

ESCUELA NACIONAL DE CONSERVACIÓN, RESTAURACIÓN Y MUSEOGRAFÍA
“MANUEL DEL CASTILLO NEGRETE”

INSTITUTO NACIONAL DE ANTROPOLOGÍA E HISTORIA



**“EVALUACIÓN DE DOS PRODUCTOS BIOCIDAS EN IMPRESIONES FOTOGRÁFICAS DE
PLATA GELATINA EN SOPORTE DE PAPEL DE FIBRA”**

TESIS QUE PRESENTA
Susana Aurora Hoyos Velasco

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIADA EN RESTAURACIÓN

Directora
Mtra. Liliana Dávila Lorenzana

Asesores
Dr. Orlando Martínez Zapata
Mtra. Gabriela Cruz Chagoyán

“Photographs, which fiddle with the scale of the world, themselves get reduced, blown up, cropped, retouched, doctored, tricked out. They age, plagued by the usual ills of paper objects; they disappear; they become valuable, and get bought and sold; they are reproduced. Photographs, which package the world, seem to invite packaging. They are stuck in albums, framed and set on tables, tacked on walls, projected as slides. Newspapers and magazines feature them; cops alphabetize them; museums exhibit them; publishers compile them.”

Susan Sontag, On Photography, 1977, p. 4.

ÍNDICE

Introducción	7
Capítulo 1. Características de las impresiones fotográficas de plata gelatina y su susceptibilidad al deterioro biológico	11
1.1. Características químicas de las impresiones fotográficas de plata gelatina con soporte de papel de fibra	11
1.2. Factores que propician el desarrollo de microorganismos e identificación de sus efectos de deterioro.....	14
¿Qué son los hongos?	14
Principales factores que favorecen el crecimiento de los microorganismos	15
Alteraciones en impresiones fotográficas con soporte de papel de fibra	19
Capítulo 2. El uso de biocidas en materiales gráficos y fotográficos con soporte de papel.....	23
2.1 Revisión de los procesos de fumigación empleados en materiales con soporte de papel.....	23
Métodos mecánicos	24
Métodos físicos	25
Métodos con sustancias químicas	28
2.2 Los biocidas a base de extractos de cítricos en restauración	35
Principio activo de los extractos cítricos.....	35
Uso en materiales fotográficos.....	39
2.3 Los biocidas en nanopartículas	41
Antecedentes del uso de nanopartículas	41
Principio activo de las nanopartículas	41
Éviter®.....	42
Capítulo 3. Fase experimental: eliminación de microorganismos	45
3.1. Criterios de selección e identificación material de las fotografías de sacrificio	45
3.2. Identificación de los microorganismos en las probetas	46
Generalidades de los hongos empleados	46
Cepas seleccionadas	48
Metodología de cultivo	51
3.3. Selección del método de aplicación del Citricidal® y el Éviter® en las fotografías ..	62
3.4. Segundo cultivo y resultados	72
3.5. Segunda y tercera aplicación	78
3.6. Comparación de resultados con los registros de HR y T °C.	85
3.7. Conclusiones de la experimentación biológica.....	89
Capítulo 4. Fase experimental: evaluación de cambios físico-químicos	91
4.1 Evaluación de cambios en la gelatina: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR).....	93

Objetivos del análisis.....	94
Preparación de muestras de referencia de la gelatina.....	94
Metodología de análisis.....	95
Análisis de resultados	97
4.2. Evaluación de cambios elementales: Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)...	108
Objetivos del análisis.....	109
Metodología de análisis.....	109
Análisis de resultados	110
4.3. Evaluación de cambios cromáticos: Colorimetría.....	120
Objetivos del análisis.....	122
Metodología de análisis.....	122
Análisis de resultados	123
4.4. Conclusiones de los análisis físico-químicos	129
Conclusiones y líneas de investigación a futuro.....	131
Fuentes consultadas	137
Anexos	148
Espectros de reflectancia	150
Porcentaje en sólidos del Éviter®.....	153
Toma de imágenes en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	154
Valores iniciales y finales de las tomas colorimétricas	175
Hoja técnica de la gelatina Talas® usada para las probetas	178
Ficha técnica del Citricidal®	180

Agradecimientos

A mi familia, por su apoyo en estos 7 años, principalmente a mis papás y a mi hermana.

A Lili, Estíbaliz, Orlando y Gaby por darme la confianza para desarrollar este proyecto, y la oportunidad de seguir creciendo y descubriendo mi pasión profesional.

A Rodrigo y a Diana, por estar siempre.

A mis compañeros y amigos, que con el tiempo y las vivencias se volvieron familia.

A Iraís, Perla y la Mtra. Paty por su apoyo y orientación.

A Jaime y Ana Laura, a Luz y Nacho por su tiempo y apoyo.

A Nora y Armando por su apoyo con el estudio de FT-IR.

Al Ing. Mario Monroy Escamilla y la Subdirección de Laboratorios del INAH.

A Paty de la Garza. A Xochipilli por su disposición a compartirme los archivos de sus estudiantes y su experiencia.

À Chloé Lucas pour l'information fournie, pour m'envoyer son mémoire et les discussions à propos de son investigation et ses résultats.

To Olivia, for all the bibliography on mold issues.

Dedicada a Charly.

El estudio de FT-IR se llevó a cabo gracias al proyecto Infra-CONACYT-2014 225845 en el Laboratorio de Conservación, Diagnóstico y Caracterización Espectroscópica de Materiales (CODICE) de la Coordinación Nacional de Conservación de Patrimonio Cultural (CNCPC – INAH).

Introducción

Las fotografías tienen en muchos casos un valor histórico y documental, pues aunque su intención original no haya sido con este fin, las imágenes plasmadas transmiten la idea de un momento y un lugar precisos. Igualmente pueden tener (intencionalmente o no) cualidades artísticas y estéticas, a partir de la composición de la imagen, las luces, las sombras, el contraste, etc. Esta cuestión, que tiene muchas aristas y vertientes y por lo cual no se profundizará en ello, permite vislumbrar la importancia de una imagen y del resguardo de su integridad; siendo así, y como se ahondará más adelante, se entiende que la presencia de colonias de microorganismos en las impresiones fotográficas tiende a implicar una pérdida de la imagen capturada, merma la materialidad, y con ello la información que busca transmitir.

La naturaleza orgánica de la mayoría de los materiales constitutivos de las fotografías es un sustrato ideal para el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Debido a que un gran número de fotografías tienen soporte de papel, muchos de los tratamientos para restaurar documentos han migrado al área de la conservación de fotografías, extrapolándose de una especialidad a otra, con algunas alteraciones para adaptarse a la presencia de la capa de aglutinante (gelatina, colodión o albúmina) y a la presencia de una sustancia formadora de la imagen (plata, colorantes, etc.) (Hendriks, 1991, p. 288).

Uno de los materiales empleados en restauración de obra gráfica, que ha migrado al campo de la conservación de materiales fotográficos, es el biocida a base de extractos de cítricos, conocido como Citricidin, del cual actualmente una de sus variantes se produce bajo el nombre Citricidal®. En el campo de la restauración el Citricidin se empezó a usar en la década de los noventa por sus propiedades como “biocida ideal” (Cáceres Acereto, 1998, p. 109), sobre todo para la desinfección de documentos sobre papel, como alternativa al timol y al bromuro de metilo.

Para tener un mayor conocimiento y comprensión de las prácticas en torno a la eliminación de microorganismos y el uso de este biocida en la conservación de materiales fotográficos, en la presente investigación se hizo una revisión de los informes generados por los alumnos del Seminario-Taller Optativo de Conservación de Fotografías (2013-2016) y de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías-Programa Internacional (2008-2012) de la Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía (ENCRyM), entre otros. En esta revisión fue evidente la falta de un método ideal para el tratamiento de hongos en estos materiales y de una metodología establecida y sustentada para el uso del biocida en cuestión: las concentraciones reportadas varían entre el 0.2% (Cunha Boaventura, *et al.*, 2011, p. 82), 1% (Botello Miranda, 2014, p. 51; Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 49; Garavito Posada, 2009, p. 23) (Gutiérrez Olguín, *et al.*, 2011, p. 22) y el 2% (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 40); asimismo, los métodos de aplicación fueron variables (aunque esto se entiende fue en función del caso en cuestión): por inmersión (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, pp. 49, 79, 82, 120, 158), con pincel (Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 36), con hisopo (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 40; Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, pp. 14, 22, 26) o por aspersion (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, pp. 72, 154).

Por su parte, el Éviter® es un material recientemente utilizado para la desinfección en obra sobre papel, pero todavía no se ha empleado en en fotografías. Algunos estudiantes de servicio social de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la asesoría de la Lic. Xochipilli Rosell, en 2015 llevaron a cabo algunas pruebas para identificar su efectividad en libros. En este trabajo lo compararon con otra variante comercial del Citricidin conocido como Citrik®, y con formaldehido (Mendoza Morales, 2015, p. 7; Rodríguez Galván, 2015, p. 7). Si bien en estas pruebas el formaldehido mostró mayor efectividad, su alta toxicidad lo vuelve indeseable (Rodríguez Galván, 2015, p. 15), lo cual, de acuerdo al reporte, remitió al uso

del Citrik® como mejor opción biocida pues también reportó una gran efectividad, aunque la Lic. Rosell planteó una preferencia por el Éviter®¹.

Otro trabajo que dio pie a la investigación del Éviter® es la tesis de Buendía (Buendía Sánchez, 2017) en la cual concluyó que este producto era la mejor opción (entre las comparadas en el trabajo) para la desinfección de documentos con algunos hongos como *Chaetomium sp.* y *Phoma sp.* (p. 48).

La falta de investigación sistematizada y rigurosa que sustente el uso del Citricidal® en el campo de la restauración de fotografías, de la concentración y el medio de disolución que, en dado caso, garanticen su efectividad, y los potenciales efectos a corto plazo, mediano o largo plazo que pudieran tener en las impresiones fotográficas de plata gelatina son unas de las líneas principales que guían su uso en este trabajo. Por su parte, no hay estudios en torno al uso del Éviter® en conservación de materiales fotográficos; no obstante, a partir de este patrón de extrapolación de tratamientos del campo de la conservación de papel al de la foto se decidió probarlo para la presente investigación, con el fin de fundar bases para su eventual utilización.

A partir de esta información se diseñó un modelo experimental en el cual se pudiera evaluar la viabilidad y efectividad de su aplicación en archivos con grandes acervos fotográficos, siguiendo los parámetros de preparación y uso identificados en la bibliografía, y su inocuidad con los materiales fotográficos. Para este caso se decidió aplicar ambos productos por aspersion en materiales fotográficos de plata gelatina con soporte de papel de fibra, usando el Éviter® concentrado y el Citricidal® diluido en agua destilada y en agua-alcohol (50:50 v/v) a tres diferentes concentraciones, 0.5%, 1% y 2%.

Por otro lado, la falta de sustento con relación a los posibles efectos de ambos guiaron una experimentación para la evaluación de alteraciones que pudieran causar a corto

¹ Comunicación directa con la Rest. Xochipilli Rosell el 21 de octubre de 2016.

plazo en la estructura molecular de la gelatina, o cambios superficiales, por ejemplo de tono o brillo. Los análisis que se plantearon realizar fueron: espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), apoyado por el Laboratorio CODICE de la Coordinación Nacional de Conservación de Patrimonio Cultural (CNCPC – INAH), para la identificación de posibles cambios en la estructura molecular de la gelatina; microscopía electrónica de barrido (MEB), apoyado por la Subdirección de Laboratorios del INAH, para el identificar diferencias elementales superficiales de las fotografías; finalmente colorimetría en el laboratorio de fisicoquímica de la Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía (ENCRyM – INAH), para identificar cambios cromáticos en las imágenes.

Capítulo 1. Características de las impresiones fotográficas de plata gelatina y su susceptibilidad al deterioro biológico

1.1. Características químicas de las impresiones fotográficas de plata gelatina con soporte de papel de fibra

El material fotográfico más común en los archivos son las impresiones de plata gelatina de revelado² (en blanco y negro) sobre soporte de papel de fibra (Stulik & Kaplan, 2013, p. 27). Esto se debe a que éste fue el proceso más popular y comercial del siglo XX, desde sus inicios, alrededor de 1880, hasta la década de 1960, cuando llegan al mercado los papeles RC (*resin coated paper*) (Lavédrine, 2009, p. 139). Posteriormente a esto, si bien no dejaron de usarse, su uso fue disminuyendo radicalmente (Stulik & Kaplan, 2013, p. 6).

Por la naturaleza orgánica de sus principales componentes - la celulosa y la gelatina - las fotografías son sumamente susceptibles a ataques microbiológicos, razón por la cual es importante analizar y comprender la composición de sus estratos (ver estratigrafía en imagen 1) para entender los mecanismos de deterioro.

- Papel: celulosa

El papel es un material de origen vegetal principalmente compuesto por celulosa (Caneva *et al.*, 2000, p. 89), la cual es un polímero altamente higroscópico compuesto de moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos (Gillespie *et al.*, 1988, p. 1006). Debido a que el papel usado como soporte para las impresiones fotográficas debe ser libre de agentes foto-reactivos, como impurezas de hierro (u otros metales) o lignina³ (Weaver, 2008, p. 5) desde los inicios se buscó que fueran de la mejor calidad. Se inició usando papeles de trapo de algodón o lino; posteriormente se desarrollaron papeles

² Otro método de obtención de la imagen es por impresión directa. Ver subapartado sobre la naturaleza de la plata fotográfica en la siguiente página.

³ Componente natural de la madera que, en su estado natural, le confiere diversas propiedades, sin embargo su acidez fomenta el deterioro del papel lo cual lo vuelve un elemento indeseable en su composición.

industriales de pulpa de madera purificada – mezclando estos inicialmente 50:50 con papel de trapo, y teniendo luego una transición completa a los papeles 100% de madera libres de lignina por medio de procedimientos químicos (Valgañón, 2008, p. 51).

- Barita: mineral (sulfato de bario) + proteína de origen animal (gelatina)

Compuesta por sulfato de bario químicamente inerte aglutinado con gelatina de grado fotográfico («Barita», s. f.), el objetivo de esta capa intermedia entre el soporte y la imagen es dar una mayor regularidad a la superficie del papel, previo a la capa de gelatina y plata (Weaver, 2008, p. 5). Así mismo, la blancura del sulfato de bario permite generar mayores contrastes en la imagen.

- Gelatina: proteína

La gelatina es un compuesto altamente purificado derivado del colágeno (proteína), el cual se obtiene de algunos tejidos animales como la piel, tendones y huesos (Prockop & Guzmán, 1981, p. 53). Está constituida de cadenas peptídicas, las cuáles, a su vez, están compuestas por cadenas de 500 a 1000 amino-ácidos (la composición de la gelatina varía, dependiendo de su origen y de su proceso de fabricación) (Glafkidès, 1972, citado en Lucas, 2016, p. 115). Dichos amino-ácidos son moléculas con un grupo amino (-NH₂) y un grupo carboxilo (-COOH), unidos a un mismo carbono por un enlace peptídico (Lucas, 2016, p. 115). Ambos grupos tienen una función dentro de la composición de la gelatina, pues, al ser uno ácido (grupo amino) y uno básico (carboxilo) determinan las propiedades específicas de ésta (Haist, 1979, p. 53).

Al igual que la celulosa, tiene propiedades higroscópicas, por lo tanto, al hincharse permite la penetración de los agentes químicos requeridos para el proceso de revelado y fijado de la imagen fotográfica. Una vez seca (y manteniéndose en condiciones de humedad relativa y temperatura adecuadas) es una capa dura y resistente que protege las partículas de plata (Weaver, 2008, p. 5). Esto la vuelve un medio ideal como aglutinante para fotografía.

- Plata: metal

La imagen está formada por plata metálica. El tamaño y forma de las partículas de plata que la componen van a determinar su estabilidad; estas variables dependen del proceso de obtención de la imagen.

Para preparar las emulsiones fotográficas se usan haluros de plata (también llamados “sales de plata”). Éstos son compuestos de átomos de plata con elementos distintos, como cloro, bromo, yodo y flúor, los cuales al contacto con la luz, y posteriormente con los químicos de revelado⁴, forman cristales de plata metálica. Por ejemplo, en las fotografías de impresión directa las partículas son muy pequeñas ($0.5\mu\text{m}$) y esféricas (plata fotolítica). Esto se debe a que la reducción de las sales de plata en plata metálica se da únicamente por la acción de la luz (Hendriks, 1991, en Norris & Gutierrez, 2010, p. 227). Por su parte, en las fotografías de revelado la plata metálica se forma por medio de agentes reductores (Eaton, 1987, p. 48)⁵. Esta última, al ser una reacción química que aporta una mayor cantidad de energía, permite la formación de partículas de mayor tamaño ($>1\mu\text{m}$) y de forma más alargada. Gracias al mayor tamaño y la forma de la plata filamentaria, que además es más irregular (Hendricks, 1991, en Hess Norris, 2010, p. 227), es menos susceptible a deterioros químicos que la plata fotolítica (Fuentes de Cía & Robledano Arillo, s. f., p. 2).

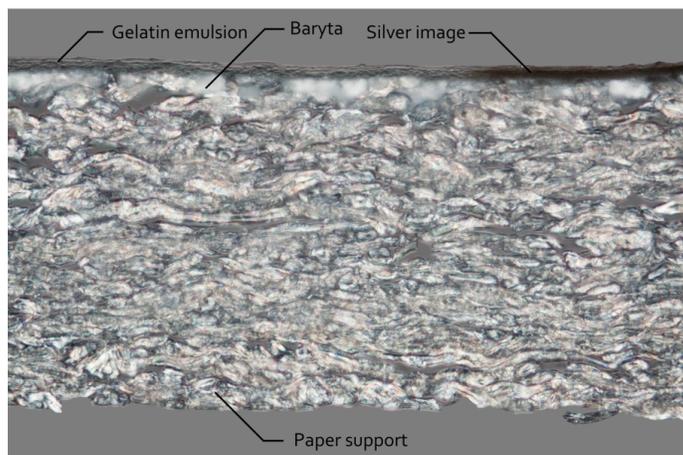


Imagen 1. Estratigrafía de una fotografía de plata gelatina con soporte de papel de fibra. Imagen: Graphic Atlas (Image Permanence Institute, 2018).

⁴ Proceso durante el cual las sales de plata, al reaccionar con el revelador y posteriormente con el fijador se vuelven solubles y son enjuagadas para dejar una imagen de plata metálica (Eaton, 1987, p. 77).

⁵ Ver proceso de revelado en la página 15.

1.2. Factores que propician el desarrollo de microorganismos e identificación de sus efectos de deterioro

¿Qué son los hongos?

Los hongos son organismos heterótrofos⁶, cuya reproducción es por medio de esporas que son fácilmente esparcidas en el ambiente y se desarrollan cuando cuentan con las condiciones de humedad, de temperatura y una fuente de nutrientes adecuados (Valdez Marín, 1992, p. 16). Cuentan con dos fases principales en sus ciclos de vida (imagen 2):

- Fase vegetativa, cuando se encuentra en forma de espora (o conidio, fase “C” de la imagen 2). En este estado se encuentran esperando a encontrar el sustrato que le proporcione los nutrientes necesarios y las condiciones adecuadas para su desarrollo (germinación, etapa “D” de la imagen 2). Pueden permanecer en este estado durante años (Florian, 2003, p. 65).
- Fase reproductiva. En este estado las esporas desarrollan micelios (conjunto de hifas; etapa “A” de la imagen 2) que se adhieren al sustrato con el fin de adquirir sus nutrientes y crecen hasta formar colonias sobre la superficie (Florian, 2003, p. 65).

⁶ Necesitan obtener su alimento de otros seres vivos o materia orgánica ajena a ellos, mediante la secreción de enzimas que permiten la degradación del sustrato a formas más simples y fáciles de procesar, a diferencia de los autótrofos que son capaces de producir sus propios nutrientes, por ejemplo, mediante la fotosíntesis (Universidad Internacional de Valencia, 2017).

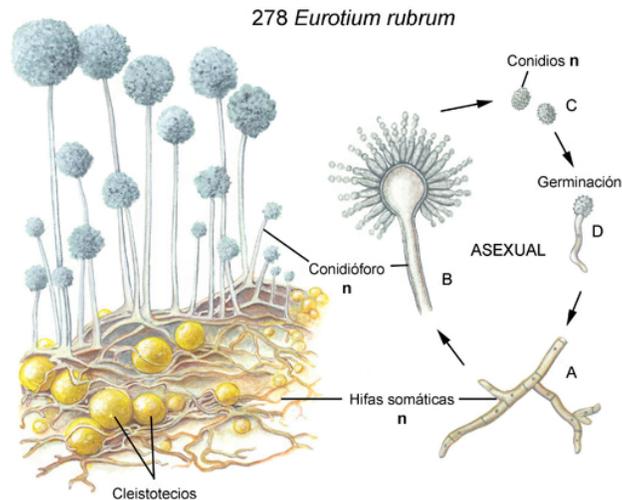


Imagen 2. Ciclo de vida asexual del *Aspergillus ruber*, conocido como *Eurotium rubrum* en su fase sexual. (Herrera & Ulloa, 2004, p. 229)

Principales factores que favorecen el crecimiento de los microorganismos

- Agua y humedad relativa (HR) mayor a 65%:

El agua que puede afectar cualquier tipo de obra o documento hechos con materiales orgánicos debe considerarse de dos tipos: la inherente a los materiales y el agua externa, tanto líquida como el vapor de agua presente en el aire (Valgañón, 2008, p. 85). Una exposición prolongada a un ambiente húmedo, además de provocar alteraciones directamente en las obras, como corrosión de los metales o hinchamiento de las fibras al absorber el agua, favorece el desarrollo y crecimiento de microorganismos. La HR más propicia para el desarrollo de hongos es entre 65% y 70%, aunque se pueden seguir desarrollando en condiciones de humedad relativa muy altas (Valgañón, 2008, p. 160), mientras que a baja HR su desarrollo queda latente (Florian, 2003, p. 65).

