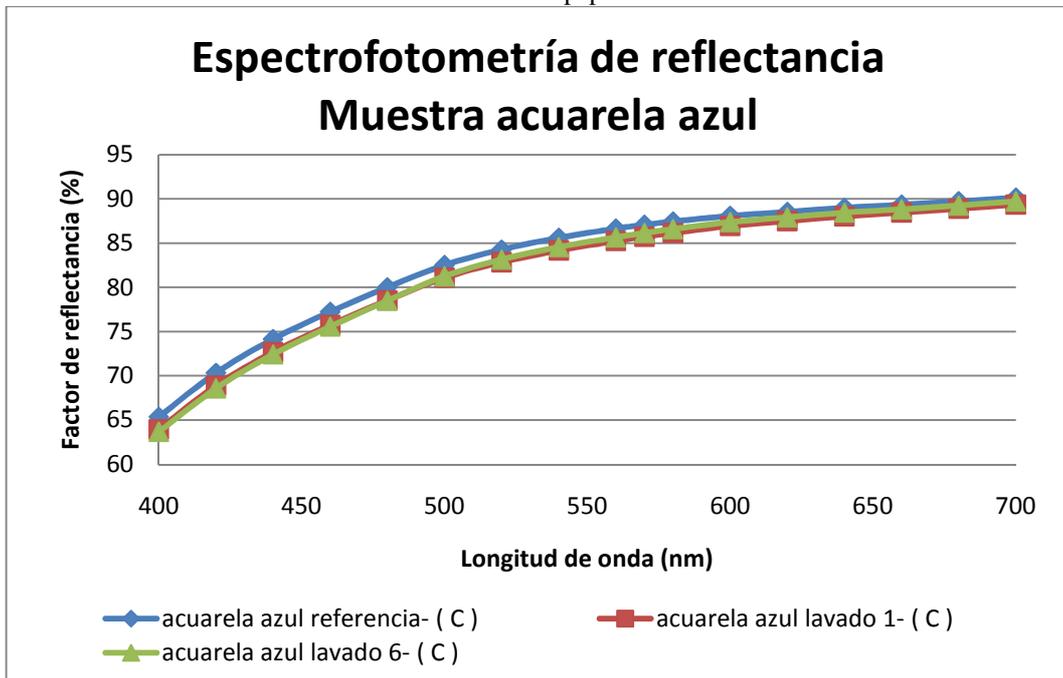


Gráfico 201. Espectrofotometria de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene. Esto puede ser producido por los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

