

## **Conclusiones**

*Confía en el tiempo que suele dar dulces salidas a muchas amargas dificultades.*

**Miguel de Cervantes**

---



## Conclusiones

La primera parte del trabajo es muy importante porque sirve para adquirir conocimientos generales sobre la naturaleza, el origen, la regulación o inhibición de la actividad enzimática y la nomenclatura de las enzimas. Este apartado ayuda a comprender cómo trabajan, el riesgo de su manejo y qué posibles enzimas se pueden emplear en restauración y conservación de obras de arte, dependiendo de las reacciones químicas que catalizan.

Por otra parte, en el primer capítulo, se realiza una revisión de los usos que se han efectuado hasta nuestros días en el campo de la restauración de obras de arte y se concluye que la mayoría de las enzimas son hidrolasas –amilasas, proteasas y lipasas- para realizar limpiezas y separaciones de estratos. Sin embargo, existe una gran variedad de enzimas capaces de catalizar muchas reacciones químicas y su eliminación es relativamente fácil: en dos lavados se elimina el 99% de las enzimas y con el tiempo pierden su estructura y la configuración tridimensional del centro activo, imposibilitando cualquier reacción con el sustrato. Por este motivo, se enfatiza en la necesidad de ampliar este estudio. Las enzimas no representan un alto riesgo para la salud y seguridad del trabajador, y son un método alternativo para tratamientos concretos más tóxicos. No obstante, existen diferentes inconvenientes como el coste, la preparación y la durabilidad de las enzimas. Sería conveniente investigar estudios de medios para facilitar su preparación, empleo y manejo con más seguridad.

En la última parte del primer capítulo, se efectúa una práctica con enzimas, comercializadas para los restauradores, consiguiendo eliminar manchas de chocolate, huevo, cola blanca y engrudo de harina. Estos productos no contienen demasiada información sobre el verdadero contenido de cada bote, ni la manera exacta de aplicar las enzimas y mejorar así su rendimiento.

Se observó que las amilasas no hidrolizaban bien el engrudo de harina, por lo que se supone que no contienen los cofactores necesarios para su correcta acción.

El bote con el mix de enzimas, no indica qué tipo de enzimas contiene. No obstante, después de los resultados obtenidos, se supone que tienen proteasas, lipasas y posiblemente amilasas según el tipo de manchas que consiguen hidrolizar.

La goma arábiga del guache y de la acuarela se ve deteriorada después de la exposición a la solución acuosa de las amilasas y del mix de enzimas.

En este tipo de limpiezas, es interesante emplear un microscopio óptico para controlar la supresión de cada estrato sin afectar a la capa pictórica.

Por lo tanto, las enzimas son una buena herramienta para suprimir ciertas manchas difíciles de eliminar con otros sistemas más tóxicos; siempre se deberá estudiar previamente cada estrato de la obra para sacar mayor rendimiento al tratamiento.

Estas proteínas poliglobulares son una clara alternativa a los métodos tóxicos y cancerígenos de los disolventes. Se pueden combinar con otros sistemas tóxicos, para reducir una prolongada exposición a los disolventes. Es decir que, podemos suprimir el estrato deseado hasta un cierto espesor, y posteriormente utilizar otro sistema que no afecte a la capa pictórica.

El segundo capítulo de esta investigación repasa la historia del papel, la fabricación manual e industrial, su composición estructural y química, así como la degradación y consolidación de los soportes celulósicos. Antes de adentrarse en la consolidación enzimática, era necesario saber y comprender cómo y de qué está hecho el papel, y saber si los papeles pueden contener sustancias inhibidoras que disminuyesen la efectividad del tratamiento de consolidación enzimática.

Por último, se hace un repaso de los adhesivos que se emplean para consolidar el papel y de las diferentes desventajas que pueden surgir al aplicar una cola a un papel; es decir, la alteración y la degradación de los colores de la obra, las posibles variaciones de las dimensiones o deformaciones del papel, así como la pérdida de información en el reverso (dibujos, escritos, etc.).