Debe tenerse en mente que la humedad es sólo uno de los factores implicados y que no actúa por sí misma, si no en conjunto con otros factores, principalmente la temperatura (Valgañón, 2008, p. 160).

- Temperatura (T)

La temperatura es una variable que influye directamente en la velocidad de las reacciones bioquímicas, siendo éstas más intensas cuando suceden a una temperatura más alta (Caneva *et al.*, 2000, p. 30). En el caso particular de los hongos, las temperaturas altas aceleran la actividad metabólica de estos microorganismos (Florian, 2002, p. 55; Morales Samper, 2006, p. 73). Es importante considerar que la mayoría de las especies tienen una mayor tasa de crecimiento entre los 23.8°C y los 28.7°C (Florian, 2002, p. 57), empero su crecimiento se puede desarrollar desde los 2°C hasta los 40°C (Valgañón, 2008, p. 160).

Estando a temperaturas bajo cero las esporas no mueren, si no que entran en fase de dormición, estado que les permite sobrevivir en ambientes adversos y al encontrarse de nuevo en condiciones favorables, esporular y desarrollarse (Florian, 2002, pp. 57-58).

- Circulación y calidad de aire

Al haber una constante circulación de aire se evita que las esporas se depositen en los materiales que pueden servir de sustrato y como fuente de nutrientes. Es importante que el aire que circule esté lo más limpio posible pues un aire de mala calidad podría ser incluso contraproducente ya que favorecería la entrada de polvo y esporas, sobre todo en las ciudades más industrializadas y con gran actividad (Lavédrine, 2003, p. 99). Esto se puede lograr, en caso de ser posible, mediante la filtración del aire con sistemas de purificación que permiten incluso la filtración de gases contaminantes (como ozono, derivados del azufre o del nitrógeno, etc.), aunque puede llegar a ser una medida extremadamente cara y no cualquier archivo podría costear su compra y mantenimiento. Algunos tipos de filtros para partículas más sencillos están hechos a partir de textiles de poliéster, polietileno o poliuretano (Lavédrine, 2003, p. 104), que pueden ser más costeables.

En términos generales, la situación más importante a considerar es la interacción de estos tres factores que se acaban de mencionar: temperatura arriba de 20°C, en conjunto con una humedad relativa mayor a 65% y una deficiente circulación de aire darán como

consecuencia el ambiente ideal para el crecimiento prolífico de hongos, no obstante el tiempo de crecimiento de las colonias depende de las especies y puede variar de tres a cuatro días, a varias semanas (Arenas Guzmán, 2018, p. 56; Arias Cifuentes & Piñeros Espinosa, 2008, p. 33; Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2014, p. 1).

En la medida de lo posible, estas variables se deben mantener controladas, y, como mencionan Caneva *et al.* (2000, p. 150), en algunos casos es suficiente con alterar alguna de las variables mencionadas para detener (o alentar) el ciclo de desarrollo. No todos los inmuebles que albergan materiales fotográficos (archivos, bibliotecas, museos, de índole pública o privada...) cuentan con las condiciones para lograrlo, por lo cual desde muchos años atrás se ha procedido a buscar opciones llamadas “remediales” para luchar contra estos agentes de deterioro.

- Disponibilidad de nutrientes

Para poder desarrollarse deben contar con una fuente de alimento que les proporcione la energía necesaria para su crecimiento. Los nutrientes más comunes de los cuáles lo pueden obtener son los carbohidratos, azúcares (glucosa, maltosa, sacarosa), amino ácidos y polialcoholes (Deacon, 1988, p. 118; Florian, 2002, p. 61); todos estos pueden ser encontrados en casi cualquier tipo de sustrato, lo cual facilita su desarrollo en medios muy diversos.

- Potencial de hidrógeno (pH)

Otro factor que es importante considerar es la acidez del sustrato (pH). Los hongos suelen tener un mayor desarrollo en sustratos ácidos a neutros, cuyo pH varía entre 3 y 7 (Florian, 2002, citado en Lucas, 2016, p. 113). Esto es relevante dado que tanto la gelatina como el papel cumplen con esta variable: por un lado, la gelatina tiene un pH promedio de 5.7 (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 19) siendo su

rango isoelectrico⁷ entre 4.7 y 5.4 (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 7).⁸ Por su parte, el papel tiene un pH más variable, y aunque sabemos que los papeles para uso fotográfico siempre se ha buscado que sean de la mejor calidad, tienen una constante tendencia a la acidificación con el paso del tiempo debido a la degradación natural de la celulosa pudiendo llegar a tener un pH hasta de 3⁹ (Barrow, 1969, citado en Zepeda Martínez, 2010, p. 33). A su vez, el proceso mismo de revelado de las impresiones, debido a los químicos empleados en sus diferentes etapas, puede llegar a ser un factor de acidez de los materiales como se explica a continuación:

- Revelado: se realiza por medio de un agente revelador cuyos ingredientes principales son la hidroquinona (1,4 – dihidroxibenceno) y el metol (sal hemisulfatada de 4 (metilamino) fenol). En este paso el pH de la solución es básico para que la hidroquinona reaccione (Eaton, 1987, p. 47).
- Baño de paro: es una solución de un ácido suave (como ácido acético diluido) que, al neutralizar la alcalinidad del revelador, permite detener la reacción de revelado. (Eaton, 1987, p. 73).
- Fijado: este paso permite detener por completo la reacción entre las sales de plata y la luz, que de lo contrario provocarían el ennegrecimiento de la impresión. Este proceso se lleva a cabo en una solución de tiosulfato de amonio o de sodio y el pH suele estar entre 3.1 y 5.2 dependiendo del proceso de fijado que se lleve a cabo (Eaton, 1987, p. 77).
- Enjuague: con agua corriente para eliminar todos los químicos residuales posibles.

Se ha demostrado que, a pesar de los enjuagues, no se puede eliminar el 100% del fijador del papel debido a la porosidad de las fibras (Walls & Attridge, 1977, p. 220),

⁷ A este pH las cargas eléctricas de los grupos ácidos (amino (-NH₂)) y de los grupos básicos (carboxilo (-COOH)) que componen a la gelatina se neutralizan (Haist, 1979, p. 53).

⁸ Específicamente para la gelatina tipo B que es la empleada para fotografías y conservación fotográfica, la cual es extraída de piel de becerro y de huesos (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 7).

⁹ Dato basado en una investigación sobre la relación entre la acidez y el deterioro de papeles en libros, sin embargo debemos recordar que no fue hasta 1929, gracias a la Eastman Kodak Company que se hicieron y comercializaron papeles especiales para impresiones fotográficas (Gray, 1987, p. 38).

permaneciendo una pequeña cantidad de este producto encapsulada en el material, favoreciendo su tendencia a la acidez. Ésta acidez de los componentes de las fotografías se ve potenciada por la secreción de enzimas que producen los microorganismos para la degradación de los materiales, la cual tiende a acidificar los mismos medios (Florian, 2002, p. 60).

Alteraciones en impresiones fotográficas con soporte de papel de fibra

Los deterioros en los materiales fotográficos se pueden dar a partir de factores externos como las condiciones ambientales o la manipulación de los materiales, o por factores intrínsecos como la composición química y el procesamiento del proceso fotográfico mismo (Valdez Marín, 1992, p. 12).

En este apartado nos enfocaremos a los deterioros causados por agentes microbiológicos, los cuáles tienen como consecuencia alteraciones químicas y mecánicas tanto en el soporte de papel, como en la gelatina del aglutinante de la imagen fotográfica. En el caso de los hongos, al no ser capaces de sintetizar el carbono por sí mismos, requieren de un sustrato que los provea de los nutrientes necesarios, para lo cual degradan sus componentes en cadenas más simples que puedan absorber (Florian, 2003, citado en Lucas, 2016, p. 113) y, como se explica a continuación, es durante este proceso que dichas alteraciones suceden en las fotografías.

Alteraciones del soporte de papel

Debilitamiento y coloración del papel

La degradación del papel se presenta de diversas formas. Por una parte, los deterioros químicos que se generan en la celulosa se dan a partir de la degradación de las cadenas poliméricas. La celulosa es un polisacárido compuesto de cientos de cadenas de glucosa, un carbohidrato más simple (Bertalan *et al.*, 1994, p. 5). Los microorganismos, al no poder procesar la celulosa en su forma compuesta, segregan enzimas – celulasa –

que permiten la ruptura de las cadenas en su forma más simple, los monómeros de glucosa (Paredes Medina, Álvarez Núñez, & Silva Ordoñez, 2010, p. 82).

El daño químico en la estructura molecular del material, en conjunto con el crecimiento de las hifas y su anclaje al soporte, provocan el debilitamiento del papel, volviéndolo friable y menos resistente a deterioros mecánicos como desgarres y roturas (Valdez Marín, 1992, p. 26). Por otra parte, el desarrollo de las colonias fúngicas provoca manchas que cambian la coloración del papel y llegan a verse como concreciones coloridas en la superficie (imagen 3).

Es importante tomar en cuenta que un soporte en buen estado de conservación le proporciona estabilidad a la imagen fotográfica y que, en caso de pérdida de soporte, aunque el aglutinante se encuentre en buen estado, la pérdida de la imagen es inevitable.



Imagen 3. Ejemplo de coloración por hongos sobre papel. (Archives outside, 2010)

Alteraciones de la gelatina

Las alteraciones que se generan en la capa de gelatina son, sin duda, las más problemáticas, debido a que todas implican cambios químicos en su estructura molecular, modificando la imagen y su apreciación y, en casos extremos, su pérdida.

Disgregación

El contenido de agua de la gelatina depende del nivel de agua en el ambiente y ante un aumento de la humedad relativa ambiental, la concentración de agua al interior de la película aumenta¹⁰ (Florian, 2003, p. 62). En contacto con agua (o a alta humedad relativa) la gelatina se hincha y obtiene una consistencia más suave que permite con mayor facilidad un anclaje más profundo de los microorganismos a la imagen fotográfica (imagen 5). Éstos, para llevar a cabo su proceso de nutrición, secretan enzimas¹¹ que causan la desnaturalización de las cadenas proteicas y así la ruptura de los enlaces peptídicos. Al llevar a cabo esto, logran acceder a las cadenas de carbono de los aminoácidos que requieren para su subsistencia (Lucas, 2016, p. 116). Esta desnaturalización de las cadenas proteicas a nivel microscópico, aunada a la mayor cantidad de agua en su estructura y a las enzimas secretadas por los microorganismos, provoca una mayor friabilidad de la gelatina, resultando en su disgregación.

Concreciones fúngicas y coloración

El crecimiento de colonias de hongos en la superficie de la imagen fotográfica puede llegar a provocar una disminución o pérdida de la legibilidad de la imagen, pues suelen expandirse sobre la superficie de la imagen (imagen 4). Estas concreciones suelen observarse como capas de filamentos blancos, verdes, o incluso coloridos, pues, como se vio anteriormente, en algunos casos los hongos secretan sustancias pigmentadas.

¹⁰ Este proceso es paulatino y depende directamente de la tasa de aumento de la humedad ambiental, aumentando más bruscamente en la gelatina cuando el aumento de HR es rápido y más pausadamente si el aumento es lento. Ante la disminución de la HR el proceso es el mismo.

¹¹ En el caso de la gelatina, secretan gelatinasa, una enzima específica que permite los procesos de degradación subsecuentes (Abrusci *et al*, 2006, citado en Lucas, 2016, p. 116).



Imagen 4. Impresión fotográfica con hongos. (Textures.com, s. f.)

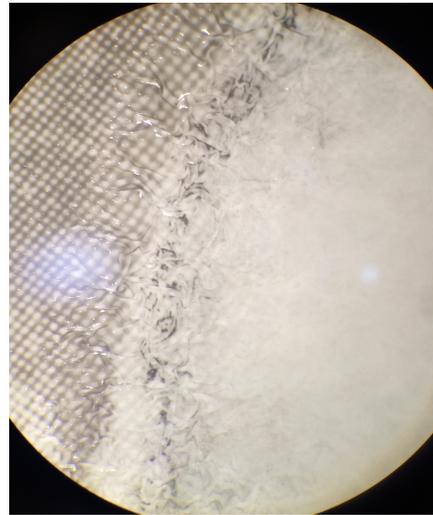


Imagen 5. Alteración por el crecimiento de las hifas, en la gelatina de una fotografía inoculada con *Alternaria* sp., a los 20 días de la inoculación. 10X. Foto: Susana Hoyos.

Alteraciones de la plata

En investigaciones previas sobre deterioro fúngico en materiales fotográficos, Lourenço y Sampaio (2007, p. 26) observaron que la plata, debido a su naturaleza inorgánica, no cumple como nutriente de los microorganismos y por ende no tiende a propiciar su desarrollo; el crecimiento de colonias fúngicas lo identificaron con mayor intensidad en las áreas de luces, donde la gelatina carece (o tiene una menor cantidad) de plata. Esta observación la hizo también Garavito (2009, p. 24). Así, las alteraciones que ésta podría sufrir son más bien colaterales a los cambios que sufre la gelatina.

En conjunto, el crecimiento de microorganismos en la capa de la imagen fotográfica y sus procesos metabólicos para la absorción de nutrientes alteran la imagen (y en consecuencia, de la información), e incluso propician su pérdida parcial o total. Esta pérdida de imagen, como se mencionó en la introducción, puede llegar a alterar los diferentes valores que podría tener la fotografía (artísticos, documentales, económicos, etc.) de forma que, como se verá a continuación, erradicarlos se ha vuelto un campo de investigación importante.

Capítulo 2. El uso de biocidas en materiales gráficos y fotográficos con soporte de papel

2.1 Revisión de los procesos de fumigación empleados en materiales con soporte de papel

Una gran parte de la memoria social se encuentra plasmada en documentos con soporte de papel. Debido a su naturaleza orgánica, altamente susceptible al deterioro biológico, a lo largo de los años se han buscado formas de preservarlo de los diferentes agentes que pueden afectarlo (Sequeira *et al.*, 2012, p. 67).

Como hemos visto, algunos de los agentes más dañinos son los microorganismos. Debido a los deterioros que causan, tanto a los materiales como a los usuarios, erradicarlos ha sido un tema de investigación que ha llevado a probar distintos agentes químicos como métodos físicos de limpieza y desintoxicación.

La prevención más efectiva del microbiodeterioro (ya sea por hongos o bacterias) se da al operar sobre las variables que pueden inhibir su presencia (humedad relativa, temperatura, etc.)¹² (Caneva *et al.*, 2000, p. 150), sin embargo llega a haber casos, como emergencias a raíz de desastres naturales o accidentes (como fugas de agua) en los cuales el incremento de agua en el ambiente es sumamente drástico y potencia el desarrollo de los microorganismos, complicando el control sobre la situación. Ante este tipo de situaciones, considerando que las condiciones geo-climáticas y las características de los inmuebles de un gran número de bodegas y archivos en México no son las óptimas, aunado a la escasez de recursos por parte de éstos, no es siempre posible llevar un control adecuado de dichos factores. Por lo tanto es necesario contar con un plan de acción que permita el control microbiológico en las colecciones en caso de identificar materiales afectados.

¹² Ver apartado *Principales factores que favorecen el crecimiento de microorganismos*, p. 11.

Los biocidas que se han usado y se usan actualmente tienen características químicas y mecanismos de acción variables; su eficacia (que sean fungistáticos o fungicidas)¹³ depende de esto, así como del organismo que se busque atacar, la magnitud del ataque microbiológico y el tipo y condiciones del soporte en el que se encuentran. A continuación se presenta una revisión de las medidas de limpieza que se han empleado en fotografías.

Métodos mecánicos

a. Brochas/pinceles y aspiradora

El uso de brochas y aspiradoras es uno de los métodos más usuales para la limpieza de los materiales con ataque fúngico. Se procura que, antes de llevar a cabo cualquier procedimiento de limpieza, los materiales se sequen. Al reducir la cantidad de agua contenida en su composición permite también la desecación de las colonias de hongos y de esta manera es más fácil su remoción (Bertalan *et al.*, 2017). Con las aspiradoras se pueden remover las esporas sin esparcirlas y en caso de ser necesario (y únicamente si el estado de conservación del sustrato es suficientemente estable) se pueden emplear brochas que permitan una remoción más profunda (Bertalan *et al.*, 2017). En casos de materiales muy frágiles el uso de la aspiradora es muy efectivo; se puede incluso cuidar más el proceso colocando una malla en la boquilla del equipo, la cual permite disminuir ligeramente la intensidad de la succión, a la vez que retiene cualquier material que potencialmente se pueda desprender. Lo ideal es usar aspiradoras con filtro HEPA¹⁴ y/o filtro de agua. Éstas atrapan las esporas y partículas más pequeñas y protegen más al usuario que las aspiradoras comunes.

Se utilizan brochas o pinceles sólo si el material fotográfico tiene un nivel menor de daños estructurales o un sustrato estable. En caso de que el aglutinante de gelatina esté

¹³ Un agente fungistático, a diferencia de un agente fungicida, no mata los hongos, sino que inhibe su desarrollo (Marín Serafín, 2006, p. 11).

¹⁴ Acrónimo para *High Efficiency Particulate Air*, son filtros de alta eficiencia para partículas en el aire (traducción por la autora).

muy hidrolizado o con una alta disgregación (que podría incluso ser provocada por el anclaje de las hifas) no es recomendable usarlas pues se puede propiciar el desprendimiento de la gelatina del soporte y causar mayores daños a la imagen.

b. Uso de campanas de extracción

El uso de campanas de extracción no es un método por sí mismo, sino un apoyo en el desarrollo de procesos de limpieza mecánicos, incluyendo la aspiración. Las campanas de extracción permiten direccionar el aire hacia una salida puntual evitando el esparcimiento de polvo o, en este caso, de esporas, sobre todo en los casos en los que se realiza una limpieza con brochas (Bertalan *et al.*, 2017).

c. Gomas y esponjas

En algunos casos se ha sugerido el uso de polvo de goma o algunos tipos de esponjas para una limpieza más profunda, una vez eliminado el crecimiento mayor. Sin embargo este procedimiento sólo se recomienda realizarlo en el reverso de las fotografías, es decir en el papel. El uso de estos métodos en el anverso puede resultar contraproducente debido a la fragilidad de la gelatina disgregada por microorganismos (Bertalan *et al.*, 2017).

Métodos físicos

a. Congelación

Uno de los métodos más comunes para algunos casos es la congelación de materiales en refrigeradores modificados. Este procedimiento es sobre todo para problemas de insectos, pues como se mencionó en el apartado *Principales factores que favorecen el crecimiento de microorganismos* (p. 13), en el caso de los microorganismos, si bien los micelios mueren, las esporas solamente entran en fase de dormición.

b. Radiación Gamma

Los rayos gamma son ondas que, por su muy alta energía (ver imagen 6), alteran el ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células, y por lo tanto su muerte a largo plazo. De acuerdo a lo expuesto por Lucas (2016, p. 122) en la revisión bibliográfica sobre métodos de desinfección de microorganismos por irradiación de diferentes de frecuencias de onda¹⁵, no hay un consenso con relación a la frecuencia de onda necesaria pues esto depende de factores como el estado de desarrollo del microorganismo, la temperatura y la cantidad de oxígeno. Según los diferentes estudios referenciados por Lucas (2016, p. 123) (Flieder & Capderou, 1999; Pavon Flores, 1975; Ramière, 1988), las dosis varían entre 2 a 3 kGy y 18 kGy¹⁶ dependiendo de las variables mencionadas anteriormente. Para complementar estos estudios, Lucas reporta que se han realizado pruebas para determinar la pertinencia de este método para la desinfección de documentos (Butterfield, 1987 & Nitterus, 2000, en Lucas 2016, p. 124). En este caso se identificó una despolimerización y oxidación de la celulosa causando deterioros como disminución de la resistencia mecánica y mayor amarillamiento. En el caso de las fotografías también hay una despolimerización de la proteína que compone la gelatina. Además es importante considerar que, al igual que la luz, los efectos son acumulativos (Lucas, 2016, p. 123).

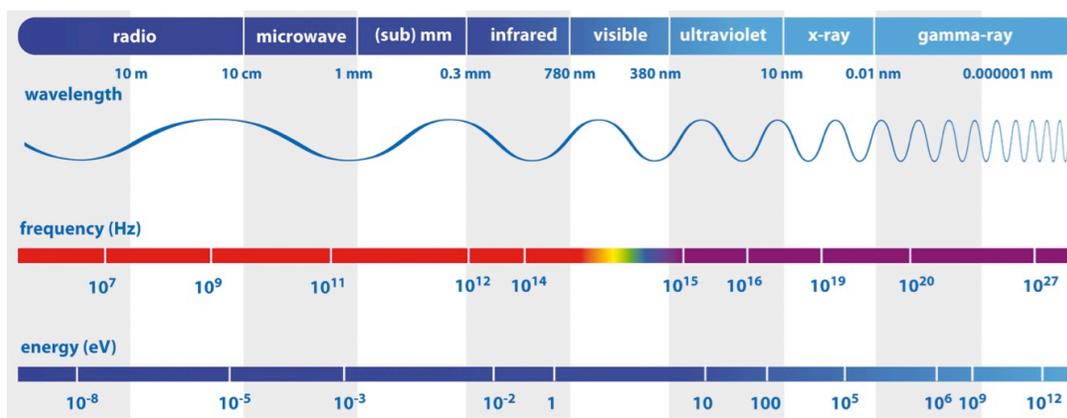


Imagen 6. Espectro electromagnético (Stanford Solar Center, 2015)

Del lado derecho del rango de luz visible se pueden apreciar las ondas UV, de longitud de onda ligeramente más corta (10 – 380 nm) y por lo tanto ligeramente mayor energía que la visible (380 – 750 nm), y las gamma, cuya frecuencia es mucho más baja (0.01 – 0.000001 nm) y por lo tanto su energía es más alta que las demás. Del lado izquierdo del espectro visible se encuentran las ondas infrarrojas (0,3 mm – 750 nm) y las microondas (1 – 100 mm), cuyas frecuencias de onda son más amplias y por lo tanto su energía es menor.