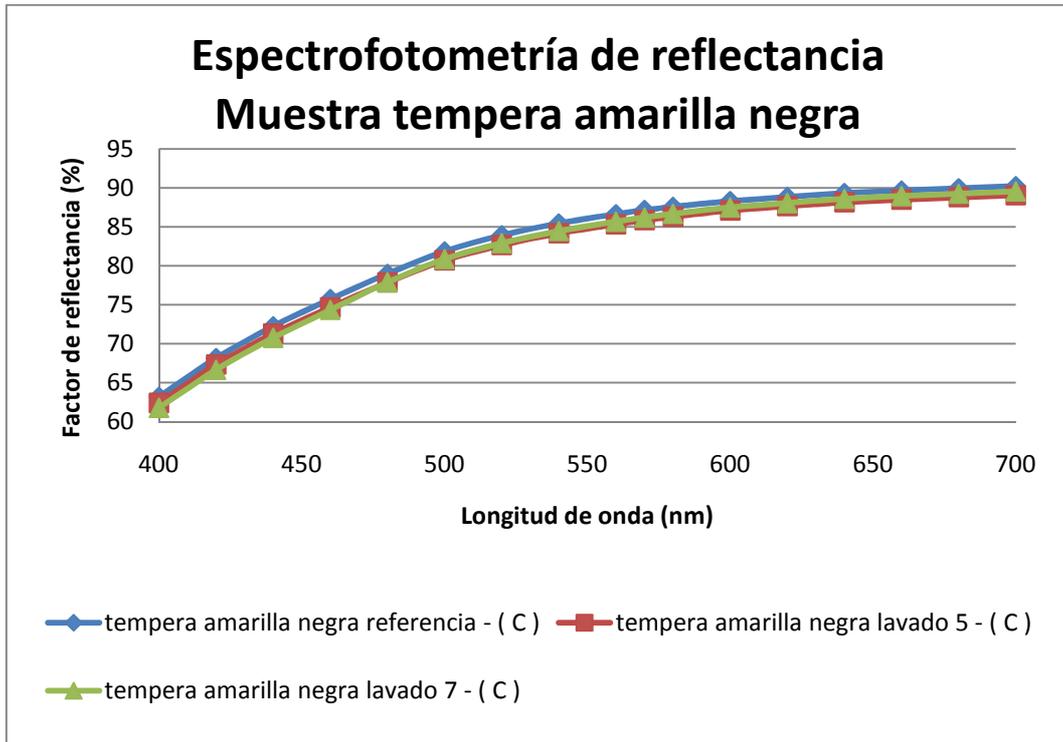


Gráfico 202. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene. Esto, como hemos dicho con anterioridad, puede ser producido por los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

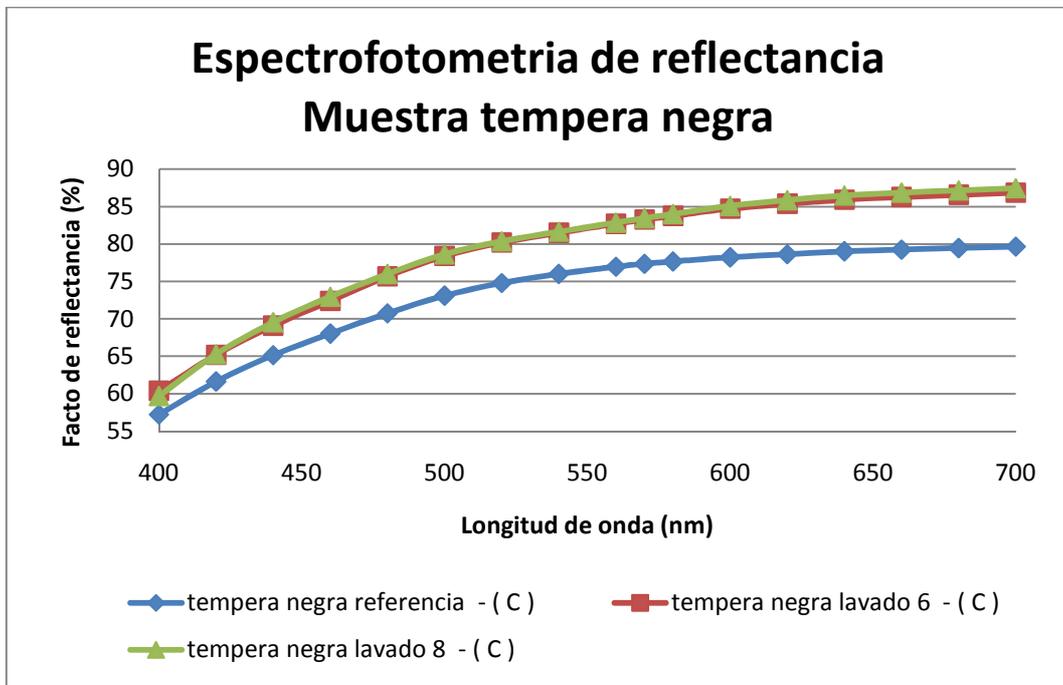


Gráfico 203. Espectrofotometría de reflectancia de la témpera negra. El factor de reflectancia de las muestras tratadas aumenta considerablemente. Esto puede significar que el papel ha sido muy reparado o que el color negro después del tratamiento hace variar los resultados en la espectrofotometría.