No existe un adhesivo ideal, todos tienen alguna desventaja: ya sea un polímero o una mezcla de varios adhesivos, los resultados pueden ser diferentes. Las mezclas de adhesivos son la mejor solución para consolidar un papel porque combinan sus propiedades, aumentando la resistencia mecánica y no alterando mucho el color del papel. Los adhesivos recomendados por varios autores son la metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, almidones y Paraloid B-75, porque la gelatina y

acetato de polivinilo degrada más el papel, las harinas y alcohol polivinílico amarillean. Las técnicas de laminación con disolventes son demasiado arriesgadas. La aplicación de demasiado disolvente puede hacer que la cola penetre mucho entre las fibras y desnaturalizar la obra, y por otra parte, poco disolvente hará que el papel japonés no se adhiera demasiado al documento.

Por este motivo hay que escoger el que mejor se adapte a cada tratamiento y se consolida la idea de buscar un tratamiento alternativo con enzimas para consolidar las fibras de papel.

El tercer capítulo engloba todos los materiales, las sustancias y la instrumentación necesarios para el desarrollo de la tesis. Se realizó un estudio para saber qué materiales y sustancias eran los más adecuados para la investigación. Por otra parte, se averiguó cuáles eran los sistemas y técnicas para preparar y analizar los papeles antes y después de cada prueba. Para la degradación de papel, se comprobó que las cámaras climáticas con rayos ultravioletas, eran las más eficaces a la hora de degradar los papeles. La manera más exacta de conocer la degradación del papel es mediante la realización de test mecánicos que miden la resistencia del papel. No obstante, se observaron las muestras con microscopía electrónica de barrido, espectrometría de absorción IR (FTIR) y espectrofotometría de reflectancia que permitieron conocer la evolución del estado del papel tras el tratamiento enzimático. Además, también se emplearon dos sistemas enzimáticos: uno con la glucosa oxidasa y el electrodo de Clark en el laboratorio de Roma y otro, con el sistema HRP-His.

En el laboratorio del departamento de química de la Universidad de la Sapienza en Roma, se usaron las enzimas glucosa oxidasa como método muy preciso de conocimiento de la degradación de los materiales celulósicos y se emplearon algas tratadas con mercurio como método de consolidación en papeles fotodegradados.

El mercurio fue empleado para comprobar si las algas bajo una estimulación o bajo estrés realmente llegaban a producir esterases, enzimas o sustancias, capaces de unir las cadenas de los materiales celulósicos. El mercurio es un metal altamente

contaminante y debería ser sustituido por otras sustancias o metales menos tóxicos como pueden ser el zinc o el calcio.

Se concluye que es necesario realizar más pruebas y determinar la actuación exacta de las algas sobre el papel. Los resultados positivos de estas pruebas podrían abrir un nuevo campo en el mundo de la restauración.

En el laboratorio de Lyon, se desarrolló en primer lugar el sistema enzimático HRP-His. Tras las múltiples modificaciones realizadas, este método enzimático utilizado para visualizar la degradación de las fibras celulósicas del papel, parece conseguir unos resultados aproximadamente fiables pero variables dependiendo de los factores que le rodean. Se ha visto a lo largo de las múltiples pruebas que las condiciones climáticas de temperatura y humedad relativa juegan un papel importante en los resultados y por lo tanto en la actividad enzimática de las diferentes enzimas. Por eso nunca se obtendrá exactamente la misma señal de un material celulósico en la cámara CCD. Cada vez que se realice una medición, se deberá medir los papeles deseados y también un papel de referencia para obtener unos resultados buenos.

Por otro lado, es de suma importancia controlar la limpieza del material (siempre debe estar limpio y seco), y la calidad de los tampones y sustancias empleadas para la prueba; nunca deben estar contaminados por microorganismos u otras soluciones.

Debido a la variabilidad de los resultados, es recomendable contrastar siempre los resultados con otros métodos de medición de materiales celulósicos u orgánicos, como por ejemplo, la microscopía electrónica, la espectroscopia de infrarrojos transformada de Fourier FTIR, la espectroscopia de reflectancia difusa, test mecánicos, etc.

Una vez desarrollado este sistema HRP-His, se investigó la posibilidad de aplicar enzimas como método de consolidación del papel. Al principio, era un sistema acuoso que podía degradar el papel. No obstante, tras las múltiples variaciones y mejoras, se consiguió alcanzar unos resultados buenos.