¹⁵ Investigación general, no aplicada a un soporte material específico.

¹⁶ Kilogray. El Gray (Gy) es una unidad que mide la dosis de irradiación absorbida (Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, s. f., p. 3).

c. Radiación ultravioleta (UV)

Los rayos UV son ondas del espectro electromagnético, de frecuencia de onda más alta que las ondas de luz visible, pero menor que los rayos gamma (ver imagen 6). Han demostrado tener propiedades antifúngicas, pero se ha comprobado que sus efectos también son acumulativos e incluyen el rompimiento de las cadenas de celulosa del papel (Lucas, 2016, p. 124).

d. Microondas

Las microondas también son parte del espectro electromagnético y son las de menor frecuencia entre las empleadas para desinfección de microorganismos (imagen 6). Las pruebas de utilización de microondas para la desinfección de objetos patrimoniales se empezaron a llevar a cabo en la década de 1980 y han sido poco experimentadas. Lucas (2016, p. 125) expone las conclusiones obtenidas en esos años por A. Brandt, quien determina dos variables principales en la efectividad del tratamiento: la cantidad de agua contenida en los objetos y el grosor de estos. Determina que a mayor humedad se obtiene un mejor efecto fungicida pues hay una mayor cantidad de moléculas de agua que se excitan con estas ondas liberando calor (reacción exotérmica). Por otra parte, un objeto demasiado grueso impide la correcta penetración de las ondas, las cuáles van perdiendo potencia conforme van penetrando en la materia. En el caso de fotografías, Lucas reporta que según algunos estudios (Tomsová *et al*, 2016, citado en Lucas 2016, p. 124), únicamente se identificó un deterioro en fotografías que ya tenían un daño previo de la gelatina por la presencia misma de los microorganismos. Este método no es recomendable pues las temperaturas que se deben alcanzar son arriba de los 55°C, lo cual puede dañar los materiales fotográficos (Gillet & Garnier, 1989 y Lefèvre *et al*, 1988, citado en Lucas, 2016, p. 125).

e. Anoxia

Este método disminuye la cantidad de oxígeno en un ambiente sellado, a menos del 0.1% introduciendo absorbedores de oxígeno o reemplazándolo por otro gas, como

nitrógeno. Es ampliamente usado para la eliminación de insectos, sin embargo, en el caso de los hongos se ha demostrado que únicamente inhibe su crecimiento pues entran en estado de dormición, más no hay una eliminación en el caso de la mayoría de las especies (Lucas, 2016, p. 125).

Métodos con sustancias químicas

La gran mayoría de productos anti fúngicos que se han probado en el campo de la conservación de bienes culturales – tanto preventivos, como remediales o curativos – se han adaptado de otros campos como la medicina, la agricultura o la industria alimenticia (Sequeira *et al.*, 2012, p. 68). A continuación se presenta un panorama general de los que se han empleado más comúnmente en archivos:

a. Alcoholes

Los alcoholes actúan sobre la pared celular de los microorganismos, permitiendo la entrada de las moléculas biocidas y su contacto con la membrana citoplásmica, causando alteraciones en su estructura (Paulus, 2004, citado en Sequeira *et al.*, 2012, p. 69), como la desnaturalización de las cadenas proteicas (Madigan, Martinko, & Parker, 2013, p. 698; Sequeira *et al.*, 2012, p. 69). De los diversos alcoholes (metanol, propanol, isopropanol, etanol, butanol...) la mayor efectividad la tienen los de cadenas más cortas, siendo el metanol (CH_4O) el de propiedades biocidas más altas (Lucas, 2016, p. 129). Debido a su alta toxicidad, el más usado en el campo de la conservación, por su disponibilidad y precio es el etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$).

En la bibliografía revisada se encontró que una concentración de agua-alcohol 30:70 v/v es la que tiene un mejor efecto fungicida, siendo a otras concentraciones únicamente fungistático (Florian, 2000, p. 10; Lucas, 2016; Sequeira *et al.*, 2012, p. 69; Valentín Rodrigo, s. f., p. 128). La mezcla agua-alcohol provoca que el agua excite la pared celular permitiendo el paso del alcohol al interior de la célula alterando sus funciones como la producción de enzimas, disolución de lípidos e incluso desnaturalizando las proteínas (Lucas, 2016, p. 128; Madigan *et al.*, 2013, p. 698).

b. Timol

Este compuesto fue ampliamente usado en archivos durante la década de 1980. Su uso era mediante dilución en algún solvente que permitiera su volatilización en un espacio cerrado, en lo que se conocían como “cámaras de timol”. Sin embargo en los mismos años ochenta varios investigadores empezaron a cuestionar su efectividad, así como la seguridad del tratamiento tanto para el usuario como el objeto (Baer & Holben Ellis, 1988, p. 185) e incluso en algunos casos, a ciertas concentraciones, demostró favorecer el desarrollo de ciertas especies (Bertalan *et al.*, 1994, p. 10). Aunque en años más recientes se ha demostrado que tiene una actividad antimicrobiana con muchas especies, e incluso ha sido probado en nanopartículas “con excelentes resultados”, debido a su alta toxicidad para el ser humano sigue fuera de uso comercial (Marchese *et al.*, 2016, p. 412). Además, algunos de los efectos que se habían ya identificado desde la década de 1980 en objetos culturales son el reblandecimiento de ciertos barnices y resinas y la resequedad del pergamino (Baer & Holben Ellis, 1988, p. 186). Más específicamente en soportes de papel se ha identificado que el timol genera amarillamiento por foto oxidación de la celulosa, cambios de tonos en tintas (Meier-Wolff & Petersen, 2006, p. 146), aunque en lo que concierne a las fotografías de plata gelatina, Hendriks (Hendriks *et al.*, 1984, p. 8) reporta que no altera la estabilidad de la capa de gelatina; sin embargo la metodología de análisis empleada y la medición de resultados en este no son claras.

c. Orto-fenil-fenol (OFF)

Al igual que el timol, el OFF fue muy usado en archivos y bodegas durante el mismo periodo. Incluso durante algunos años fue el ingrediente activo del desinfectante Lysol¹⁷ (Bertalan *et al.*, 1994, p. 10). Tiene una toxicidad baja, por lo cual se recomendó como sustituto del timol (Baer & Holben Ellis, 1988, p. 187), sin embargo su poder fungicida es bajo y por lo tanto requiere siempre de concentraciones muy altas. Ambos, el OFF y el

¹⁷ Se intentó averiguar directamente con la fábrica los años de uso del OFF, pero no se pudo obtener información al respecto por falta de referencias comerciales.

timol, son considerados y etiquetados comercialmente como pesticidas, no como fungicidas. Debido a esto y a que tiene efectos similares a los del timol, su uso para conservación de bienes culturales no es recomendado (Flieder & Capderou, 1999, p. 126).

d. Formaldehído (aldehído fórmico)

Producto usado como bactericida y fungicida en su forma gaseosa, relativamente tóxico. Está prohibido desde 1980 en varios estados de Estados Unidos. Fue muy usado en la década de 1960 para la desinfección de libros y materiales de archivo, aunque se descubrió que provoca una despolimerización de las cadenas de celulosa, aumenta la acidez y en consecuencia una mayor fragilidad del papel. Asimismo provoca la reticulación de las cadenas proteicas (Flieder & Capderou, 1999, p. 163) causando una pérdida de flexibilidad en los materiales y tiende a corroer algunas partículas metálicas; además su poder fungicida se ha descrito como limitado (Valentín Rodrigo, s. f., p. 4).

e. Kodak Film Cleaner (tricloroetano)

Este producto fue muy recomendado durante muchos años para su uso específico en fotografías debido a que su composición no hinchaba la capa de gelatina, ni disolvía los soportes de plástico, así fueran de nitrato, acetato o poliéster (Wagner, 1994, citado en Bertalan *et al.*, 1994, p. 23). A principios de la década de 1990 empezó a caer en desuso y de acuerdo con Bertalan *et al.* (p. 22), para 1994, ya no se usaba este producto, pero fue en 1996 cuando oficialmente se prohibió la comercialización y uso del tricloroetano a raíz de la revisión de 1994 en Copenhague del Protocolo de Montreal, donde se categoriza como uno de los productos en uso responsables de los problemas en la capa de ozono (Kodak, 2017; National Center for Biotechnology Information, 2017).

f. Óxido de etileno

Las propiedades fungicidas, bactericidas e insecticidas del óxido de etileno son conocidas desde los años veinte. Desde 1960 había sido preferido en el campo de la conservación de bienes culturales gracias a estas características, ya que permite

tratamientos masivos a un bajo costo. Al ser un producto de alta flamabilidad y explosividad se empleaba mezclándolo con nitrógeno, derivados de hidrofluorocarbonos o dióxido de carbono, siendo este último el preferido, por su bajo costo (Lucas, 2016, p. 126).

Debido a sus propiedades altamente carcinogénicas y mutagénicas el uso de este producto está sumamente restringido y controlado e incluso su uso para patrimonio cultural está prohibido en Estados Unidos, Canadá y algunos países de Europa. Además, de acuerdo con los estudios reportados por Lucas (2016, p. 127)¹⁸ se ha demostrado que provoca la alquilación¹⁹ de las cadenas proteicas de la gelatina, del ADN de los núcleos celulares y puede generar cambios en el punto isoeléctrico de los materiales, provocando un incremento de las propiedades hidrófilas de los materiales celulósicos, volviéndolos más susceptibles a ataques fúngicos futuros (Flieder & Capderou, 1999, p. 145).

g. Bromuro de metilo

Éste es un gas incoloro e inodoro. Pese a ser un excelente insecticida, los resultados obtenidos en diversos análisis para determinar sus propiedades fungicidas son contradictorios (Flieder & Capderou, 1999, p. 142). Debido a su alta toxicidad su uso está prohibido desde la entrada en vigor del Protocolo de Montreal en 1987 (Lucas, 2016, p. 126) pues al ser liposoluble es muy fácilmente absorbido por vía tópica (Farreras, 1989, citado en Cáceres Acereto, 1998, p. 116). Ésto, aunado a las elevadas concentraciones que se necesitan para garantizar su eficacia ha caído en desuso desde hace muchos años (Flieder & Capderou, 1999, p. 142). De acuerdo con Lage, 1987 (citado en Cáceres Acereto, 1998, p. 115) el peligro de este producto también radica en su reacción con metales alcalinos, como aluminio y magnesio, y su explosividad potencial si el contenedor es expuesto a impactos.

h. Sales de amonio cuaternario

¹⁸ Estudios realizados por Tomsova *et al.*, 2016; Flieder Capderou, 1999; Hanus *et al.*, 1999; Valentin, 1989; Jacek, 2004, citados en Lucas, 2016, p. 127.

¹⁹ Proceso de modificación química de algunas moléculas (Departamento de química UNAM, 2016, p. 110).

Las sales de amonio se usan en varias industrias. Su actividad antibiótica se lleva a cabo en la membrana celular, y ha demostrado tener un efecto fungicida y fungistático en algunos hongos como *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., *Penicillium* sp., y *Mucor* sp., encontrados frecuentemente en bienes culturales (Bellotti *et al.*, 2013, p. 8). Se ha reportado su uso en material bibliográfico, sin embargo se encontró que hay evidencias de amarillamiento en papeles “manuales” después de ser sometidos a envejecimiento acelerado, situación relacionada con la presencia de cloro en su composición, aunque ese efecto no se dio en los papeles industriales (Vargas Ángel, 2011, pp. 3, 24). Así mismo en ese estudio, Vargas Ángel reporta una tendencia hacia la disminución de su empleo debido a una posible resistencia de los microorganismos a éste, a causa de su uso indiscriminado (Vargas Ángel, 2011, p. 3). Algunos de los productos a base de amonios cuaternarios, como New Ger® y Timsen®, han sido probados sobre fotografías de plata gelatina obteniendo un buen resultado biocida y sin generar alteraciones en el corto plazo (probado por inmersión durante 4 minutos), ni después de ser sometidos a cámaras de envejecimiento acelerado (con una HR de 86% y a 70°C)²⁰ (Mateus *et al.*, 2004, p. 43).

i. Aceites esenciales

Los denominados “aceites esenciales” son compuestos terpénicos cuyos efectos han demostrado ser principalmente fungistáticos más que fungicidas; su efectividad varía en función de sus características químicas, su concentración y el estado de crecimiento de la sepa (Lucas, 2016, p. 127). Su uso ha sido probado principalmente en el área médica y recientemente diversos investigadores han llevado esos productos al campo de la conservación del patrimonio cultural. Dado que es una cuestión sumamente reciente la mayoría de las investigaciones encontradas tienden hacia una misma dirección: probar su efectividad en microorganismos identificados en bienes culturales. En muy pocos casos se han hecho pruebas directamente en bienes materiales afectados con problemas de microbiodeterioro.

Algunos con los que se han hecho experimentos son los siguientes:

²⁰ No se especifica el tiempo en esas condiciones.

Orégano: el componente principal del aceite extraído del orégano es el carvacrol (64.08%) y según algunos estudios tiene una gran efectividad fungistática y fungicida (Kalembe y Kunicka, 2003, citado en Stupar *et al.*, 2014, p. 122) e incluso puede inhibir la germinación de algunas especies de *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* (Stupar *et al.*, 2012, citado en Stupar *et al.*, 2014, p. 122) y el crecimiento micelial de algunas especies de *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* (Borrego *et al.*, 2012, p. 6). Es posible que su alta efectividad se deba también a la presencia de timol en su composición (Borrego *et al.*, 2012, p. 6; Stupar *et al.*, 2014, p. 120).

Lavanda: los componentes activos principales del aceite de lavanda son el linalool, presente también en la bergamota y otras flores, en un 37.61% y el acetato de linalool en un 34.86%. Se ha probado que tienen un efecto antimicrobiano contra varias especies de hongos encontradas en archivos y bibliotecas (Rakotoinary y Lavédrine, 2005, citado en Stupar *et al.*, 2014, p. 122). Sin embargo, en el caso particular del linalool (y los productos que lo contienen) se hizo una prueba en fotografías de plata gelatina exponiéndolas durante 15 días a vapores de este compuesto, tras la cual se vio un cambio en la densidad de la película (Lucas, 2016, p. 127).

Ajo: el aceite de ajo ha sido recientemente estudiado y ha dado buenos resultados con algunas especies de hongos aisladas de materiales documentales (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, y *Fusarium sp.*). Su componente principal es Di-2-propenil trisulfide (31.9%). Los análisis realizados indican que fue probado al 7.5, 12.5, 25, 50 y 100% (v/v) en agua-etanol (70:30), obteniendo la mayor tasa de inhibición, junto con el de anís, en todos los casos analizados (Borrego *et al.*, 2012, p. 4).

Anís: el aceite esencial de semilla de anís, junto con el de ajo, es el que mayor inhibición tuvo entre los estudiados recientemente por Borrego *et al.* (2012, p. 4)

con todas las cepas de hongos estudiadas (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, y *Fusarium sp.*). Su componente principal es el anetol (80.8%).

Clavo: el aceite extraído del clavo es uno de los más efectivos contra una gran cantidad de especies de hongos. Estudiado también por Borrego *et al.* (2012, p. 4) identificaron que a 25, 50 y 100% (v/v) en agua-etanol (70:30) hay una mayor inhibición del crecimiento. Además se ha demostrado que inhibe la esporulación de algunos hongos. Su componente principal es el Eugenol (67.0%), al cual se le atribuye su potencial fungicida (Borrego *et al.*, 2012, p. 4). Éste también se encuentra en otras plantas como el laurel, la hoja de canela o el pimiento morrón (Parry, 1921, citado en Chávez Lozano, 2015, p. 10).

Comino: en la investigación llevada a cabo por Borrego *et al.* (2012, p. 5), contrariamente a otros autores anteriores, identifican que sí tiene un efecto fungicida. Sin embargo la inhibición de todas las especies empleadas se dio a partir de una concentración del 25%. Su efectividad se le atribuye a la alta concentración de cuminaldehído en su composición (43.3%).

Los pasos a seguir para la aproximación y el tratamiento de los materiales con ataque fúngico siempre se deben determinar y llevar a cabo una vez analizado el caso en cuestión. En todos los casos de materiales con ataque fúngico se considera idóneo realizar cultivos de microorganismos para su identificación, previamente a cualquier tratamiento, y posteriormente para revisar la efectividad del producto empleado, aunque es un procedimiento que no todas las instituciones pueden llevar a cabo. Sin embargo, en cualquier situación de ataque fúngico en materiales fotográficos se ha desarrollado un procedimiento general, el cual en todos los casos se considera de manera primordial el estado del aglutinante. En un caso ideal en el cual el ataque fúngico sigue siendo superficial y el estado de la gelatina (o albúmina, o colodión) siga estable, el procedimiento general implica en primera instancia la limpieza mecánica del objeto,

previamente seco, con aspiradoras y brochas, y posteriormente una limpieza química por el método más adecuado para la fotografía (Bertalan *et al.*, 2017).

2.2 Los biocidas a base de extractos de cítricos en restauración

Como se vio en el apartado anterior, el uso de productos naturales para la desinfección de documentos atacados por agentes microbiológicos e insectos es un tema que se ha estado investigando cada vez más, en busca de alternativas no tóxicas a productos como el timol, el óxido de etileno o el formaldehído. Uno de ellos es el extracto de toronja, en su formulación comercial anteriormente conocida como Citricidin, ahora comercializada bajo el nombre de Citricidal®, del cual hablaremos más puntualmente a continuación, pues se ha usado con mucha frecuencia en documentos y más recientemente en fotografías

Principio activo de los extractos cítricos

Desde la década de 1990 se ha buscado profundizar en la comprensión del funcionamiento del extracto de toronja como agente antimicrobiótico y se ha demostrado exitosamente su baja toxicidad así como su efectividad con un gran número de hongos y bacterias (Ionescu *et al.*, 1900, citado en Heggens *et al.*, 2002, p. 334).

El extracto de toronja se obtiene a partir de las semillas, la cáscara y la membrana remanente de las toronjas posterior a su procesado y extracción del jugo. Tiene un alto contenido de compuestos fenólicos,²¹ los cuales se han relacionado con su amplio espectro antifúngico y antibacterial (Cartaya & Reynaldo, 2001, p. 9; Cvetnić & Vladimir-Knežević, 2004, p. 245).

a. Citricidin 2000

²¹ En las hojas técnicas del Citricidin® y el Citricidal® se menciona su contenido de flavonoides, familia a la cual pertenecen los compuestos fenólicos.

Anteriormente el producto empleado para la desinfección de materiales era el denominado Citricidin 2000 (imagen 7). Su uso en el campo de la conservación se tiene registrado desde los años noventa sobre todo en el campo de la conservación de documentos y de acuerdo con la ficha técnica proporcionada por el Laboratorio de Biología de la ENCRYM hasta el 2004 aún se fabricaba.



Imagen 7. Frasco de muestra de Citricidin 2000 disponible en el laboratorio de biología de la ENCRYM.

Para 1998, Cáceres Acereto, en su trabajo de titulación, hizo una evaluación de dicho producto para su uso como fungicida y bactericida en documentos con soporte de papel. El Citricidin 2000 era en ese entonces distribuido por la PL Corporación, la cual actualmente ha desaparecido. La información con la que se cuenta actualmente al respecto consiste únicamente en el reporte hecho por Cáceres y en la hoja técnica del producto que aún se conserva en el laboratorio de biología de la ENCRYM.

De acuerdo con dichos reportes técnicos algunas de las especies de hongos a las que mata o inhibe (sin hacer especificación de la reacción particular con cada una) están algunas pertenecientes a los géneros usados para el presente trabajo: *Aspergillus* (específicamente *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*), *Alternaria* sp., *Cladosporium*

sp., y *Chaetomium* sp. Además de éstas, se mencionan *Cándida* sp., *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp. (Cáceres Acereto, 1998, p. 111).

En los resultados de la investigación realizada por Cáceres (1998, p. 145) la concentración a la cual la mayoría de los microorganismos reaccionaron en los bioensayos llevados a cabo fue de 2000 partículas por millón (ppm), lo cual corresponde a una concentración del 0.2%; además, de las especies con las cuales se trabajó, el microorganismo más resistente al fungicida fue el *Aspergillus niger*.

b. Citrik Plus y Citrik Restauración®

Tras la desaparición de la empresa PL Corporación surgieron la Distribuidora Hidalgo®, quien comercializa el Citricidal®, y la compañía Corpo Citrik®, quien inició comercializando un desinfectante a base de extractos de cítricos que denominó originalmente Citrik Plus (imagen 8) y recientemente cambió su nombre a Citrik Restauración®. Sin embargo, tras revisar las características físicas de dichos productos²² y compararlos con una muestra de Citricidin 2000 que aún se conserva en el laboratorio de biología de la ENCRyM se observaron algunas particularidades: si bien todos tienen el mismo color ámbar, la viscosidad del Citrik Plus es mucho menor que la del Citricidin 2000, además de presentar burbujas en superficie, característica que ya se había notado por parte de algunos profesores e investigadores de la escuela y fue motivo para su desuso pues puede implicar la presencia de un tensoactivo en su composición (ver imagen 9). Por su parte las características físicas del Citricidal® corresponden con las del Citricidin 2000.

²² Todos los productos se encuentran en el Laboratorio de Biología de la ENCRyM.



Imagen 8. Etiqueta del frasco de Citrik Plus del laboratorio de biología. Ingredientes en la etiqueta: extractos cítricos de toronja y naranja.