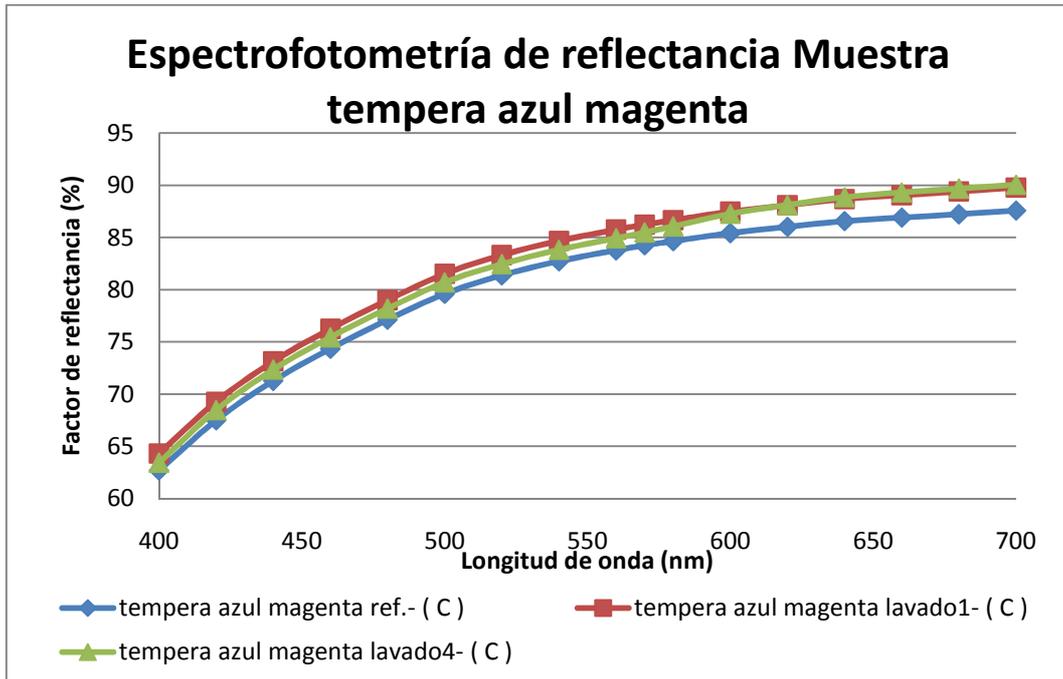


Gráfico 204. Espectrofotometria de reflectancia de la témpera azul magenta. Los factores de reflectancia de las muestras tratadas son mayores que el de la muestra de referencia. Por lo tanto, existe una mejora en la blancura y del estado del papel.

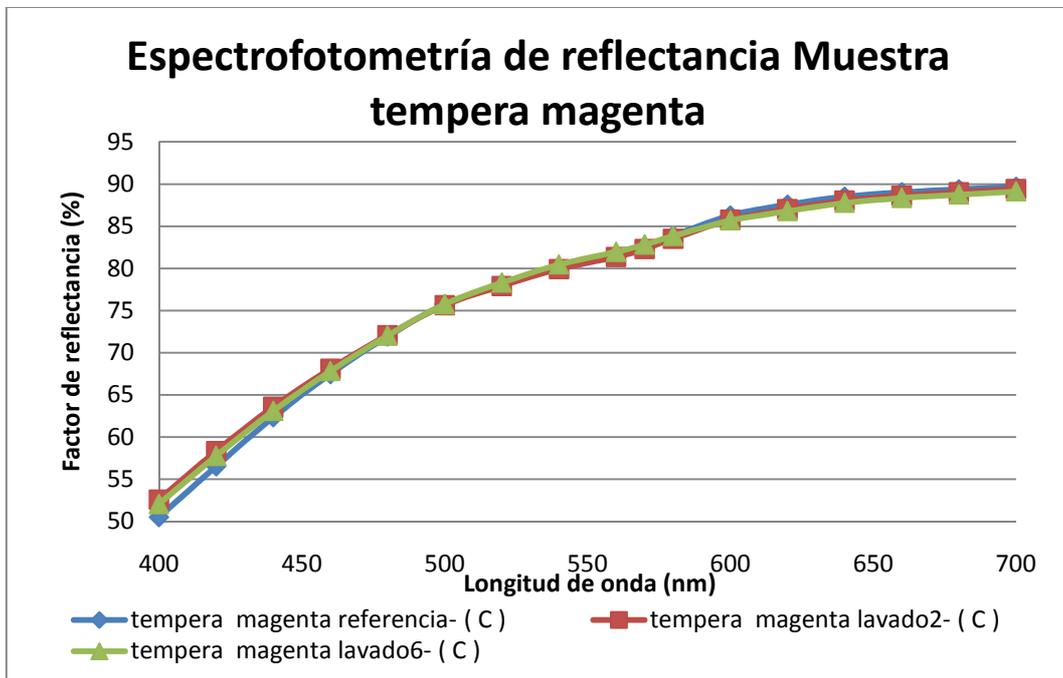


Gráfico 205. Espectrofotometria de reflectancia de la témpera magenta. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares a la no tratada. Por lo tanto, no existe variación ni degradación de los papeles.