Tras los resultados obtenidos a lo largo de la aplicación enzimática, se puede decir que las celulasas son indispensables para la consolidación. Los lavados son de suma importancia para un buen resultado con el solvente y la solución tampón tras el tratamiento. Además fue demostrado que las celulasas consolidan las fibras de celulosa y no las otras sustancias presentes en la solución enzimática. La variación de las proporciones en el disolvente puede llegar a desintegrar el papel, por lo que se deduce que el efecto de las celulasas es directamente proporcional a la concentración de solvente. Su actividad se ve afectada por factores externos por lo que se emplea un gel, mejorando de esta manera los resultados y alargando el tiempo de aplicación de este sistema. El uso de un tejido no tejido, permitía no dejar residuos sobre el papel, difíciles de eliminar. Más adelante, se demostró que la temperatura óptima del tratamiento era de 4 °C y nunca se debía sobrepasar los 15 °C, por riesgo a un deterioro de las fibras celulósicas. Con una temperatura elevada, es más difícil de controlar la acción reparadora de las celulasas y estas pueden actuar como hidrolasas. Los lavados antes y después de los tratamientos son muy importantes para un buen resultado. Se ha comprobado que los papeles ácidos de fibras madereras tienen un resultado espectacular lavándolas antes del contacto con el gel. Y por último, hay que decir, que este gel enzimático no actúa de la misma manera en las fibras provenientes de árboles o de vegetales. Los resultados más destacables han sido siempre en papeles de fibras madereras. Las técnicas pictóricas inhiben también la acción del gel. Sin embargo el gel refuerza las fibras y permanece efectivo. Además la consolidación del papel con enzimas es permanente y no provoca un deterioro acelerado de la celulosa a través del tiempo.

Con esta investigación, se ha conseguido consolidar fibras celulósicas desde el interior, sin introducir ningún material extraño como los consolidantes. Se ha inventado un sistema con enzimas, inocuo para el restaurador, puesto que el uso de etanol no tiene efectos negativos en las personas.



---

## CONCLUSION

### Conclusion sur le marquage par HRP-His

Après diverses modifications, la méthode enzymatique utilisée pour visualiser la dégradation des fibres cellulosique, nous a permis d'obtenir des résultats plus ou moins fiables mais variant avec des facteurs tels que les conditions climatiques de température et d'humidité relative. Pour cette raison, les signaux obtenus sont variables d'un matériel cellulosique à l'autre.

Nous utilisons toujours un papier de référence afin de pallier à cette variabilité. Le matériel, les tampons et les substances utilisées devront être toujours propres. Du fait de la variabilité des résultats, il est recommandé de toujours comparer les résultats avec d'autres méthodes de caractérisation comme par exemple la microscopie électronique, le FTIR ou la spectrophotométrie de réflectance.

#### *Conclusions du gel enzymatique*

Grâce aux résultats obtenus tout au long de l'étude du système enzymatique de consolidation, nous pouvons conclure que les cellulases sont utilisables pour la consolidation des fibres de cellulose. La variation des proportions du solvant peut avoir un effet négatif sur le papier. De plus, l'effet des cellulases est directement proportionnel à la concentration en solvant et leur activité varie selon les facteurs externes. Nous avons donc décidé d'employer un gel afin d'améliorer les résultats et d'augmenter le temps d'application possible du système. L'utilisation d'un tissu non tissé permet de ne pas laisser sur le papier de résidus difficiles à éliminer. Nous avons également mis en évidence que la température optimale pour le traitement est de 4 °C et qu'elle ne doit pas dépasser les 15 °C. Avec une température élevée, l'action réparatrice des cellulases est plus difficile à contrôler, car elles commencent alors à fonctionner comme des hydrolases. Les lavages avant et après les traitements sont très importants pour obtenir un résultat correct. Nous avons vu que les papiers acides (vieux) présentent une amélioration spectaculaire de la résistance mécanique, si nous les lavons avant traitement, avec de l'éthanol, du

détergent et de l'eau distillée. Nous avons aussi démontré que les lavages avec le solvant et la solution tampon après le traitement, sont très importants afin d'avoir un bon résultat. Enfin, nous avons remarqué que le gel enzymatique ne travaille pas de la même manière sur les fibres qui proviennent des arbres que celles qui proviennent du coton. Les résultats plus remarquables ont toujours été obtenus pour les fibres de bois. Les techniques picturales étudiées inhibent un peu l'action du gel, sans toutefois en empêchent complètement l'action. Grâce à cette étude, nous avons réussi à consolider des fibres cellulosiques sans introduire de produits comme les consolidants. Nous avons mis au point un système non nocif pour le restaurateur, utilisant des enzymes. En effet, l'utilisation de l'éthanol n'a pas d'effets négatifs sur les expérimentateurs.