Imagen 9. Burbuja en la boquilla del frasco.

c. *Citricidal*®

De acuerdo con la ficha técnica del producto (ver Anexos), de la Distribuidora Hidalgo®, es un difenol hidroxibenceno, color amarillo, de pH ácido (2.0 – 3.0) cuya actividad biocida sucede en la membrana citoplásmica de los microorganismos (Distribuidora Hidalgo, 2016, p. 2). Debido a que en dicha membrana se lleva a cabo la absorción de

nutrientes (aminoácidos), la alteración de esta parte interfiere con la alimentación y por consiguiente con la subsistencia del organismo.

Algunos de los géneros de hongos en los que se ha probado su efectividad son: *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Chaetomium sp*, y *Penicillium sp*, (Distribuidora Hidalgo, 2017, p. 4) los cuales tienden a encontrarse frecuentemente en archivos. Es pertinente hacer mención que las concentraciones mencionadas en la ficha técnica son variables y no hay una congruencia clara: en el caso de las especies de *Aspergillus sp*. las concentraciones fungistáticas son más altas que las fungicidas, mientras que en las otras especies de otros géneros (entre ellos *Chaetomium globosum*) reportan una mayor concentración para efectos fungicidas que fungistáticos. Debido a esto se reportan a continuación únicamente las concentraciones indicadas como fungicidas. Éstas van de 1:500,000 o (.000002%, para *Aspergillus niger* y *Chaetomium globosum*) a 1:900,000 (o .000001%, para *Aspergillus oryzae* y *Aspergillus flavus*) (Distribuidora Hidalgo, 2016, p. 4)²³.

Uso en materiales fotográficos

El uso de extractos cítricos como biocidas en fotografía se empezó a emplear recientemente, siendo algunos de los primeros informes del 2008, cuando se inició la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías que proporcionó la ENCRyM entre ese año y 2012.

A lo largo de una detallada revisión de los informes de los trabajos realizados en esos años por estudiantes de la Especialidad, así como por estudiantes de 9º semestre del Seminario Taller Optativo de Conservación de Fotografías (2013 – 2016) se recopiló la información relacionada con las concentraciones y métodos de aplicación del producto. Tras esta revisión fue evidente la falta de un método sustentado para la aplicación del producto; tanto las concentraciones como los métodos de aplicación fueron variables.

²³ Ver ficha en Anexos.

Sobre los métodos de aplicación es comprensible que se haya realizado en función de la necesidad del caso y del estado de conservación de la fotografía. Se realizó tanto por pincel (Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 35), como por aspersion (Garavito Posada, 2009, p. 23), con hisopo rodado (Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, p. 22), mezclado con el almidón usado para la colocación de refuerzos o como consolidante del soporte secundario, o como prevención (Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, p. 24). Con relación a la concentración y disolución, en todos los casos revisados, ésta varió entre el 0.2% (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 82), 1% (Botello, 2014, p. 51; (Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, p. 22) y el 2% (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 40) usándolo tanto en agua como en alcohol. No se identificó una justificación concreta con relación a estas decisiones, salvo en Cunha Boaventura (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 40) quien busca sustentar la concentración a partir de la tesis de Cáceres, sin embargo malinterpreta las partículas por millón, calculándolas al 2% cuando Cáceres sugiere el 0.2% (2000ppm)²⁴. En el caso de las impresiones al colodión, por su susceptibilidad al alcohol, sólo se empleó diluido en agua (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, pp. 48, 82, 122, 160).

En el caso de los trabajos llevados a cabo por Alejandra Garavito (2009, p. 23) durante la Especialidad, previamente a la aplicación sobre la obra del producto al 1% en alcohol etílico, hizo pruebas aplicando Citricidin 2000® al 100% directamente sobre una probeta fotográfica con características similares al material por tratar. Este proceso se realizó para evaluar las posibles reacciones del biocida ante la acción de la luz, para lo cual se dejó durante dos semanas expuesta al sol, tras las cuales no se identificaron cambios (Garavito Posada, 2009, p. 23).

Por otro lado, pocos fueron los casos en los que se reporta un muestreo e identificación previo a la aplicación del biocida (Botello Miranda, 2014, p. 53; Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 160; Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 39; Garavito Posada, 2009, p. 22)

²⁴ Aunque la Mtra. Gabriela Cruz Chagoyán explicó que se tomó la decisión con base en experimentos previos en los cuales estas concentraciones y diluciones habían dado buenos resultados.

y sólo se encontró uno (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, p. 161) en el cual se hizo una toma de muestra posterior al tratamiento que determinó la eficacia de la acción del biocida con el hongo *Penicillium sp.*

2.3 Los biocidas en nanopartículas

Antecedentes del uso de nanopartículas

Las investigaciones sobre nanopartículas se pueden rastrear a 1959, en una conferencia dada por Richard Feynman en el Instituto Tecnológico de California, en la cual habló sobre principios de miniaturización y precisión tecnológicas a niveles atómicos, así como de sistemas de la naturaleza que logran precisiones a nivel atómico (Allhof *et al.*, 2010, p. 6). Sin embargo, el término nanotecnología como tal se empleó hasta 1974 (Taniguchi, 1974, citado en Allhof *et al.*, 2010, p. 5) y, poco a poco, las posibilidades que ésta permite han incitado a más investigadores a seguir este camino, buscando una mayor precisión tecnológica con aplicaciones a diferentes áreas, así como a la comprensión del comportamiento de los materiales a esta escala (Taniguchi, 1974, citado en Allhof *et al.*, 2010, p. 7).

Principio activo de las nanopartículas

Las nanopartículas son, como su nombre lo indica, partículas nanométricas de materiales específicos, que cuando se desarrollan a esta escala adquieren cualidades muy particulares. Pueden incluso reordenarse y acomodar sus moléculas de maneras específicas, razón por la cual adquieren propiedades distintas a las que tienen en su forma original (Allhof *et al.*, 2010, p. 9). Esto se debe a que, en función de la superficie de contacto entre el material y su entorno, las partículas interactúan de maneras distintas con el ambiente y entre ellas; como menciona Allhoff (2010, p. 10) los materiales en su estado normal tienen una cierta superficie de contacto y contienen en su interior una gran

cantidad de moléculas que no interactúan sino entre ellas; al tener partículas más pequeñas, los átomos ganan mayor interacción con los compuestos en su entorno.

Éviter®

El Éviter® es un producto de reciente creación desarrollado para la limpieza y sanitización de hospitales, material de laboratorio y del mismo personal. Su principio activo se basa en una nanomolécula denominada Nbelyax®. De acuerdo a la información proveída por el fabricante en su página web, gracias a sus dimensiones (2nm) esta molécula “controla el comportamiento biológico y la estructura química del microorganismo y la modifica de tal manera que pierde su patogenicidad” (Gresmex, 2017) *Nanoparticulate Titanium Dioxide Nanomaterial Modified With Functional Groups And With Citric Extracts Adsorbed On The Surface, For The Removal Of A Wide Range Of Microorganisms*. Fue patentado en México en 2016, gracias a lo cual se pudo averiguar que dentro de su composición se encuentran nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) “modificado con grupos funcionales” y extractos cítricos (Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, 2016), (extractos de cuyas propiedades ya se hablaron en el apartado anterior). Para la presente investigación el producto empleado fue el Sanitizante de Alto Nivel, de uso directo (imagen 10).

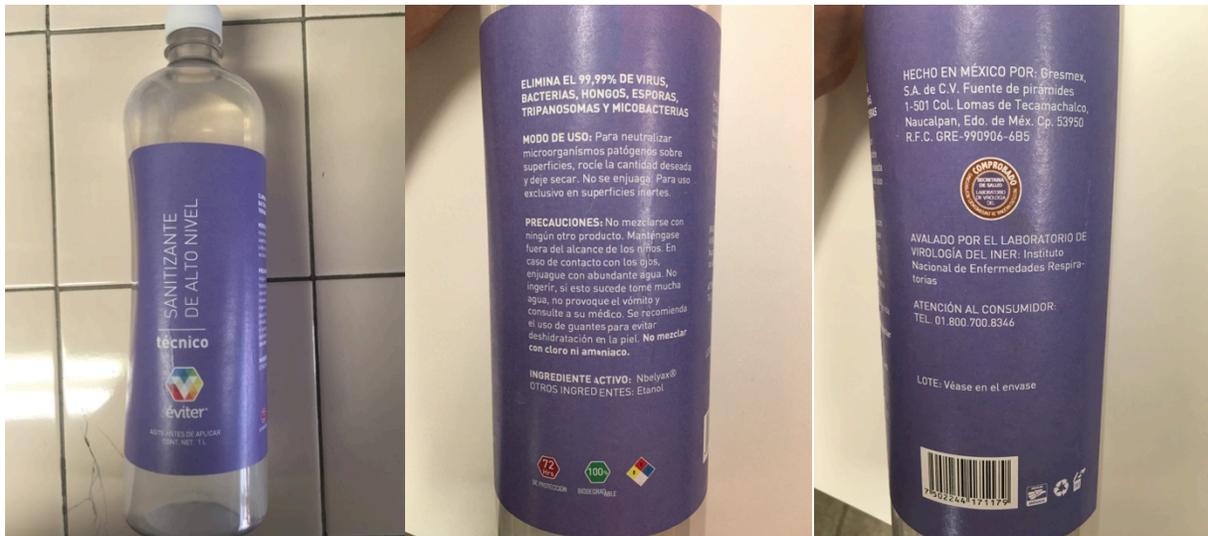


Imagen 10. Éviter® sanitizante de alto nivel, empleado para el proyecto.

De acuerdo a la patente registrada por Gabriela León Gutiérrez en la *World Intellectual Property Organization* (World Intellectual Property Organization, 2014), los grupos funcionales “pueden incluir hidroxilo, carboxilo, amina sulfato, fostato” que son adsorbidos por las nanopartículas de dióxido de titanio, junto con el extracto cítrico y gracias a esta reacción el compuesto adquiere sus propiedades anti-microbióticas.

Además está diluido en etanol, sustancia de cuyas propiedades antifúngicas se habló en la página 26 de este trabajo. Esto, aunado a las presencia de extractos cítricos y de partículas de TiO_2 , el cual también tiene propiedades antimicrobianas (Huppmann *et al.*, 2017), sin olvidar el tamaño nanométrico de las partículas que permite una mayor penetración en los organismos, explica en gran medida el funcionamiento antifúngico del producto.

Finalmente, de acuerdo al fabricante, esta composición permite la desarticulación de la información genética impidiendo la generación de resistencia al material por parte de los microorganismos (Gresmex, 2017).

Como podemos ver con lo anterior, las investigaciones en torno a la erradicación de agentes microbiológicos, como hongos y bacterias, en archivos y bibliotecas ha tenido un estudio muy amplio en los últimos años. Si bien éstas se suelen desarrollar primero en el campo de la medicina o la industria alimenticia, su adaptación para la intervención de documentos ha sido gradual, pues esta extrapolación de conocimientos y técnicas debe conllevar en todo momento un proceso de análisis del producto para adaptarlo al objeto y asegurar su inocuidad con él. En parte debido al poco personal especializado que las lleva a cabo, estos trabajos en el área de conservación de archivos apenas están abriendo líneas de investigación más puntuales, aunque empieza ya a ser evidente la tendencia fungistática, y no fungicida, de la mayoría de los productos probados.

Por otro lado, la mayoría de estas investigaciones se han realizado en obras sobre papel, no en impresiones fotográficas, mismas que, como hemos visto, requieren de consideraciones especiales dada la presencia del aglutinante de gelatina. En obra sobre papel el Éviter® se ha probado diluido al 3% y 5% en etanol por aspersion (Buendía Sánchez, 2017, p. 37), y concentrado por nebulización (Rodríguez Galván, 2015, p. 10).

Así mismo, en los informes identificados donde se trabajó con Citricidal® fue notoria la falta de sustento sobre su efectividad y en lo que respecta al Éviter®, la poca disponibilidad de la información sobre el producto en general, y sus usos para restauración.

Capítulo 3. Fase experimental: eliminación de microorganismos

3.1. Criterios de selección e identificación material de las fotografías de sacrificio

En el caso de la experimentación biológica del presente proyecto los objetivos fueron los siguientes:

- Evaluar el crecimiento de cuatro géneros fúngicos conocidos por ser algunos de los más frecuentemente reportados en colecciones fotográficas y archivos: *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., y *Aspergillus* sp. (Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 34; Florian, 2000, p. 109; Lucas, 2016, p. 130; Valdez Marín, 1992, p. 28).
- Evaluar la efectividad del Citricidal® como biocida para los géneros fúngicos incubados en las probetas fotográficas, probando distintas concentraciones y diluciones reportadas en la bibliografía (Cáceres Acereto, 1998, p. 110; Cunha Boaventura *et al.*, 2011, pp. 40, 82; Garavito Posada, 2009, p. 23; Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, p. 22).
- Evaluar la efectividad del Éviter® como biocida para los géneros fúngicos incubados en las probetas fotográficas, utilizándolo concentrado, de acuerdo a las recomendaciones de la empresa.

Una vez determinado esto, se estableció que las variables eran los dos productos, Citricidal® y Éviter®, y las diferentes concentraciones y diluciones a las que se aplicará el primero (dado que el Éviter® se aplica de manera directa). Al conocer dichas variables era importante asegurarnos que el resto de los componentes del experimento fueran constantes. Para esto, las fotografías sobre las que se llevaron a cabo las pruebas tuvieron todas las mismas características para asegurar que las diferencias se debieran únicamente a los cambios en las variables previamente establecidas.

Se optó por llevar a cabo la experimentación en los materiales fotográficos más comunes en los archivos: impresiones de revelado de plata gelatina (blanco y negro) con soporte de papel de fibra. Estas impresiones fotográficas se encontraban en el taller de

conservación de fotografías de la ENCRyM como parte del material didáctico y se escogieron debido a que el taller contaba con varias impresiones iguales, lo cual permitiría delimitar el número de variables en la experimentación. En el caso presente las impresiones contaban todas con un acabado brillante, conocido como *ferrotyping*.

3.2. Identificación de los microorganismos en las probetas

Con el fin de asegurar que en todos los casos se evaluaran los efectos de los biocidas en los mismos microorganismos se decidió incubar cuatro cepas de hongos comúnmente reportados en materiales fotográficos: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., y *Cladosporium* sp. (Calvo Torras, Adelantado, & Corcuera Marín, 2005, p. 21; Florian, 2000, p. 109; Lucas, 2016, p. 130; Valdez Marín, 1992, p. 28), disponibles en el laboratorio de biología de la ENCRyM, para su posterior inoculación en las probetas fotográficas.

Generalidades de los hongos empleados

Los hongos se dividen primeramente en dos subreinos: los organismos sin pared, o Myxomycota, y los organismos con pared, o Eumycota. Esta segunda clase, que es la que nos interesa, se cataloga en cinco divisiones dependiendo de sus formas de reproducción y su taxonomía (Deacon, 1988, p. 20), de las cuáles hablaremos brevemente de dos, a las cuáles pertenecen los géneros fúngicos utilizados en el diseño experimental de este trabajo (ver diagrama correspondiente a imagen 11):

- Deuteromycota: esporas asexuales que se forman directamente en las hifas, como conidios. Tienen características similares a los Ascomycota, empero no presentan una fase de reproducción sexual o se desconoce; cuando se llega a identificar cambian de clasificación para formar parte de los Ascomycota (Deacon, 1988, p. 22). Sus paredes están compuestas de quitina y glucanos (Deacon, 1988, p. 35). A este grupo pertenecen la mayoría de las especies encontradas en patrimonio cultural, sin embargo esta denominación parece ser usada primordialmente en la

literatura antigua; en algunas nuevas referencias se engloba como una subdivisión de los Ascomycota denominada Eurotiales, que abarca los hongos conidiales anamórficos (Florian, 2002, p. 11). A esta división pertenecen las especies de los géneros *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., y *Cladosporium* sp.

- Ascomycota: tienen esporas sexuales y asexuales. Las esporas asexuales se forman directamente en las hifas, como conidios, mientras que las sexuales se reproducen por medio de la formación de células llamadas “ascas” que a su vez contienen y ayudan a la dispersión de las ascosporas. Sus paredes están compuestas de quitina y glucanos (Deacon, 1988, p. 33). A esta división pertenecen las especies del género *Chaetomium* sp.

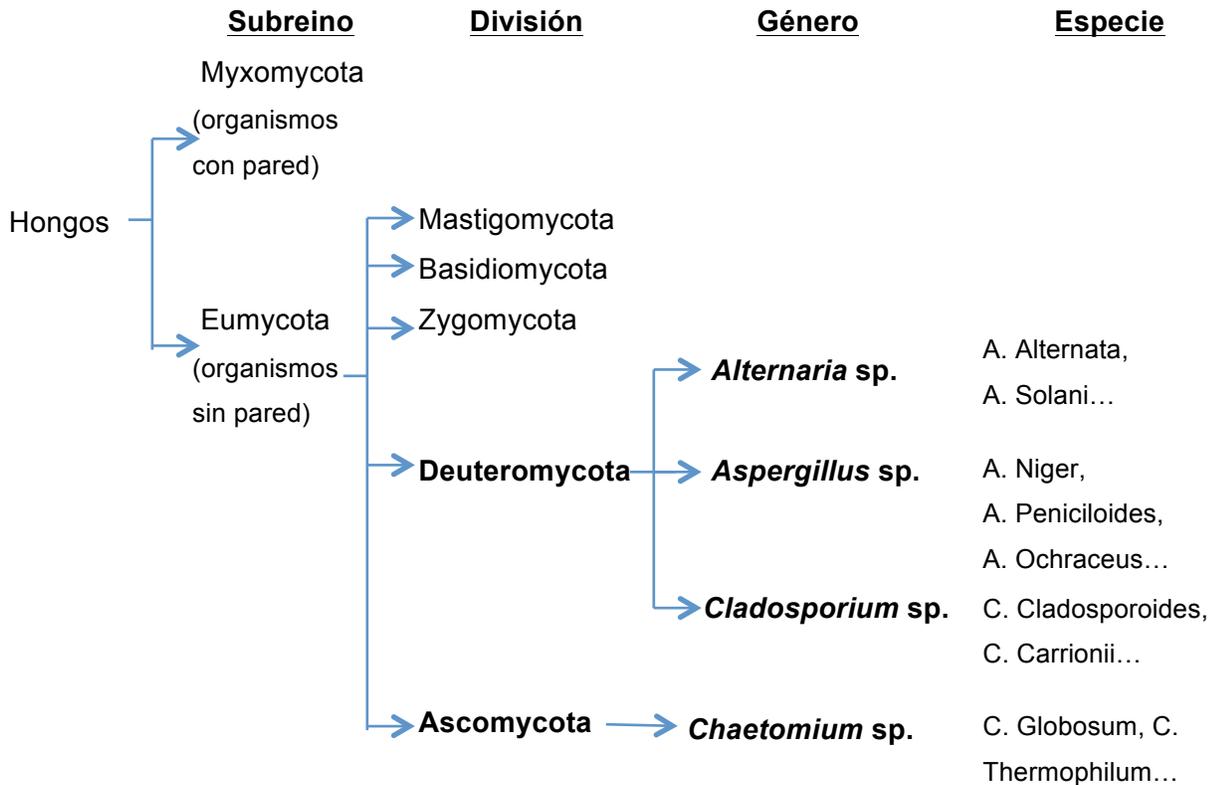


Imagen 11. Clasificación simplificada de los géneros de hongos empleados para este estudio, basado en Deacon, 1988.

Cepas seleccionadas²⁵

Alternaria sp.

Sus colonias típicamente son de crecimiento rápido (3 a 4 días) estando en condiciones ideales, y sus esporas se han demostrado resistentes a la radiación UV. Observada al microscopio se pueden distinguir cadenas de conidios color verde – pardo (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2014a, pp. 1-2). Este género es considerado cosmopolita por su amplio espectro de geográfico y climático en el que se puede encontrar (Florian, 2002, p. 24). Se aísla con mucha frecuencia en materiales celulósicos, debilitándolos y generando manchas generalmente color pardo, aunque pueden variar de gris a negras (Centre de Recherche sur la Conservation des Collections, s. f.).



Imagen 12. *Alternaria alternata*. Aumento no especificado. Foto: MYCOTA.

Aspergillus sp.

Es un ejemplo típico de los hongos Deuteromycota que llegan a tener etapa sexual, y aunque casi siempre se reporta bajo este nombre, se puede llegar a encontrar en algunas bibliografías con los nombres de sus fases de reproducción sexual (ej. *Eurotium* sp. y *Emericella* sp.). Este género de hongos es considerado cosmopolita por el amplio

²⁵ Las imágenes de este apartado fueron tomadas de *Mycota: les contaminants fongiques du patrimoine culturel* <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/rechImageMicroscope.php?page=1&nb=12>

espectro geográfico y climático en el que se puede desarrollar, y se han identificado en todos los tipos de patrimonio (Florian, 2002, p. 24). En otras investigaciones se ha corroborado que las especies pertenecientes al género *Aspergillus* sp., son los más comunes en bibliotecas y archivos. Tienden a atacar y degradar los materiales celulósicos y se han hallado frecuentemente en fotografías (Calvo Torras *et al.*, 2005, p. 22).

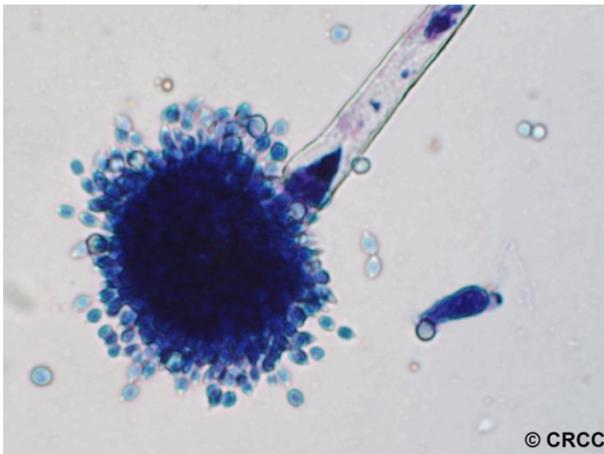


Imagen 13. *Aspergillus flavus*, 50X. Foto: MYCOTA.