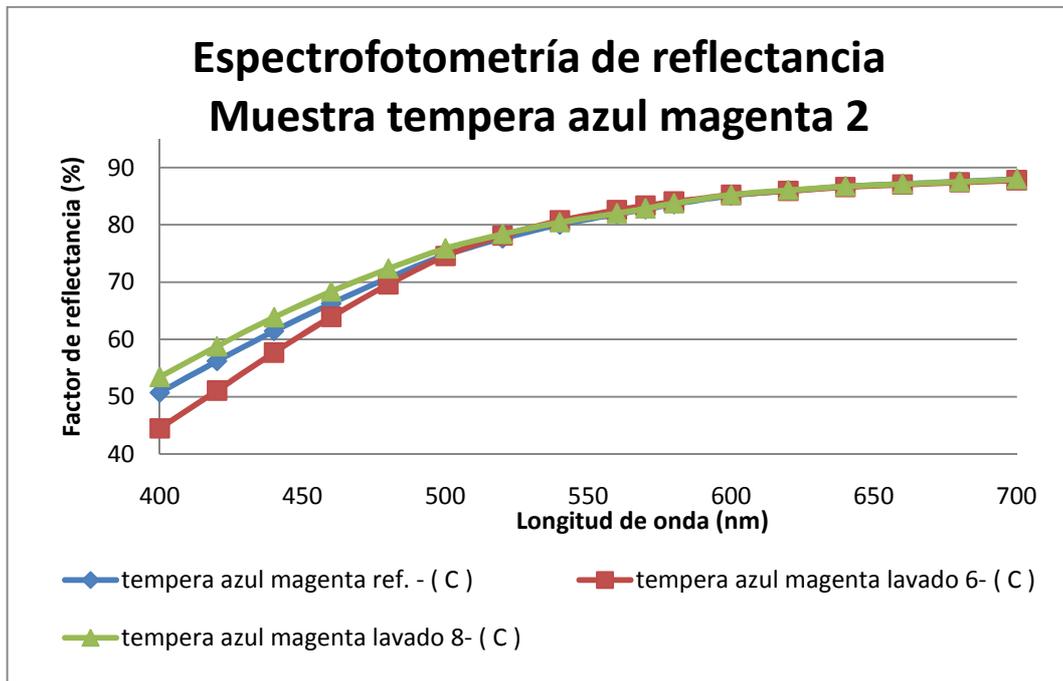


Gráfico 206. Espectrofotometría de reflectancia de la témpera azul magenta. El factor de reflectancia de los papeles del lavado6 tienen una pérdida de blancura entre los 400 y 475nm. Por encima de esa longitud de onda, los tres papeles están igualados. Por lo tanto el peor de los lavados es el 6 aunque los resultados no sean del todo malos.

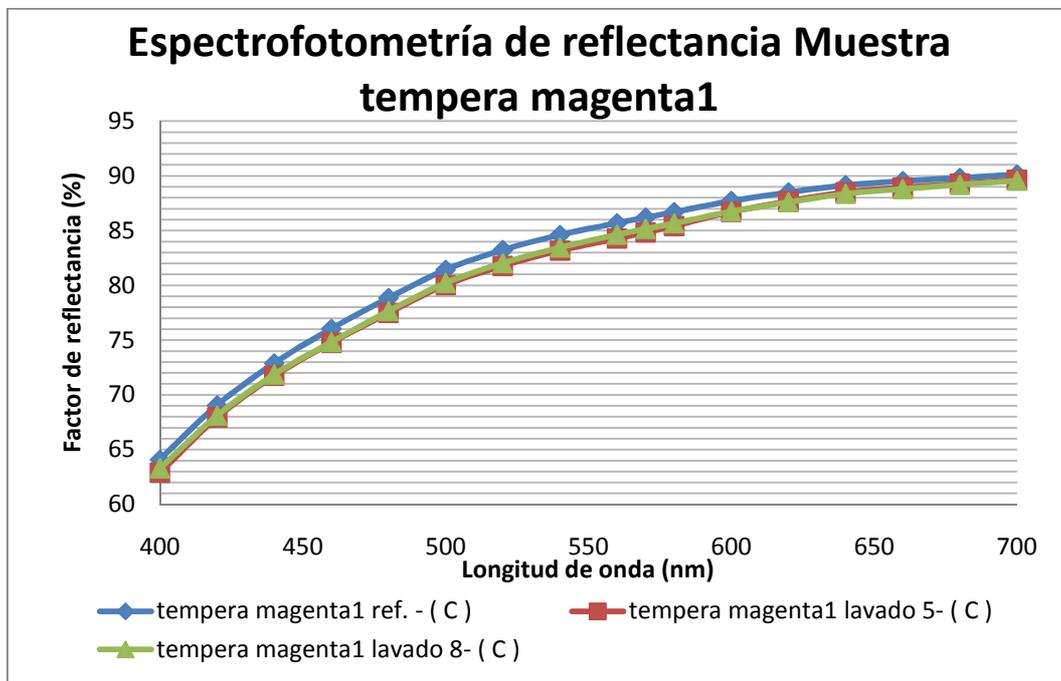


Gráfico 207. Espectrofotometría de reflectancia de la témpera magenta. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene. Esto puede ocurrir a causa de los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

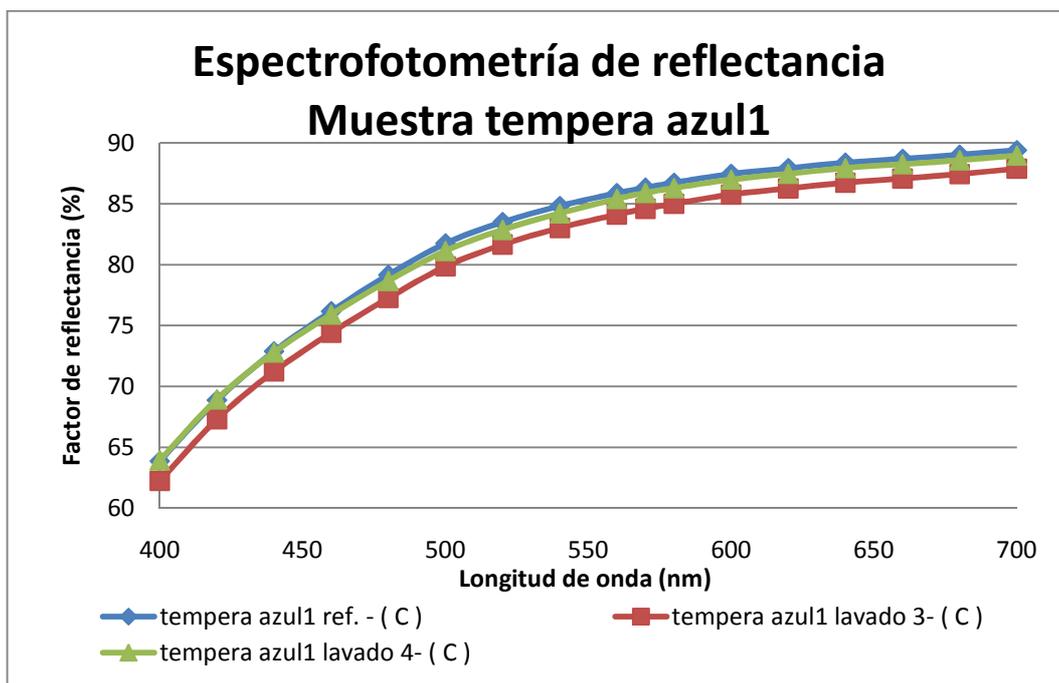


Gráfico 208. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene y el lavado 6 el que menos. Esto puede ser producido por los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