Imagen 14. *Aspergillus versicolor*. Aumento no especificado. Foto: MYCOTA.

Cladosporium sp.

Este género es considerado cosmopolita por su amplio espectro de geográfico y climático en el que se puede encontrar (Florian, 2002, p. 24) pues pueden ser transportadas grandes distancias por medio del aire gracias a una gran afinidad con el polvo y es uno de los hongos más frecuentemente encontrados en archivos y museos (Borrego, 2012, pp. 108-109). Se considera que tiene un crecimiento rápido bajo condiciones de laboratorio en medios de cultivo con Papa Dextrosa - Agar (PDA), Extracto de Malta - Agar (EMA) y otros. Se ha identificado con mucha frecuencia en materiales celulósicos como papel, cartón, fotografías, etc. (Borrego, 2012, p. 109) y se caracteriza por destruir las fibras y generar cambios cromáticos en los soportes (Calvo Torras *et al.*, 2005, p. 22).



Imagen 15. *Cladosporium cladosporoides*. Aumento no especificado. Foto: MYCOTA.

Chaetomium sp.

Es la único hongo empleado para este proyecto que pertenece al grupo Ascomycota (Deacon, 1988, p. 33). Este género, que se conoce por ser típicamente celulocítico (Deacon, 1988, p. 232), cuenta entre los que generan mayor deterioro mecánico del papel (Calvo Torras *et al.*, 2005, p. 23; Caneva *et al.*, 2000, p. 91). Puede crecer en sustratos muy ácidos (Calvo Torras *et al.*, 2005, p. 22), por lo cual la gelatina podría también ser un medio favorable, al igual que un papel antiguo cuyo pH es ácido (ver apartado *Principales factores que favorecen el crecimiento de los microorganismos*, p. 13). Se ha encontrado en documentos que han sido rescatados de inundaciones o daños severos por aguas sucias (Florian, 2002, p. 12).

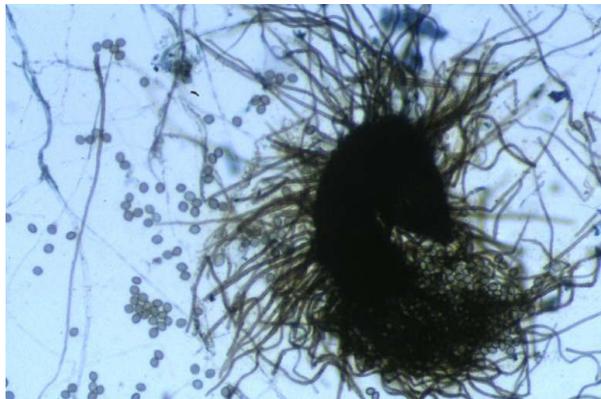


Imagen 16. *Chaetomium globosum*. Aumento no especificado. Foto: MYCOTA.

Metodología de cultivo

Las dos cepas “secas” (*Alternaria* sp., y *Cladosporium* sp.) seleccionadas para el desarrollo de este estudio se colocaron en cajas de Petri previamente preparadas con Extracto de Malta - Agar (EMA)²⁶ y se dejaron en incubación durante dos semanas, a una temperatura de 28°C (imágenes 17 y 18). Una vez crecidas las colonias en las cajas de Petri se procedió a inocular dichas cepas en las fotografías.

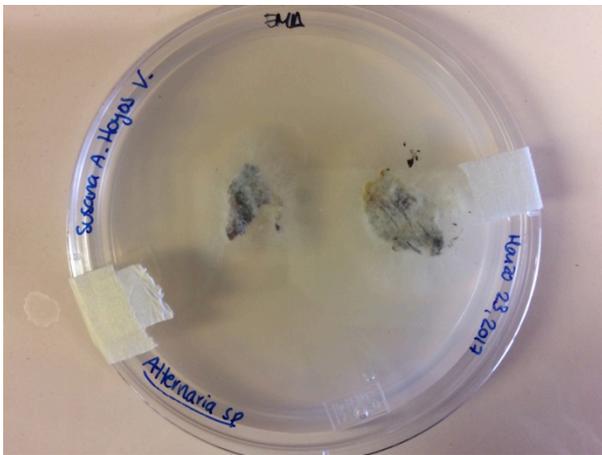


Imagen 17. Crecimiento de *Alternaria* sp. al día 4 de la inoculación. Foto: Susana Hoyos.

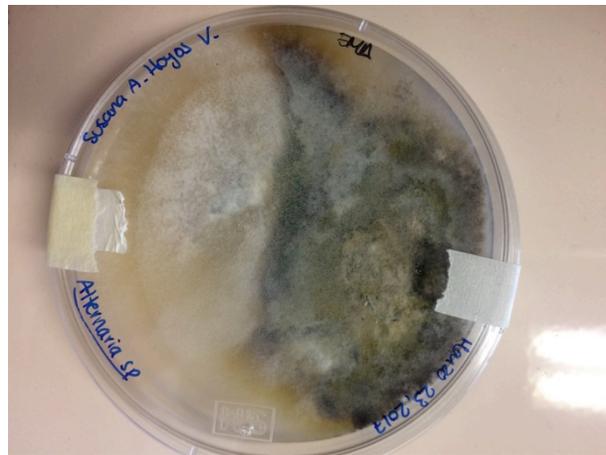


Imagen 18. Crecimiento de *Alternaria* sp. al día 13 de la inoculación. Foto: Susana Hoyos.

Previamente al proceso de inoculación se esterilizó en el autoclave el material necesario: papel secante y tubos de vidrio que permitieran la colocación de las fotografías en un medio húmedo dentro de cajas de Petri estériles. Al esterilizar los medios de incubación aseguramos que no hubiera contaminación con esporas ambientales.

Se prepararon dos muestras testigo en las cuales no se inoculó ningún hongo, así como muestras con *Cladosporium* sp., con *Aspergillus* sp., con *Chaetomium* sp., y con *Alternaria* sp. (ver tabla 1). La preparación de los medios se realizó en un ambiente

²⁶ En este caso se realizaron en EMA pues las muestras de hongos disponibles provenían de colonias identificadas en este medio de cultivo. Los medios de cultivo EMA tienen la característica de ser muy adecuados para el desarrollo de hongos y levaduras debido a su pH bajo, gracias al cual se restringe el crecimiento de bacterias, que requieren de un pH básico (Probiotek, 2017).

estéril, ayudado de mecheros de bunsen y herramienta de laboratorio (pinzas y bisturíes) esterilizada con calor y alcohol en el laboratorio de biología de la ENCRyM.

El procedimiento fue el siguiente para cada caja:

- Se colocó papel secante esterilizado en la base sobre el cual se puso un tubo de vidrio²⁷ y se humectó con agua destilada con ayuda de una piseta (ver imagen 19);
- Sobre el tubo de vidrio se colocó un fragmento de fotografía, previamente recortada al tamaño de la caja de Petri; el recorte de impresiones se hizo en campo estéril, con ayuda de pinzas y tijeras esterilizadas con calor y alcohol etílico para evitar la contaminación entre las probetas. La gelatina de cada una se humectó previamente, por contacto directo con agua destilada (ver imagen 20) (para simular situaciones de archivos con muy alta humedad o anegados), y en el centro de cada una se colocó una muestra de hongo;
- Finalmente se cerraron las cajas de Petri con ayuda de cinta adhesiva y selladas con Parafilm®, para garantizar que la humedad permaneciera constante al interior.

Nº de impresiones empleadas y recortadas para inoculación	Nº de probetas inoculadas	Total de probetas para el desarrollo de la fumigación	
Impresión fotográfica 1	Testigo (sin inoculación)		
	Testigo (sin inoculación)		
	<i>Alternaria</i> sp	Testigo (sin tratamiento)	
		Éviter®	
	<i>Alternaria</i> sp.	Citricidal 0.5% en agua destilada	
		Citricidal 1% en agua destilada	
		Citricidal 2% en agua destilada	
Impresión fotográfica	<i>Alternaria</i> sp.	Citricidal 0.5% en agua –etanol	
		Citricidal 1% en agua –etanol	
		Citricidal 2% en agua –etanol	
	<i>Aspergillus</i> sp	Testigo (sin tratamiento)	
		Éviter®	

²⁷ Esto permitió que las fotografías estuvieran en un medio húmedo sin estar directamente en contacto con el agua.

2	<i>Aspergillus</i> sp.	Citricidal 0.5% en agua destilada
		Citricidal 1% en agua destilada
		Citricidal 2% en agua destilada
Impresión fotográfica 3	<i>Aspergillus</i> sp.	Citricidal 0.5% en agua –etanol
		Citricidal 1% en agua –etanol
		Citricidal 2% en agua –etanol
	<i>Cladosporium</i> sp.	Testigo (sin tratamiento)
		Éviter®
		Citricidal 0.5% en agua destilada
<i>Cladosporium</i> sp.	Citricidal 1% en agua destilada	
	Citricidal 2% en agua destilada	
	Citricidal 0.5% en agua –etanol	
Impresión fotográfica 4	<i>Cladosporium</i> sp.	Citricidal 1% en agua –etanol
		Citricidal 2% en agua –etanol
		Testigo (sin tratamiento)
	<i>Chaetomium</i> sp.	Éviter®
		Citricidal 0.5% en agua destilada
		Citricidal 1% en agua destilada
	<i>Chaetomium</i> sp.	Citricidal 2% en agua destilada
		Citricidal 0.5% en agua –etanol
		Citricidal 1% en agua –etanol
	<i>Chaetomium</i> sp.	Citricidal 2% en agua –etanol

Tabla 1. Referencia de las impresiones inoculadas, fumigadas y testigos.



Imagen 19. Humectación de los papeles secantes con agua destilada, en el laboratorio de biología de la ENCRyM.



Imagen 20. Humectación de la gelatina fotográfica, en el laboratorio de biología de la ENCRyM.



Imagen 21. Área de inoculación en el laboratorio de biología de la ENCRyM.

Las fotografías inoculadas permanecieron en las cajas de Petri a una temperatura promedio de 21.5°C durante 35 días, durante los cuales se estuvieron monitoreando constantemente. Con el fin de asegurar una humedad suficiente al interior, se humectaron una segunda vez (igualmente con una pipeta con agua destilada y en medio estéril para evitar la contaminación por esporas ambientales); así mismo se llevó un registro fotográfico constante para poder tener un referente del crecimiento de las cepas durante este periodo.

Para la observación bajo microscopio se tomaron muestras de cada género en las fotografías y se montaron sobre porta objetos, en agua destilada y en resina, colocando después cubre objetos para protegerlas. Para los montajes en resina se tomaron dos muestras de cada ejemplar, una del centro, en donde se hizo la inoculación y una de la periferia, pues posiblemente se encontrarían en diferente estado de crecimiento²⁸; para los montajes en agua se tomó únicamente una muestra de cada una. La triple muestra permite a su vez corroborar el género y que no se haya producido alguna contaminación durante los cultivos.

Se hizo una primera observación en el microscopio estereoscópico Zeiss ICS Standard 25 del laboratorio de biología de la ENCRyM y posteriormente un registro fotográfico detallado en el microscopio petrográfico del laboratorio de geología Olympus BX43 adaptado con una cámara Olympus E-620, con ayuda de la Biol. Ana Laura Avelar Carmona y el Geol. Jaime Torres Trejo (imágenes 22 a 25). En la primera observación se identificaron los cuerpos fructíferos de las muestras de *Chaetomium* sp. y de *Aspergillus* sp., indicando su estado de maduración. Para disminuir el número de variables que propiciaran la continuación de su desarrollo, bajo riesgo de perder por completo la capa de gelatina, se les cambiaron los papeles secantes húmedos por unos nuevos, esterilizados en autoclave y secos, que absorbieran la humedad excedente al interior de las cajas de Petri. En esa misma etapa, debido a que los diferentes hongos tienen necesidades de desarrollo distintas, el *Cladosporium* sp. y la *Alternaria* sp. no tenían aún el crecimiento suficiente para la identificación de sus cuerpos fructíferos y se procedió a dejarlos en crecimiento más tiempo. A los siete días de la primera observación, se realizó un segundo registro de ambos hongos y se procedió a hacer ese procedimiento con las muestras de *Cladosporium* sp., en la cual ya se podían identificar los cuerpos fructíferos del hongo. Debido a que la cepa de *Aspergillus* sp. no se encontraba aún en estado de maduración, y por lo tanto resultaba complicada su identificación precisa se decidió

²⁸ Esta decisión se tomó a partir de la observación de la diferencia de coloración en distintas áreas de la colonia, lo cual indica etapas distintas del crecimiento (Madigan *et al.*, 2013, p. 483).

dejarla en crecimiento otra semana, tras la cual se realizó exitosamente el muestreo y registro.

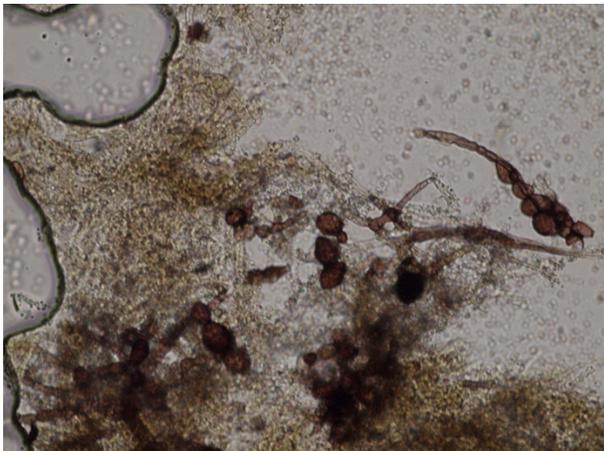


Imagen 22. *Alternaria* sp. 40X, a las 4 semanas de incubación. Foto tomada en el microscopio petrográfico del laboratorio de geología de la ENCRyM. Foto: Susana Hoyos

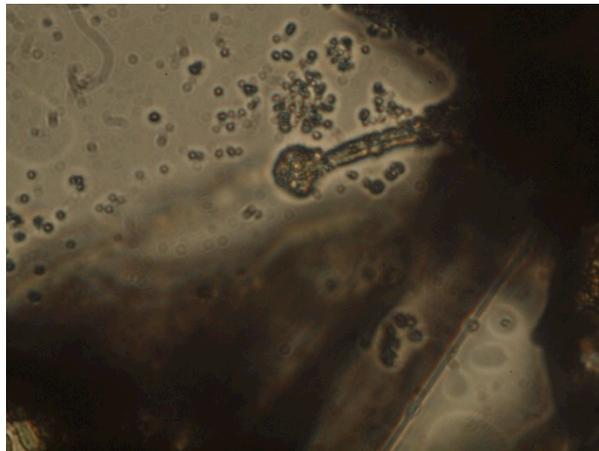


Imagen 23. *Aspergillus* sp, a las 2 semanas de incubación. Foto tomada en el microscopio petrográfico del laboratorio de geología de la ENCRyM. 100X. Foto: Susana Hoyos.

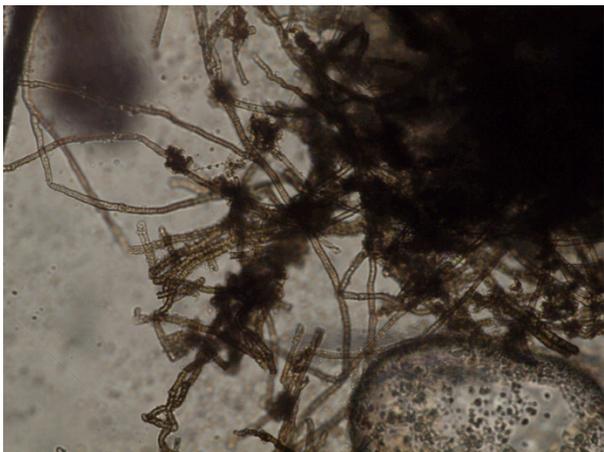


Imagen 24. *Cladosporium* sp. 40X, a las 3 semanas de incubación. Foto tomada en el microscopio petrográfico del laboratorio de geología de la ENCRyM. Foto: Susana Hoyos.

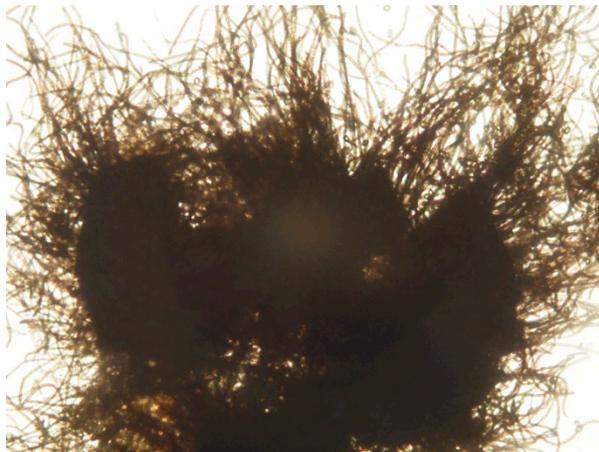


Imagen 25. Formación de 4 cuerpos fructíferos de *Chaetomium* sp. 20X, a las 2 semanas de incubación. Foto tomada en el microscopio petrográfico del laboratorio de geología de la ENCRyM. Foto: Susana Hoyos.

Las muestras permanecieron en sus respectivas cajas de Petri cerradas con cinta adhesiva y, para posibilitar una adecuada circulación de aire que permitiera la salida de partículas de agua, ya no se colocó Parafilm® alrededor (de la misma forma que en las imágenes 29 y 38).

En todos los casos, las muestras observadas en el microscopio petrográfico mostraron una gran actividad, principalmente el *Chaetomium* sp.; las impresiones inoculadas con este hongo fueron las que tuvieron un deterioro más evidente desde el inicio, pues en menos de siete días ya se había desarrollado de manera importante y a los 14 días era evidente un cambio tanto en el estado de la gelatina (principalmente notoria en la disminución del brillo) como el del papel, el cual era notablemente más frágil²⁹. El segundo cuyo crecimiento fue más invasivo fue el *Aspergillus* sp., seguido del *Cladosporium* sp., y en el que se observó en desarrollo más lento fue la *Alternaria* sp., cuyos cuerpos fructíferos no fueron evidentes sino hasta después de la cuarta semana de crecimiento en las impresiones.

Las dos fotografías “testigo” se sometieron a las mismas condiciones de temperatura y humedad ambiental, y permanecieron sin alteración alguna durante aproximadamente catorce días; alrededor de la segunda semana empezaron a desarrollar un crecimiento blanco sobre la capa de la imagen, que, al cabo de tres semanas tenía una consistencia algodonosa (imágenes 26 y 27). Esa misma especie esponjosa de color blanco se desarrolló también en la periferia de las muestras de *Aspergillus* sp. y *Alternaria* sp., y en menor grado, en las de *Cladosporium* sp. En el *Chaetomium* sp. no se desarrolló el microorganismo blanco, así como tampoco se observó por el reverso de ninguna de las fotografías. Además, el *Chaetomium* sp. presentó más evidentemente el patrón de crecimiento identificado por Lourenço y Sampaio (2007, p. 26), cuyas áreas blancas en la capa de la imagen tuvieron un mayor deterioro que las áreas con plata (ver subapartado *Alteraciones de la plata*, p. 19).

En general, después de este periodo de incubación fue muy evidente la identificación de todos los géneros, salvo del crecimiento algodonoso de los testigos y de la periferia de algunas probetas, el cual no pudo identificarse. Tras una revisión cuidadosa por parte de

²⁹ Como se vio en el subapartado anterior *Cepas seleccionadas*, el *Chaetomium* sp. es uno de los hongos típicamente celulocíticos, por lo cual se esperaba que su desarrollo causara desde un primer momento alteraciones en el soporte.

las biólogas Imelda Perla García Hernández e Iraís Velasco Figueroa, se descartó que se tratara de alguna bacteria³⁰ y se consideró que no tenía suficiente crecimiento para identificar el género. Este crecimiento blanco se observó también en algunas impresiones inoculadas con *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., y *Cladosporium* sp., surgiendo así la hipótesis de que se tratara de algún hongo que ya tenían las fotografías; al encontrarse las esporas en estado latente³¹ al momento del sometimiento de las fotografías dentro de las cajas de Petri a las condiciones de la estufa de cultivo el desarrollo fue más lento que para el de los hongos inoculados, razón por la cual su crecimiento no fue el adecuado en este tiempo para su identificación en su momento y debido a contratiempos con los laboratorios no se pudo llevar a cabo posteriormente.

Es importante recalcar que en los casos de las cepas inoculadas la identificación se realizó a nivel de género y no de especie, por la complejidad de esta identificación, pues para llevarla a cabo por métodos taxonómicos se requiere de un micólogo especializado en dicho procedimiento, o bien por métodos genéticos con los que no cuenta la escuela.³²

Así mismo en esta etapa fue evidente un cambio en el estado de las fotografías.

- Las que menores daños presentaron fueron las impresiones inoculadas con *Alternaria* sp. (imágenes 28 y 29), en la cual hubo una disminución del brillo debido a la pérdida de gelatina y manchas blancas y verde olivo sobre el la imagen y al reverso, sobre el papel.
- Las impresiones con *Aspergillus* sp. (imágenes 30 y 31), también tuvieron pérdida de gelatina evidente en la disminución del brillo, sobre todo en las zonas cercanas al área de inoculación; en esas mismas áreas la pérdida de gelatina dejó expuesta

³⁰ Las bacterias se desarrollan en medios básicos y el pH de la gelatina, al igual que el del sustrato de agar de extracto de malta (EMA), es ácido (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 19; Probiotek, 2017).

³¹ Contrariamente a los cuerpos inoculados que ya se encontraban en estado de maduración.

³² Para casos necesarios se pueden llevar a cabo en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IB-UNAM).

la barita, que en algunas partes empezó a presentar una ligera disgregación. El papel tuvo un amarillamiento general y algunas manchas verde olivo.