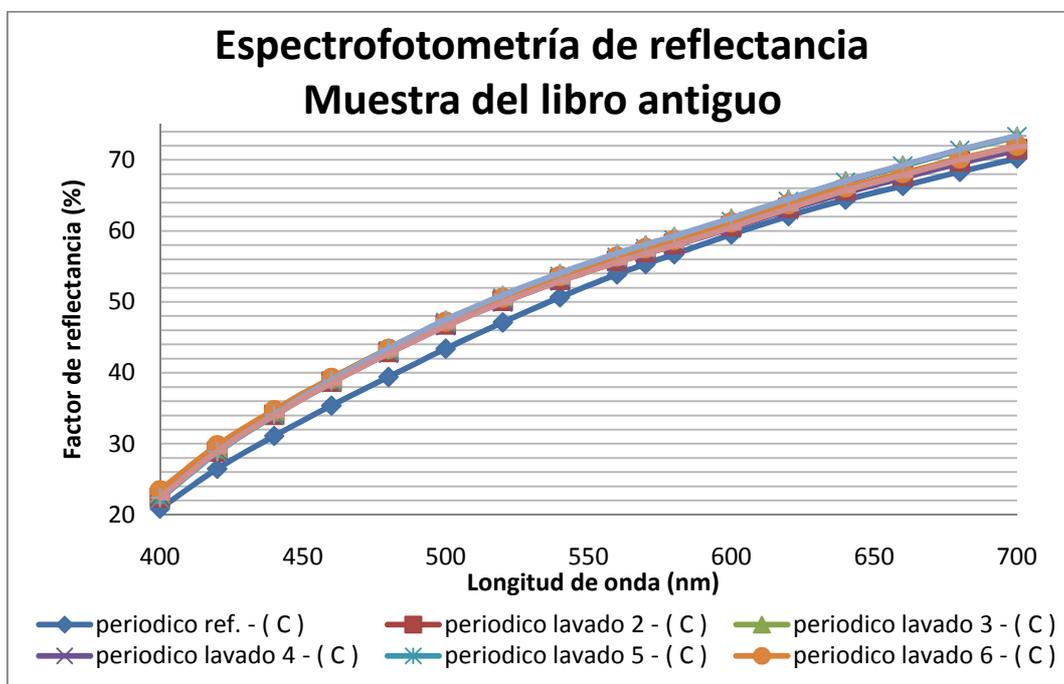


Gráfico 209. Espectrofotometría de reflectancia del libro antiguo. El factor de reflectancia del papel de referencia es inferior al de las muestras tratadas. Esto significa que las hojas del libro han aumentado su blancura o factor de reflectancia y que el tratamiento enzimático ha sido beneficioso para las fibras.

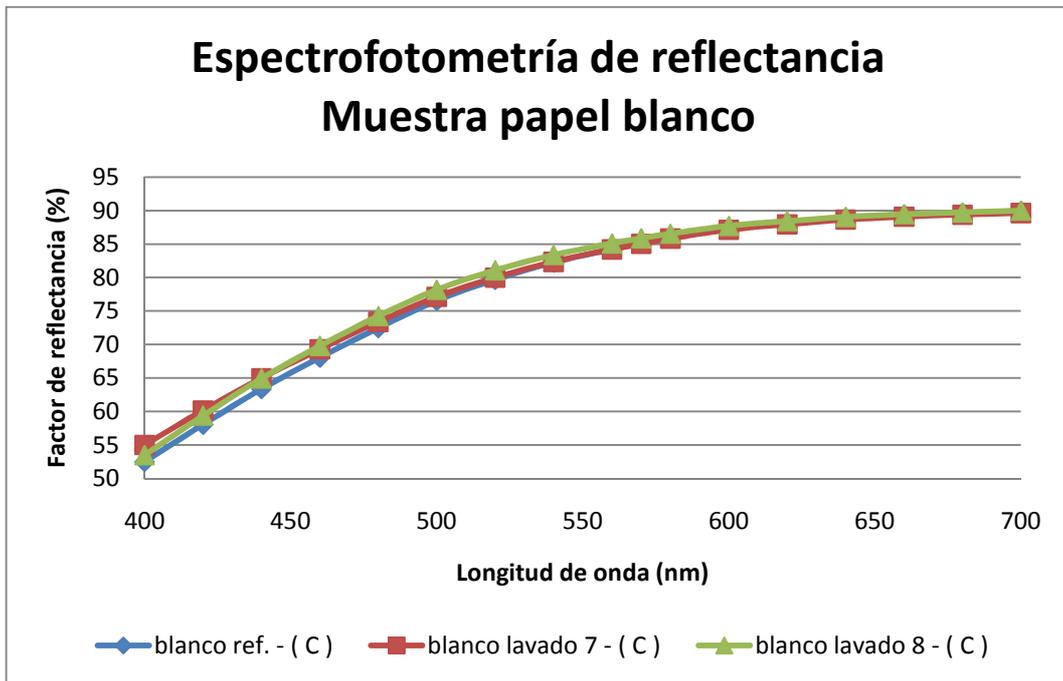


Gráfico 210. Espectrofotometría de reflectancia del papel blanco. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. Los papeles tratados están más blancos y por lo tanto el tratamiento enzimático ha funcionado.