- Las fotografías con *Cladosporium* sp. (imágenes 32 y 33), tuvieron una mayor cantidad de manchas por el frente, color café claro y verde olivo, y una disminución del brillo, aunque la barita no presentó mayores alteraciones (eg. Disgregación, como en el caso de la *Alternaria* sp. o el *Chaetomium* sp.). Por el reverso también presentó un ligero manchado color verde olivo más oscuro.
- El *Chaetomium* sp., causó los deterioros más importantes en todas las fotografías (imágenes 34 y 35). La pérdida de gelatina fue total y dejó expuesta la barita, la cual, a raíz de la pérdida de gelatina que la aglutina quedó friable. El deterioro causado en el papel fue el más drástico, pues además de un pronunciado amarillamiento del soporte, causó su rigidez, que a su vez propició roturas.

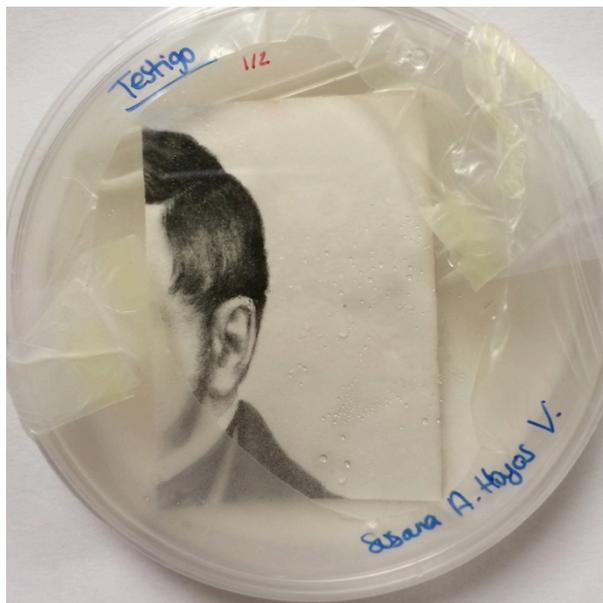


Imagen 26. Muestra "testigo 1", día 3.

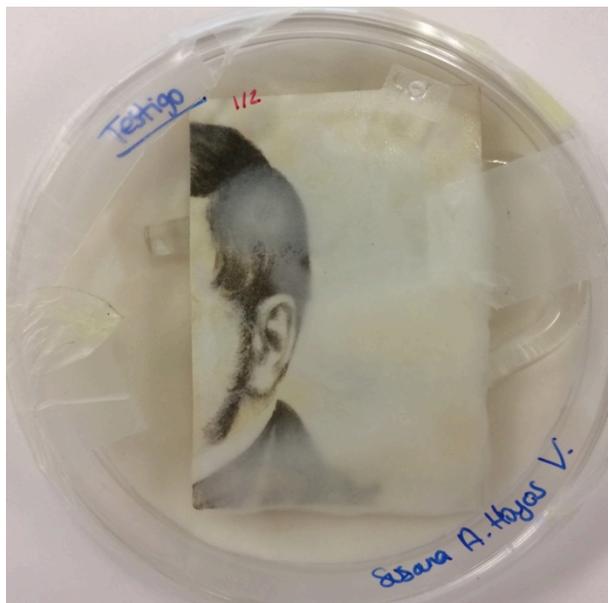


Imagen 27. Muestra "testigo 1", día 33. Crecimiento blanco evidente en las zonas oscuras (cabello y cuello)

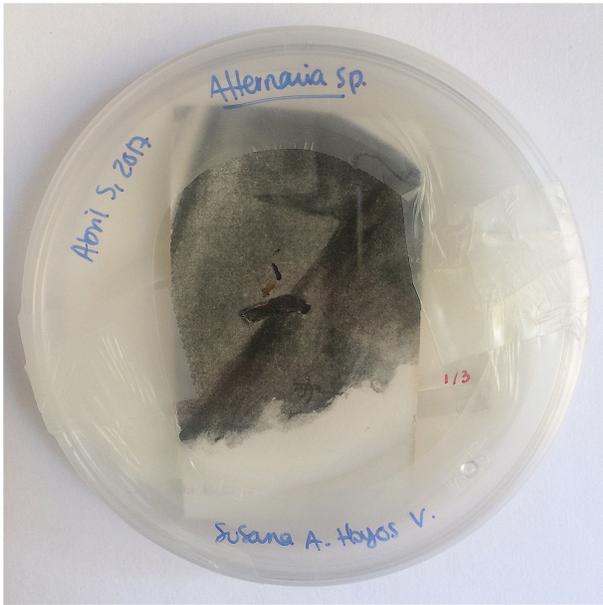


Imagen 28. Crecimiento de la muestra 1 de *Alternaria* sp., día 4.

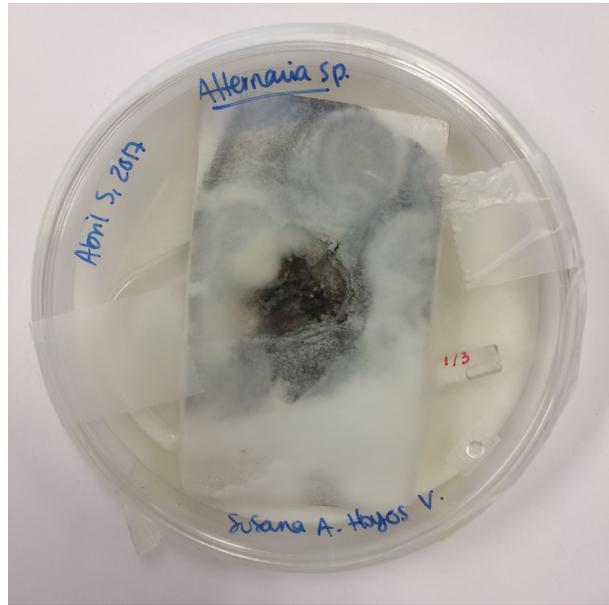


Imagen 29. Crecimiento de la muestra 1 de *Alternaria* sp. día 33.

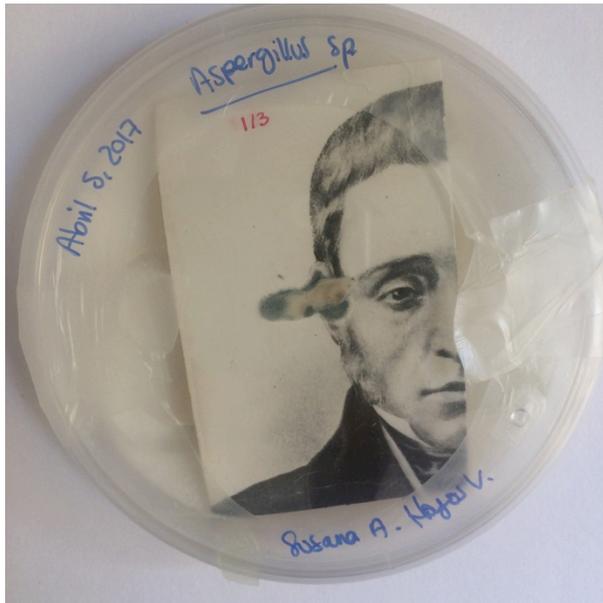


Imagen 30. Crecimiento de la muestra 1 de *Aspergillus* sp. día 4.

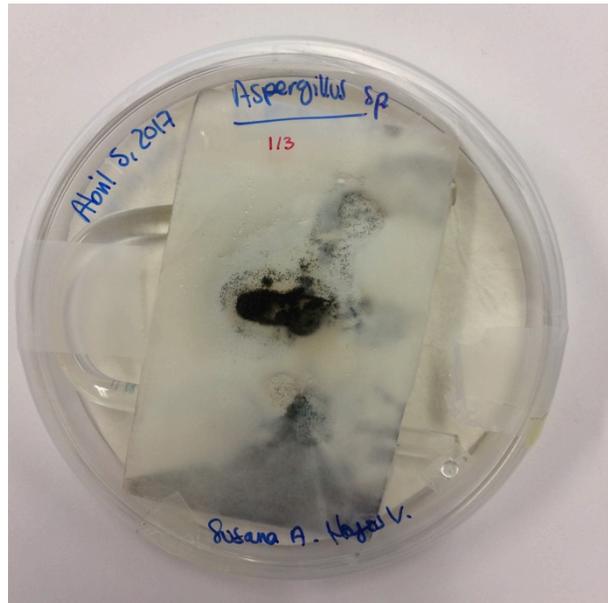


Imagen 31. Crecimiento de la muestra 1 de *Aspergillus* sp. día 33.

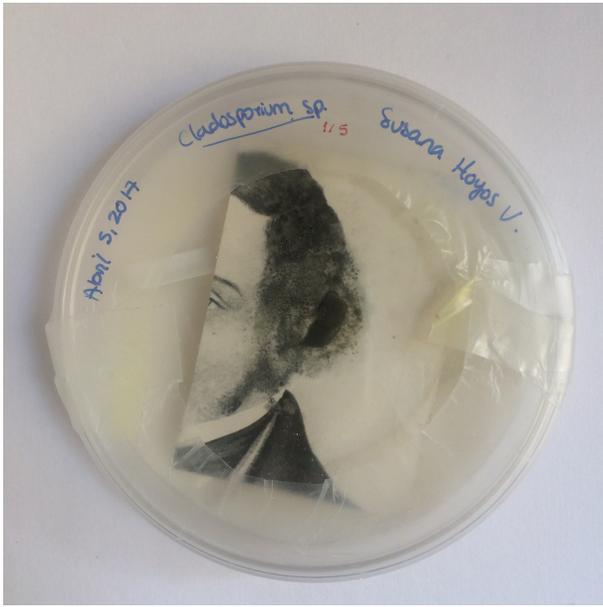


Imagen 32. Crecimiento de la muestra 1 de Cladosporium sp., día 4.

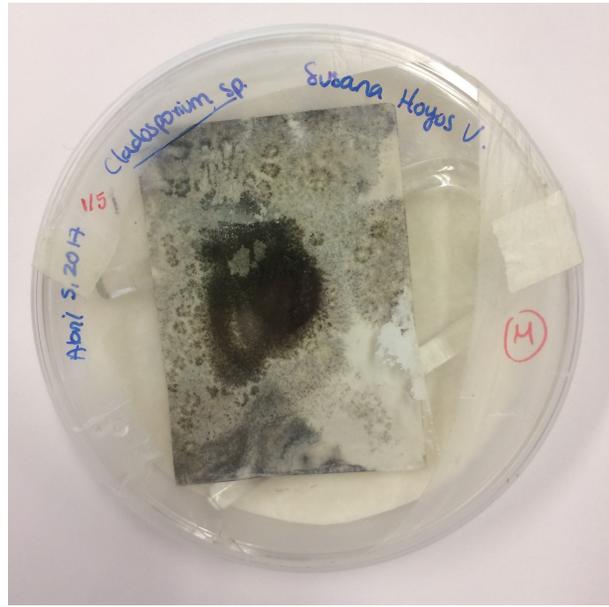


Imagen 33. Crecimiento de la muestra 1 de Cladosporium sp., día 33.



Imagen 34. Crecimiento de la muestra 1 de Chaetomium sp. día 4.

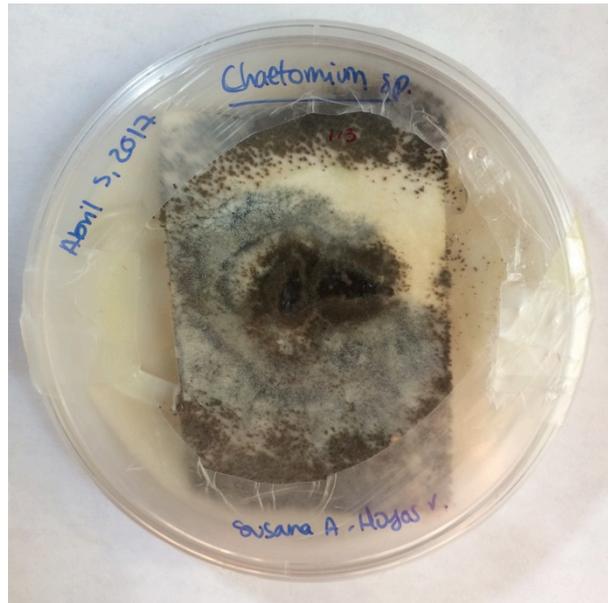


Imagen 35. Crecimiento de la muestra 1 de Chaetomium sp. día 33.

3.3. Selección del método de aplicación del Citricidal® y el Éviter® en las fotografías

Previamente a la fumigación con los biocidas seleccionados se procedió a realizar una limpieza superficial de las fotografías de acuerdo a las recomendaciones hechas por el American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works (AIC) (Bertalan *et al.*, 2017). Como se mencionó en el apartado anterior, posteriormente a la observación bajo microscopio de las cepas, los papeles secantes mojados se reemplazaron por papeles secantes esterilizados secos para disminuir la humedad de la gelatina y facilitar los procesos de limpieza subsecuentes.

Se llevó a cabo una aspiración del anverso y reverso de las fotografías con una aspiradora (Kärcher DS5600) con filtros HEPA y de agua³³. Para asegurar el proceso de aspirado y tener un control en el tipo de partículas que se podían desprender de la superficie se colocó una malla monyl³⁴ en la boquilla. Con este proceso se removieron la mayoría concreciones superficiales; esto permite dejar más expuestas las hifas y asegurar su contacto con lo biocidas. En el caso del *Chaetomium* sp. no fue posible remover por completo las concreciones superficiales.

Con el fin de implementar una metodología similar a la que se seguiría en un archivo en caso de ataque fúngico, se inició por investigar los métodos que se han empleado anteriormente para la desinfección de impresiones fotográficas; así mismo se hizo una revisión de cuáles son los métodos de aplicación posibles, sus características, ventajas y desventajas, y a partir de eso, determinar cuál es el más apropiado y eficaz considerando las grandes cantidades de material fotográfico que suele existir en los acervos.

³³ De acuerdo a las recomendaciones del fabricante, al agua usada para colocar en el filtro de la aspiradora se le agregaron unos mililitros de la solución anti-espuma proporcionada por el mismo.

³⁴ Malla de poliéster.

Métodos de aplicación³⁵:

Método	Ventajas	Desventajas	Conclusión
Inmersión – colodión – (Cuhna Boaventura <i>et al.</i> , 2011, pp. 49, 79, 82, 120, 158)	Acción integral del biocida, garantiza su penetración en todo el material.	Por la acción metabólica de los hongos la gelatina puede estar friable, por lo tanto podría representar su disolución y, debido al estado de degradación, su pérdida.	No recomendable para ataques mayores donde se comprometa la integridad material de la fotografía.
Pincel – plata gelatina – (Díaz Cañas & Guzmán Solano, 2009, p. 36)	Aplicación controlada y puntual en caso de tener ataques menores.	Por la puntualidad del método no se puede aplicar a grandes cantidades de material de manera eficiente.	Recomendable para casos de ataques fúngicos puntuales.
Aplicación con hisopo – colodión y plata gelatina – (Cuhna Boaventura <i>et al.</i> , 2011, p. 40) ³⁶ (Gutiérrez Oluín <i>et al.</i> , 2011, pp. 14, 22, 26)	Aplicación controlada y puntual en caso de tener ataques menores y que el aglutinante esté en buen estado (no disgregado).	Por la puntualidad del método no se puede aplicar a grandes cantidades de material de manera eficiente. Además, en caso de tener una gelatina en un estado friable podría representar, la acción mecánica del hisopo podría provocar mayores pérdidas de material.	Recomendable para casos de ataques fúngicos puntuales en donde el aglutinante no esté (o mínimamente) afectado.
Aspersión – plata gelatina – (Cuhna Boaventura <i>et al.</i> , 2011, pp. 72, 154) ³⁷	El tamaño de partícula que permiten muchos aspersores es suficientemente pequeña para garantizar una aplicación homogénea de las sustancias sin mojar en exceso la superficie (deseable debido a un estado friable de la gelatina) y permite una aplicación más general.	Se debe hacer una revisión del aspersor que se vaya a emplear pues algunos pueden generar gotas muy grandes que podrían mojar la superficie en exceso.	Método general que permite una mayor cobertura sin entrar directamente en contacto con la superficie del material.
	Garavito (2009) usa la aspersión apoyándose en una malla monyl lo cual	El uso de la malla monyl reduce el campo de aplicación del producto, lo cual	

³⁵ A partir de lo recopilado en los diferentes informes y trabajos revisados para estos apartados.

³⁶ Método de aplicación planteado en la propuesta de intervención del informe reportado, más no llevado a cabo. El tratamiento de desinfección se realizó por inmersión (Cuhna Boaventura *et al.*, 2011, p. 49).

³⁷ Método de aplicación planteado en la propuesta de intervención del informe reportado, más no llevado a cabo. El tratamiento de desinfección se realizó por inmersión (Cuhna Boaventura *et al.*, 2011, pp. 79, 82, 158).

	permitió disminuir más el tamaño de partícula.	no permitiría (o complicaría) su uso con grandes cantidades de material.	
Nebulización (Apoyo para el Desarrollo de Archivos y Bibliotecas de México, 2011)	El tamaño de partícula que permite la nebulización es el más pequeño y por lo tanto el más idóneo para la aplicación de cualquier producto sobre fotografías, pues permite una aplicación homogénea sin mojar la superficie excesivamente	Este procedimiento no permite una aplicación masiva de fumigación.	En términos de metodología éste sería el método idóneo, aunque controlar el ambiente de la nebulización en cámaras de tamaños mayores podría ser complicado, debido a que la mayoría de las partículas caen más cerca del nebulizador y, en zonas más lejanas el alcance es menor. Así mismo hay un riesgo de condensación, que en cámaras grandes puede ser más difícil de cuidar. ³⁸

Tabla 2. Recopilación de los métodos de aplicación reportados en la bibliografía, sus ventajas y desventajas.

A partir de estas consideraciones se decidió que el método de aplicación que tiene mayor probabilidad de ser usado en archivos es la aspersion, pues implica menores costos que la nebulización. Además, contrariamente a los pinceles o hisopos, cubre mayor superficie y no implica una interacción mecánica directa con el estrato de la imagen.

Para definir las concentraciones de los biocidas y los medios de dilución se procedió a una revisión de diversas investigaciones anteriores (Buendía Sánchez, 2017; Cáceres Acereto, 1998; Lucas, 2016) y a analizar algunos casos que ya se tenían identificados de fumigación con Citricidin® en informes de la especialidad de fotografía (Cunha Boaventura *et al.*, 2011, pp. 40, 82; Garavito Posada, 2009, p. 23; Gutiérrez Olguín *et al.*, 2011, p. 22).

Por un lado, en la tesis de Cáceres (1998, p. 138) la conclusión fue que una concentración de Citricidin® preparado al 0.2% en agua destilada era idónea para la mayoría de las especies. Por otro lado, en los informes de la especialidad de fotografía

³⁸ A partir de experiencia personal durante la devolución de plano de unas fotografías en cámara de nebulización en el Harry Ransom Center.

se identificó que las concentraciones a las que más comúnmente se aplicaba el Citricidin® era al 1% o 2%, usándolo en agua destilada, en etanol o en agua-etanol y en los cuáles no se identificaron los criterios para la decisión a este respecto, salvo en el caso de los colodiones, en los cuales debido a la sensibilidad que tienen al alcohol, se usó agua. De este modo se optó por evaluar estas dos últimas concentraciones y, a partir de los resultados obtenidos por Cáceres (1998, p. 146) y de las evaluaciones posteriores de la Mtra. Gabriela Cruz con relación a estos, se optó por probar una tercera concentración al 0.5%, pues también las especies de hongos inoculadas en las fotografías son más agresivas que las identificadas y tratadas por Cáceres.

En la investigación que llevó a cabo Chloé Lucas (2016) como parte de su memoria de titulación de la maestría en conservación de fotografías del *Institut National du Patrimoine* corroboró que la concentración de agua-alcohol 30:70 v/v funciona como biocida por sí misma (hasta ese momento las conclusiones de los investigadores habían sido un poco incongruentes, pues dependiendo de las concentraciones empleadas la mezcla de agua-alcohol puede inhibir o favorecer el crecimiento de microorganismos). Así mismo, usar solamente alcohol podría dañar la gelatina, pues deteriora las cadenas proteicas (Madigan *et al.*, 2013, p. 698). De este modo se descartaron tanto el Citricidal® en alcohol puro debido a este riesgo que representa para la fotografía, como su uso en una dilución de agua-etanol 30:70 v/v, pues siendo esta concentración biocida *per se* no se podría tener una referencia de qué se está evaluando, si la eficacia del extracto de toronja o el solvente.

Las diluciones por las que se optó fueron entonces Citricidal® en agua destilada y en agua-etanol 50:50 v/v, usando las concentraciones 0.5%, 1% y 2% v/v.

Por su parte el Éviter® se decidió usar al 100%, de acuerdo a las recomendaciones de la fábrica. Como respaldo de esto, está la tesis de Buendía Sánchez (2017, p. 37), quien probó el esterilizante quirúrgico en frío Éviter® usándolo al 3% y 5%, concentraciones

con las cuales tuvo resultados positivos para la eliminación de los hongos *Phoma* sp. y *Aspergillus* sp., pero no con el *Chaetomium* sp.

Se prepararon 60 ml de cada dilución de Citricidal®, teniendo en total seis diluciones

Dilución en H ₂ O destilada			Dilución en H ₂ O:etanol (50:50 v/v)		
0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%

La cantidad de Citricidal® correspondiente a cada concentración fue la siguiente:

Concentración	Cantidad
0.5%	0.3 ml
1%	0.6 ml
2%	1.2 ml

Procedimiento de aplicación:

Siendo a razón de 6 impresiones para realizar pruebas con las diluciones de Citricidal®, una para el Éviter® y un fragmento que no sería sometido a desinfección, como testigo del crecimiento natural de cada cepa inoculada (además de los dos fragmentos como testigos de las impresiones sin inocular; ver tabla 1), las impresiones fotográficas se recortaron de forma a obtener los 8 fragmentos requeridos para la experimentación (con cada tipo de hongo). El proceso de recorte de impresiones se hizo en campo estéril y con ayuda de pinzas y tijeras esterilizadas con calor y alcohol etílico para evitar la contaminación entre las probetas (imagen 36).



Imagen 36. Recorte de muestras en medio estéril en el laboratorio de biología de la ENCRyM.

La aplicación se llevó a cabo por aspersión, primero en el reverso de las muestras y posteriormente sobre el anverso. Se aplicaron 10 aspersiones de cada lado en todas las fotografías. Al realizar esto se observó una ligera deformación de las impresiones fotográficas al reaccionar con agua; por el tamaño de las muestras estas pérdidas de plano no fueron importantes, pero fue evidente una mayor reacción de aquellas que a las que se les aplicó Citricidal® diluido en agua, que aquellas tratadas con agua-etanol o con Éviter®. Igualmente se notó que algunas partículas de *Chaetomium* sp. se desprendieron solas al momento de su manipulación. Se dejaron secar en plano sobre una cama de papel secante y hollytex® (ver imagen 37) y una vez secas se almacenaron de manera individual en sobres de papel bond y, por género, se guardaron en cajas de cartón corrugado libre de ácido; los testigos de cada género, al no haber sido tratados si no solamente aspirados, se guardaron dentro de sus respectivos sobres en cajas individuales (imagen 38). Todos los sobres y cajas se etiquetaron para tener un registro adecuado de las muestras y se almacenaron en el laboratorio de biología de la ENCRyM junto con un datalogger para llevar un registro preciso de las condiciones ambientales (ver apartado 3.6).

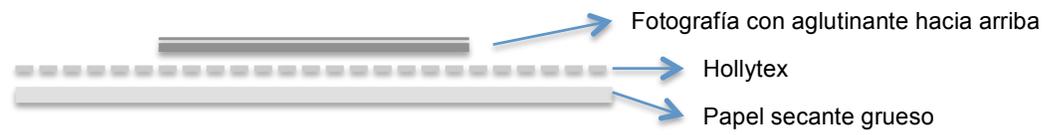


Imagen 37. Esquema de secado de las impresiones fotográficas



Imagen 38. Disposición de los sobres en cajas de cartón libres de ácido. Los testigos se guardaron en cajas aparte.

Se hizo una revisión a los siete días de haber llevado a cabo la fumigación y se realizó un registro general del estado de crecimiento o inhibición de los hongos en las impresiones fotográficas. Durante esta revisión no se observó ningún cambio evidente en el crecimiento de los hongos.

	Éviter®	Citricidal® en agua			Citricidal® en agua alcohol		
		0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%
<i>Alternaria</i> sp.							
<i>Aspergillus</i> sp.							
<i>Cladosporium</i> sp.							
<i>Chaetomium</i> sp.							

Tabla 3. Registro de las probetas de fotografías una semana después de la aplicación

A los catorce días de estar las probetas en condiciones de almacenamiento, se volvió a realizar una revisión y registro de las imágenes. Todas las muestras de *Chaetomium* sp. que habían sido tratadas con Citricidal® presentaban colonias en la misma cantidad que después de la limpieza y primera fumigación, evidente en la presencia de concreciones esféricas color verde (imagen 39). Por su parte, la de *Chaetomium* sp. que había sido desinfectada con Éviter®, si bien presentó también estas concreciones, fueron mucho menores (imagen 40). Ante esto se decidió, en conjunto con la Mtra. Gabriela Cruz, volver a aplicar el Éviter® al día siguiente, con el mismo procedimiento por aspersion, para tratar de asegurar un efecto biocida mediante la repetición del proceso. En el caso

de las demás cepas de hongos no se observó crecimiento en ninguna de las muestras a lo largo de este periodo de 14 días.

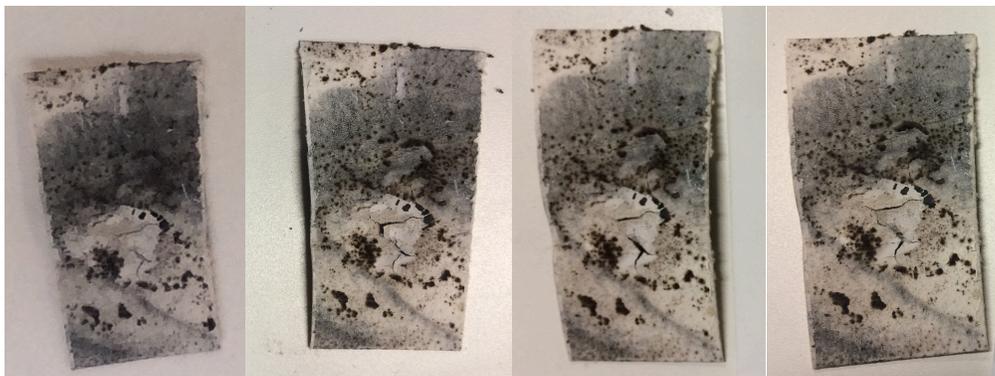


Imagen 39. Probeta de fotografía con *Chaetomium* sp. tratada con Citricidal® en agua-etanol al 2% el día de la primera fumigación (22 de mayo) y en los días posteriores (29 de mayo, 7 de junio, 21 de junio). Es evidente la presencia de formaciones fúngicas, sin embargo su crecimiento es nulo.

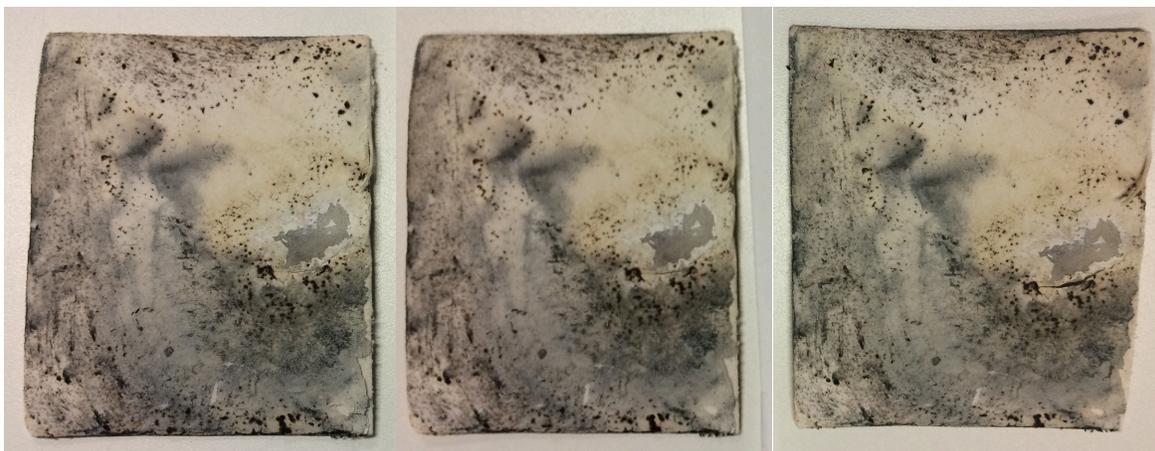


Imagen 40. Probeta de fotografía con *Chaetomium* sp. tratada con Éviter® . Izquierda: 7 días después de la primera aplicación. Centro: 14 días de la primera aplicación; día de la segunda (particular a esta probeta). Derecha: 28 días después de la primera aplicación y 14 días después de la segunda. No hay cambios evidentes en el crecimiento de las colonias.

Se realizó una tercera revisión a los 28 días de la fumigación inicial, y se llevó a cabo nuevamente un registro. Las fotografías con *Alternaria* sp. no presentaron ningún cambio, ni crecimiento (imágenes 41 y 42). En las que se inoculó *Cladosporium* sp. y *Aspergillus* sp., presentaron un ligero crecimiento de hongos y el desarrollo de las esporas fue principalmente evidente en el reverso. Por su parte, las muestras con

Chaetomium sp. presentaron una mayor proliferación de este hongo a comparación de las demás especies, sin embargo el crecimiento fue más lento que tras la inoculación inicial y su incubación en las cajas de Petri. La muestra tratada con Éviter® presentó también un crecimiento lento pese a las diversas aspersiones aplicadas.

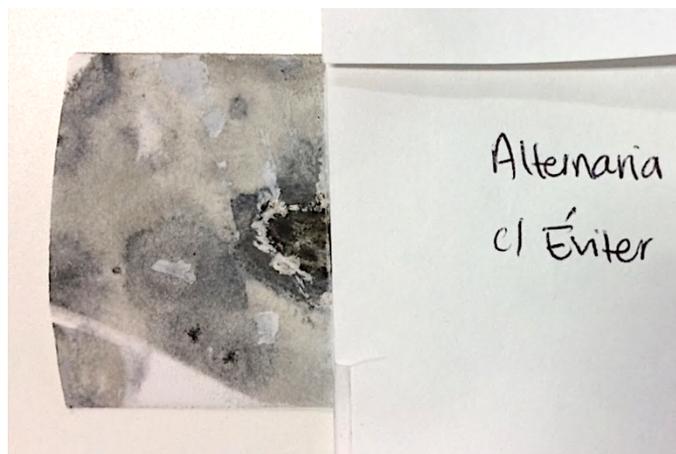


Imagen 41. Probeta de fotografía con *Alternaria* sp. a los 14 días de la primera aplicación

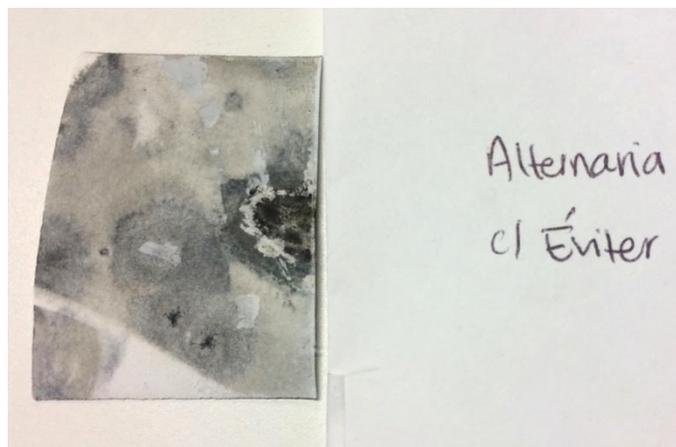


Imagen 42. Probeta de fotografía con *Alternaria* sp. a los 14 días de la segunda aplicación. Es evidente la ausencia de crecimiento de microorganismos.

3.4. Segundo cultivo y resultados

En total, las probetas de fotografías permanecieron en sus sobres individuales, dentro de las cajas, durante cinco semanas (35 días) en el laboratorio de biología de la ENCRyM³⁹, tras las cuales se realizó un nuevo cultivo en EMA de cada una de las cepas para evaluar si había o no posibilidad de crecimiento de los hongos y determinar la efectividad de los tratamientos en función del crecimiento (o la ausencia del mismo) en medios de cultivo.

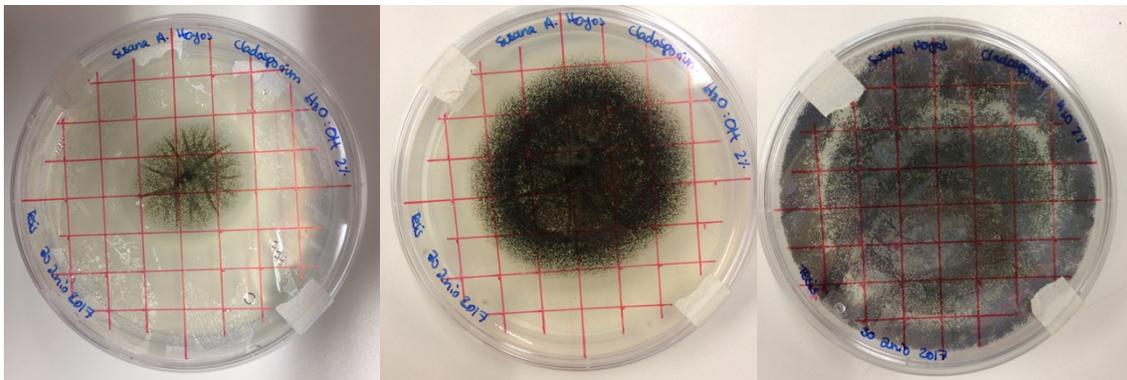


Imagen 43. Ejemplo del crecimiento, y el método para su medición, de la muestra de *Cladosporium* sp. al 2% en agua-etanol a los días 5, 7 y 13 después de su siembra en los medios de cultivo.

El procedimiento fue el mismo que para la primera siembra de cultivos (ver apartado *Metodología de cultivo*, p. 49) y permanecieron en la estufa de cultivo durante 14 días a una temperatura promedio de 28°C, durante los cuales se realizó un registro periódico de todas las muestras para tener un referente de la evolución de los microorganismos (imagen 43). Al cabo de los catorce días fue evidente que el crecimiento de los cultivos fue muy aleatorio; incluso en el caso de los cultivos tomados de las probetas con *Alternaria* sp. con Citricidal® al 0.5% en agua destilada y con *Cladosporium* sp. con Éviter® el crecimiento fue nulo. Para tratar de identificar algún patrón en el crecimiento de los hongos en esta etapa se registró el diámetro de crecimiento de cada uno. Esto se hizo trazando una cuadrícula en la tapa de cada caja de Petri (imagen 43). En casi todos

³⁹ Los detalles de las condiciones ambientales se encuentran en el apartado 3.6, p. 81.

los casos donde se presentó desarrollo de las colonias, a lo largo de los primeros 3 a 4 días el crecimiento fue más pausado, mientras que hubo un aceleramiento general del proceso entre esos días y el séptimo después de la incubación, y posteriormente siguieron creciendo pero a una velocidad menor (variable en las diferentes muestras) (ver gráficas correspondientes a *Alternaria* sp, *Aspergillus* sp. y *Chaetomium* sp. tratadas con Éviter® en las imágenes 44 a 46, y *Alternaria* sp, *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. y *Chaetomium* sp. tratadas con Citricidal® al 2% en agua destilada en imágenes 47 a 50).

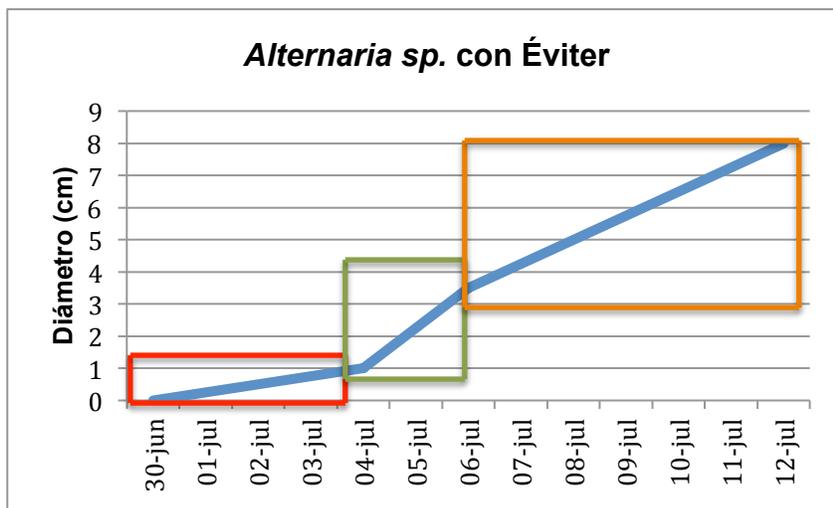


Imagen 44. Gráfica de crecimiento de *Alternaria* sp. desinfectada con Éviter®. En rojo fase de latencia, en verde fase exponencial y en naranja la fase estacionaria.

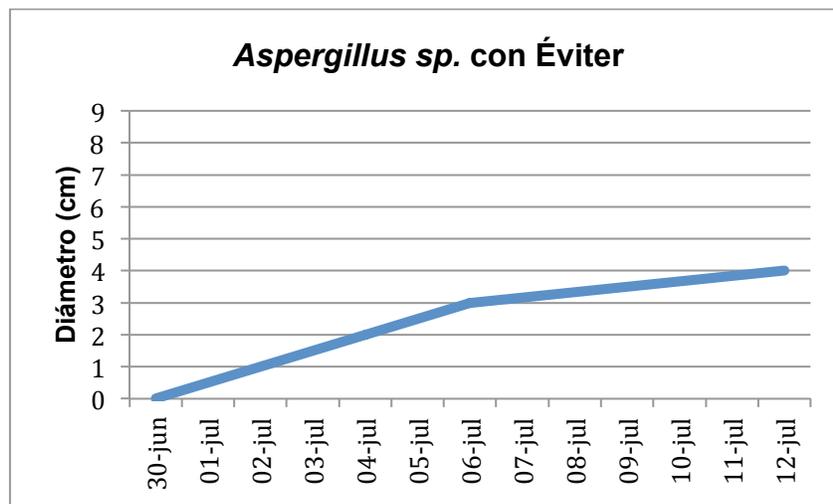


Imagen 45. Gráfica de crecimiento de *Aspergillus* sp. desinfectado con Éviter®

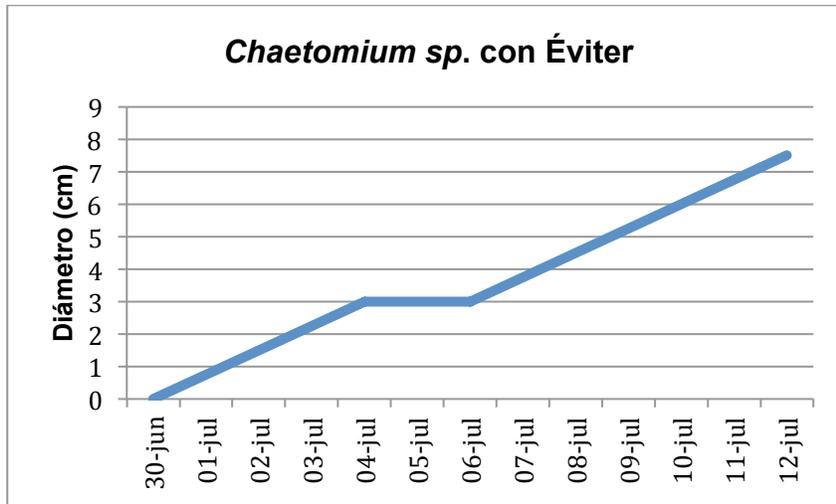


Imagen 46. Gráfica de crecimiento de *Chaetomium* sp. desinfectado con Éviter®

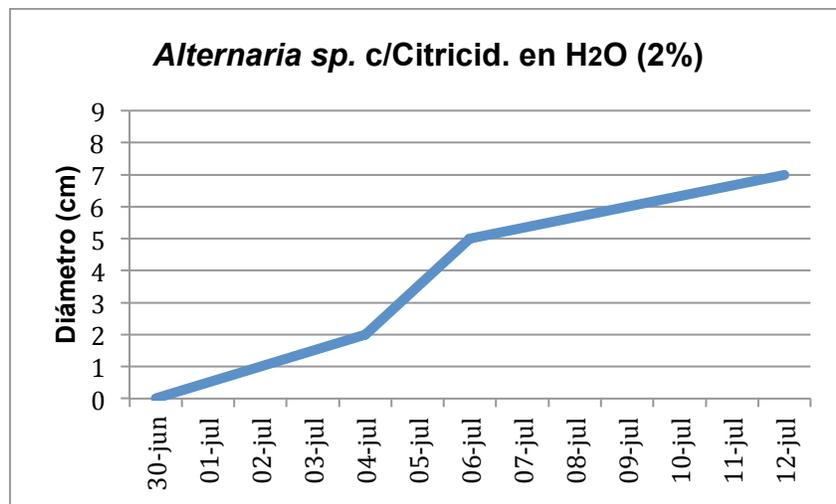


Imagen 47. Gráfica de crecimiento de *Alternaria* sp. desinfectado con Citricidal® al 2% en agua destilada

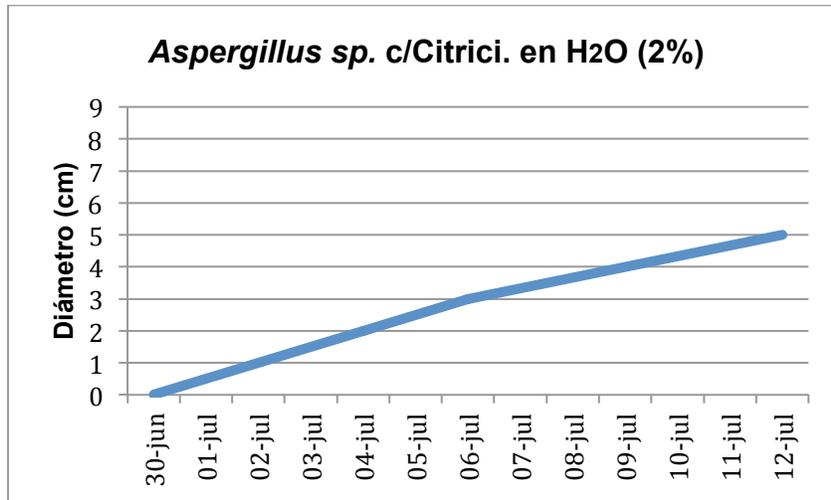


Imagen 48. Gráfica de crecimiento de *Aspergillus sp.* desinfectado con Citricidal al 2% en agua destilada