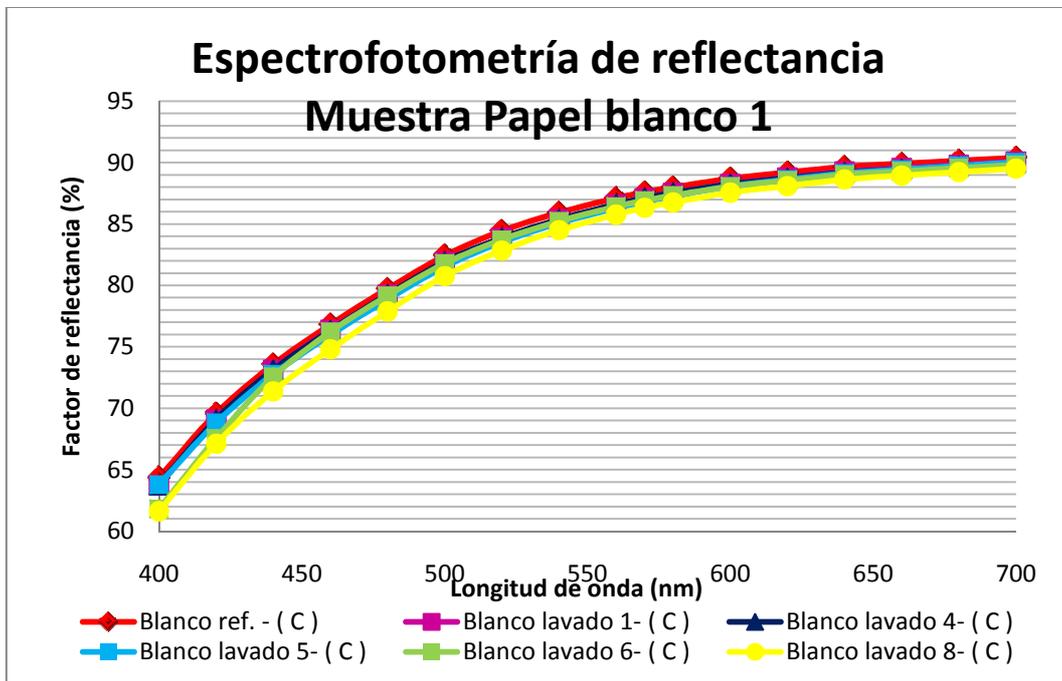


Gráfico 211. Espectrofotometría de reflectancia. El factor de reflectancia de las muestras tratadas son bastante similares. No obstante, el papel de referencia es el que mayor factor de reflectancia tiene y el lavado 8 el que menos. Esto puede ser producido por los lavados y no tiene mayor importancia. Por lo tanto, el tratamiento no ha afectado al papel.

Conclusiones de esta última parte de la investigación

Después de haber realizado todas las pruebas oportunas, se llega a la conclusión que el tratamiento más adecuado para los papeles es el gel preparado con el disolvente etanol (18 ml etanol, 4,5 ml de TpAc, 1,125 ml de celulasas/Tp Ac y mínimo 1,125 ml del sustrato β -cellobiosyl fluoride. H₂O).

Siempre deberá estar separado el gel del papel con un tejido no tejido para no dejar residuos del gel. Aunque su ausencia tampoco degrada el papel y los residuos pueden ser eliminados por la enzima agarasa.

Los mejores resultados obtenidos con los papeles del libro antiguo, es decir con papeles ácidos, de periódico, etc., se consiguen lavándolos con 0,5 % de etanol en agua destilada, 0,5 % de detergente en agua destilada y después, múltiples lavados con agua destilada para eliminar los residuos de detergente.

La temperatura de aplicación del gel es de 4 °C y nunca deberá superar los 15 °C porque el papel puede ser degradado.

Los lavados más convenientes para la eliminación e inhibición de las enzimas son casi siempre los que tienen 1% de etanol en Tp Ac, ya sea en solución o entre papeles secantes. Aunque también es cierto, que los otros lavados no afectan en exceso el resultado del tratamiento enzimático. Sin embargo, se aconseja no usar hiposulfito sódico o Tpool porque se ha comprobado que las fibras aparecen con más residuos y peor aspecto que con los otros lavados.