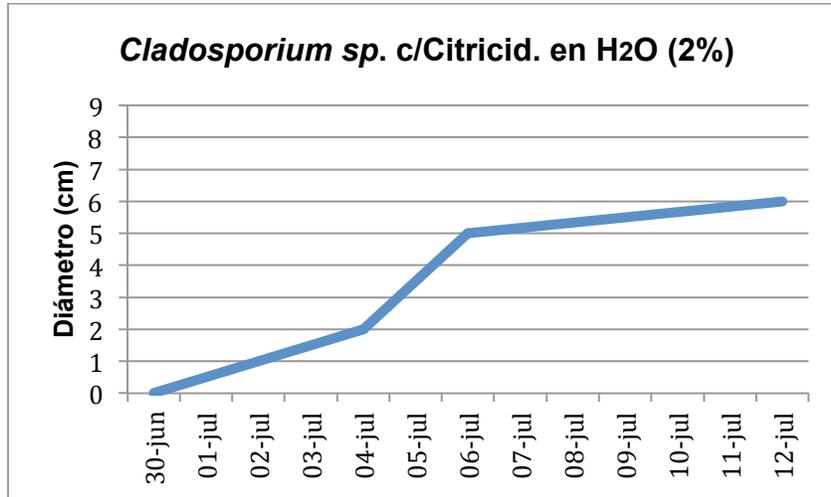


Imagen 49. Gráfica de crecimiento de *Cladosporium sp.* desinfectado con Citricidal al 2% en agua destilada

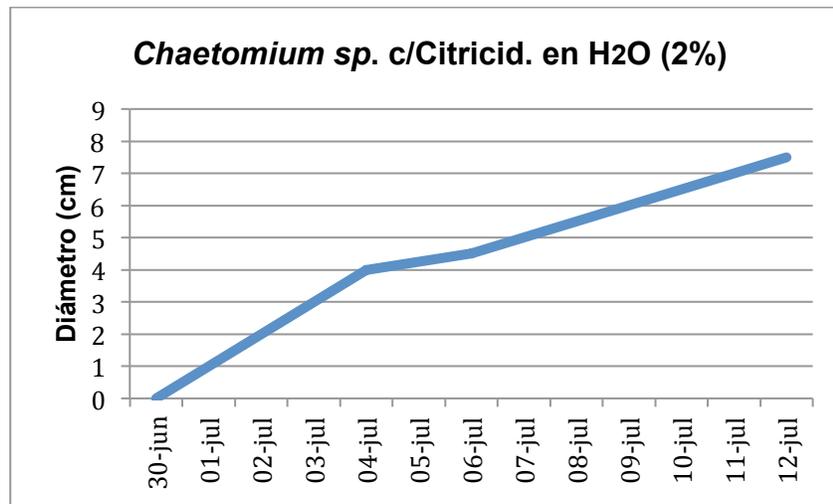


Imagen 50. Gráfica de crecimiento de *Chaetomium sp.* desinfectado con Citricidal al 2% en agua destilada

Estos patrones son muy comunes en los crecimientos de colonias de microorganismos. De acuerdo a la dinámica propuesta por Jacques-Lucien Monod (Trinidad Bello, 2014, p. 25) las fases de crecimiento que siguen los microorganismos son cuatro:

1. Fase de latencia
2. Fase exponencial
3. Fase estacionaria
4. Fase endógena

De estas cuatro etapas (conocidas como “Modelo de Monod”) se observaron las tres primeras: latencia (enmarcada en rojo en la imagen 44, como ejemplo), que implica la adaptación de los microorganismos al medio, exponencial (enmarcada en verde en la imagen 44), que es la de mayor crecimiento en situaciones en que el sustrato se encuentre en abundancia (como es el caso de los medios EMA), y estacionaria (enmarcada en naranja en la imagen 44), que es cuando el microorganismo se encuentra en equilibrio con el medio (Trinidad Bello, 2014, p. 25). Aunque en el caso presente hubo algunas cepas (imágenes 46 y 50) donde el crecimiento no siguió este patrón.

A partir de los resultados de esta siembra, considerando que en dos casos no hubo crecimiento, y algunos otros tuvieron un desarrollo menor⁴⁰, se concluyó que la fumigación posiblemente sí había tenido efecto, más no completa, ni homogéneamente, si no que en algunas zonas en donde confluyó una mayor cantidad de producto pudo haber sido completamente inhibida, mientras que en otras no. También es posible que cada especie reaccione distinto con los productos usados; así mismo, cada microorganismo tiene su propia velocidad de desarrollo. Este último factor es importante tomarlo en cuenta para futuras investigaciones, pues en este caso se desconoce la velocidad particular de crecimiento de cada especie: las muestras de *Chaetomium* sp. y de *Alternaria* sp. con las que contaba el laboratorio ya se encontraban en estado de maduración óptimo para su inoculación, mientras que *Aspergillus* sp. y *Cladosporium* sp. se sembraron en EMA a partir de muestras tomadas de cultivos en seco con los que contaba el laboratorio, para su maduración e inoculación en las fotografías. Sería idóneo llevar a cabo una siembra de las cuatro cepas, tras una aplicación controlada de los productos, sometiendo todas a las mismas condiciones y llevando un registro periódico para una comparación de las velocidades de crecimiento específicas a cada género con y sin aplicación de los biocidas.

Por su parte, llevar a cabo un registro de este modo en las probetas fotográficas resultó sumamente complicado pues en éstas el crecimiento del hongo no es lineal; se va dando de manera más aleatoria que en un cultivo en agar y se fue observando en distintos patrones prefiriendo las zonas con predominancia de gelatina y menor cantidad de plata (ver subapartado *Alteraciones de la plata*, p. 19). Para la evaluación de su desarrollo se observaron factores como el crecimiento de concreciones afelpadas o esféricas y la disminución del brillo relacionada con la pérdida y cambio superficial de la gelatina (ver p. 76).

⁴⁰ Muestras de *Aspergillus* sp. tratadas con Éviter® y con Citricidal® al 1% y 2% en agua destilada, o de *Cladosporium* sp. tratadas con Citricidal® al 0.5% y 1% en agua destilada.

3.5. Segunda y tercera aplicación

Después del segundo cultivo se decidió hacer nuevamente el proceso de fumigación en todas probetas fotográficas: primero se realizó la aspiración de las probetas y después se llevó a cabo el mismo procedimiento de fumigación con ambos biocidas. Es importante mencionar que el efecto residual biocida de ambos productos es distinto, siendo el del Éviter® de 72h (de acuerdo a lo mencionado en la página de la empresa), mientras que el del Citricidal® no se encontró de manera específica, sin embargo se encontraron referencias de otro producto biocida comercial de composición similar (extracto de toronja, glicerina y ácido ascórbico) cuyo efecto permanece hasta durante 30 días (Marín Serafín, 2006, p. 43).

Las probetas se metieron en sobres individuales nuevos para evitar el contacto con las esporas que permanecieran en los sobres originales y se volvieron a guardar en las cajas de cartón corrugado libre de ácido, esta vez en el laboratorio de físico química de la ENCRyM.⁴¹

A los 8 días de haber llevado a cabo dicho procedimiento se realizó una revisión de todas las probetas. La *Alternaria* sp. fue la única en la que no se registraron cambios o crecimientos de colonias fúngicas. El *Cladosporium* sp. también presentó el desarrollo de esporas tanto en el anverso como en el reverso en la probeta de Citricidal® en agua-alcohol al 1%. Por su parte el *Aspergillus* sp. tuvo un desarrollo más variable: en la probeta con Éviter® sí hubo una ligera esporulación tanto en anverso como en reverso, mientras que las probetas de Citricidal®, la de agua al 0.5% no presentó esporulación; con las otras dos concentraciones sí hubo, aunque muy ligera, por el reverso (1%) y anverso y reverso (2%). Finalmente el *Chaetomium* sp. resultó tener un crecimiento general, más pronunciado que las demás especies, en todas las probetas por anverso y reverso.

⁴¹ Para detalles de las condiciones medioambientales ver apartado 3.6, p. 81.

	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Chaetomium sp.</i>
Éviter	Sin cambios evidentes	Ligero crecimiento por anverso y reverso	Sin cambios evidentes	Ligero crecimiento por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O 0.5%	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Crecimiento moderado por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O 1%	Sin cambios evidentes	Ligero crecimiento en el reverso (soporte)	Sin cambios evidentes	Crecimiento moderado por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O 2%	Sin cambios evidentes	Ligero crecimiento por anverso y reverso	Sin cambios evidentes	Crecimiento moderado por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O:etanol 0.5%	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Crecimiento moderado por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O:etanol 1%	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Ligero crecimiento por anverso y reverso	Crecimiento moderado por anverso y reverso
Citricidal H ₂ O:etanol 2%	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Sin cambios evidentes	Crecimiento moderado por anverso y reverso

Tabla 4. Cambios observados en las probetas fotográficas después de las tres aplicaciones

Tras dicho registro, una semana después de la segunda aplicación, se llevó a cabo una tercera aplicación de los productos (cuarta para el caso de la impresión de *Chaetomium sp* tratada con Éviter®), directamente sobre las probetas, siguiendo el mismo procedimiento pero sin llevar a cabo la aspiración previa, pues se consideró que dichos crecimientos no eran lo suficientemente grandes. Todas las probetas se registraron y permanecieron resguardadas durante 21 días, al cabo de los cuales se hizo una nueva observación y registro finales, incluyendo los testigos, que se describen a continuación.

Alternaria sp.

Presentaron muy poco crecimiento a comparación del testigo y en el caso del Éviter® y las concentraciones más altas de Citricidal® tanto en agua destilada como en agua-etanol no presentaron desarrollo de hongos. Tanto las probetas que se usaron para la aplicación de los biocidas como la muestra testigo presentaron disgregación en la superficie de la imagen debido al debilitamiento de la gelatina por acción de los hongos. Se tomó una muestra del crecimiento presente en la probeta con Citricidal® en agua-etanol al 0.5%, pues el tamaño de las partículas era suficientemente grande para tomar una muestra, a comparación de las demás fotografías inoculadas con *Alternaria sp.*, y

tratadas con otras concentraciones, para su observación bajo microscopio, pero su poca maduración no permitió su correcta apreciación. A comparación de las muestras con otros géneros, la pérdida de gelatina fue mínima.

Aspergillus sp.

No se observó mucha diferencia entre los crecimientos del testigo y de las probetas, aunque sí hubo un crecimiento más pronunciado en el testigo y una mayor pérdida de gelatina evidente en la pérdida de brillo y exposición de la barita. En estas últimas se identificó la presencia de unas pequeñas esferas color negro que en un principio se pensó podían ser esporas, no obstante gracias a la observación en microscopio se pudo identificar un patrón esférico microscópico sin características formales correspondientes a las esporas fúngicas. Se intentó tomar una muestra de uno de estos elementos, sin embargo su tamaño microscópico dificultó mucho su colocación en porta objetos y su observación bajo microscopio, no permitiendo concluir nada sobre su naturaleza por este método. Por otro lado, en la muestra tratada con Citricidal® al 1% en agua destilada se observaron puntitos color naranja, similar al *foxing*, pero no se pudo concluir nada con relación a la naturaleza de estos crecimientos. Finalmente, en algunas zonas fueron notorias unas ligeras oquedades en la superficie que nos remitieron a una posible antigua presencia de las esferas antes mencionadas.

Cladosporium sp.

Las probetas inoculadas con este hongo, posteriormente a las fumigaciones, tuvieron un menor crecimiento que el testigo, pero evidente. En todas hubo una disminución del brillo a raíz de la pérdida de la gelatina, sin llegar a la exposición y disgregación de la barita (salvo en la probeta tratada con Éviter® en la cual el hongo tuvo mayor desarrollo pues en esa zona se llevó a cabo la inoculación del género). Algo particularmente notorio fue la presencia de las esferas encontradas en las probetas de *Aspergillus* sp., sin embargo en estas, además de las de color negro se observaron algunas de un color café/pardo. Al igual que con el *Aspergillus* sp., se intentó tomar una muestra de estas formaciones esféricas, sin resultados concluyentes.

Chaetomium sp.

Con esta cepa la diferencia entre las probetas y el testigo fue la más evidente. El crecimiento del testigo fue más importante que con las probetas, de las cuales la que mejores resultados tuvo fue la tratada con Éviter®, la cual presentó un crecimiento más lento, debido a la inhibición por el producto. En todas las probetas con Citricidal® en general hubo un ligero crecimiento. Por otro lado, mientras que en las probetas que se usaron para las fumigaciones la pérdida de gelatina fue importante, más no total, en el testigo sí lo fue, y a diferencia de los testigos de las otras especies fúngicas, el de *Chaetomium* sp. presentó también las formaciones esféricas en superficie, tanto pardas como negras.

Para tratar de identificar algún patrón con relación a los crecimientos esféricos que se observaron se decidió realizar una observación más puntual, bajo un microscopio óptico Iroscope® NZ-14 del laboratorio de fisicoquímica de la ENCRyM, con luz directa, obteniendo los siguientes resultados:

<i>Alternaria</i> sp.*	
Éviter	Formaciones esféricas pequeñas, mayoritariamente negras aunque se observaron algunas pardas.
Citricidal H ₂ O – 0.5%	Muy pocas formaciones color pardo.
Citricidal H ₂ O – 1%	Muy pocas formaciones color pardo y negro.
Citricidal H ₂ O – 2%	Muy pocas formaciones color negro y se observaron algunas transparentes.
Citricidal H ₂ O:OH – 0.5%	Las formaciones presentan una apariencia ligeramente más plana, similar a deyecciones color pardo oscuro.
Citricidal H ₂ O:OH – 1%	Se observaron algunas manchas color rojizo, así como formaciones esféricas negras y pardas.
Citricidal H ₂ O:OH – 2%	<i>Ídem.</i>
Testigo	Ligera presencia de formaciones negras y pardas. La gelatina se perdió por completo.

Tabla 5. Observaciones bajo microscopio de las probetas con *Alternaria* sp.

*Como se mencionó más arriba el desarrollo de esporas y crecimiento de las colonias fúngicas de esta especie no fueron notorias. Por otra parte, en todas las probetas la gelatina y la barita se observaron con una ligera disgregación debido a la acción de las hifas por anclarse al sustrato.

<i>Aspergillus sp.</i>	
Éviter	Presencia de algunas formaciones negras y transparentes.
Citricidal H ₂ O – 0.5%	Nada evidente. Conserva más gelatina que las otras probetas.
Citricidal H ₂ O – 1%	Muy pocas formaciones rojizas, pequeñas. Mayor cantidad de gelatina que en las otras probetas.
Citricidal H ₂ O – 2%	<i>Idem.</i>
Citricidal H ₂ O:OH – 0.5%	Pocas formaciones pequeñas color negro y algunas transparentes con ligero brillo.
Citricidal H ₂ O:OH – 1%	Formaciones pequeñas y medianas color negro. Pocos restos de gelatina.
Citricidal H ₂ O:OH – 2%	Formaciones pequeñas color negro.
Testigo	Formaciones pequeñas y medianas color negro.

Tabla 6. Observaciones bajo microscopio de las probetas con *Aspergillus sp.*

<i>Cladosporium sp.</i>	
Éviter	Disgregación de la barita y la gelatina. Presencia de formaciones esféricas, rojizas, pardas y negras.
Citricidal H ₂ O – 0.5%	Gran presencia de formaciones negruzcas.
Citricidal H ₂ O – 1%	Principalmente formaciones esféricas negras, aunque también presenta algunas color pardo. Este también presentó una disgregación evidente.
Citricidal H ₂ O – 2%	Color pardo-ocre y un mayor número de color negro.
Citricidal H ₂ O:OH – 0.5%	Ligera presencia de formaciones esféricas negras y pardas.
Citricidal H ₂ O:OH – 1%	Presencia de formaciones esféricas negruzcas y algunas transparentes, ligeramente brillantes.
Citricidal H ₂ O:OH – 2%	Ligera presencia de formaciones esféricas negras y pardas.
Testigo	Algunas formaciones pequeñas negras y algunas oquedades.

Tabla 7. Observaciones bajo microscopio de las probetas con *Cladosporium sp.*

<i>Chaetomium</i> sp.	
Para este caso se generalizará, pues en todas las probetas se identificó el mismo patrón: presencia general de formaciones esféricas negras y pardas, así como una pérdida casi total de la gelatina y disgregación de la barita.	
Testigo	La ausencia de gelatina es casi total, evidente en primera instancia por la falta de brillo de la superficie, y en segunda por la pulverulencia de la capa de barita, indicador de la falta de aglutinante. La rigidez y consecuente fragilidad del papel de soporte es mucho mayor que en todos los demás ejemplares.

Tabla 8. Observaciones bajo microscopio de las probetas con *Chaetomium* sp.

Las dos probetas resaltadas en color gris en las tablas superiores (*Alternaria* sp. con Citricidal® H₂O:OH – 1% y *Cladosporium* sp. en Citricidal® H₂O:OH – 1%), por la variada coloración de las formaciones que presentaron, se tomaron para llevar a cabo una observación más detallada de dichas formaciones, sin lograr obtener resultados concluyentes con relación a su naturaleza. Sería deseable llevar a cabo una investigación más puntual al respecto, iniciando por evaluar si con el tiempo hay un mayor desarrollo de estos que permita su toma de muestra y observación. Esto se hizo en el laboratorio de enseñanza de la ENCRyM con el apoyo de la TQI Luz Esperanza López Méndez, bajo el microscopio óptico Leica DMLM, algunas directamente desde el ocular con ayuda del celular y otras con una cámara Moticam J80 de 5.0 megapíxeles, con ayuda del programa Moti Images Plus 2.0.

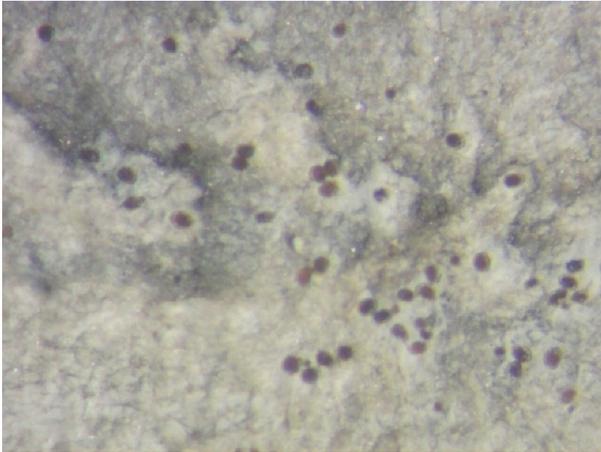


Imagen 51. Formaciones esféricas rojizas en *Alternaria* sp. 63X. Tomada con cámara Moticom J80 en el laboratorio de enseñanza de la ENCRyM.

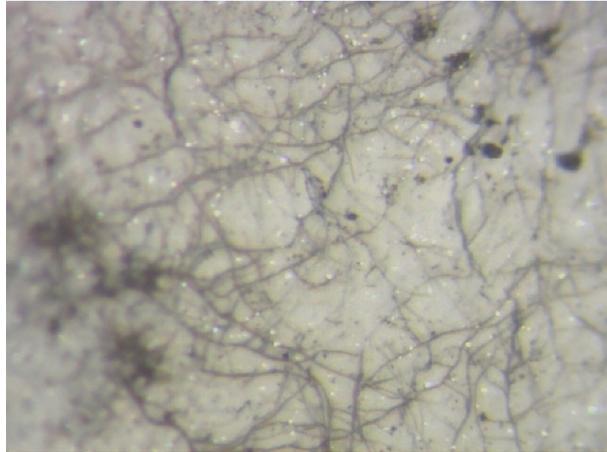


Imagen 52. Zona de mayor incidencia de formaciones brillantes en *Cladosporium* sp. 63X. Tomada con cámara Moticom J80 en el laboratorio de enseñanza de la ENCRyM.



Imagen 53. Formaciones rojizas-pardas en *Alternaria* sp. 20X. Tomada con cámara de celular a través del microscopio, en el laboratorio de enseñanza de la ENCRyM.



Imagen 54. Formaciones rojizas en *Alternaria* sp. al parecer dentro de una cavidad en la superficie del aglutinante. 50X. Tomada con cámara de celular a través del microscopio, en el laboratorio de enseñanza de la ENCRyM.

3.6. Comparación de resultados con los registros de HR y T °C.

A lo largo del periodo de resguardo de las probetas, posterior a su fumigación, se llevó a cabo un control de las condiciones ambientales (humedad y temperatura) del área de almacenamiento con un PEM2 Datalogger⁴².

ENCRYM1

	Date Range	Temperature		Relative Humidity	
Start	2017-04-23	T °C Mean	22.2	%RH Mean	52
End	2017-09-14	T °C Median	22.1	%RH Median	52
		T °C Min	17.3	%RH Min	24
		T °C Max	27.3	%RH Max	76
		T °C Stdev	2	%RH Stdev	11

Imagen 55. Valores máximos, mínimos y promedio de temperatura y humedad relativa en el periodo del 23 de abril de 2017 al 14 de septiembre de 2017 en los laboratorios de biología (hasta el 13 de agosto de 2017) y de físico química de la ENCRyM (a partir del 14 de agosto del 2017).

Si bien a lo largo del periodo registrado las diferencias en los valores máximos y mínimos de humedad relativa y temperatura aparentan ser grandes (temperatura mínima de 17.3°C y máxima de 27.3°C, HR mínima de 24% y máxima de 76%; imagen 55), en las gráficas presentadas a continuación se puede notar que dichas fluctuaciones fueron paulatinas a lo largo de los meses.

Las temperaturas más altas (arriba de los 25°C) se registraron a finales de mayo y durante gran parte del mes de junio (ver imagen 56), mientras que las más bajas (menores a los 20°C) fueron durante el mes de julio y en el periodo registrado de septiembre. Sin embargo, estos periodos de mayores temperaturas, como se puede apreciar en la gráfica RH of ENCRYM1 (imagen 57), coinciden con picos más bajos de humedad (menor a 40%), pues fue a finales de abril y en el mes de julio que se registró la humedad relativa más baja.

⁴² Este dispositivo fue desarrollado por el *Image Permanence Institute*, que forma parte del *Rochester Institute of Technology*. Para información más detallada visitar: <https://www.imagepermanenceinstitute.org/environmental/pem2-datalogger>

Previamente, se explicó que el rango de temperatura ideal para el crecimiento de los hongos es entre 23.8°C y los 28.7°C (ver apartado *Principales factores para el crecimiento de microorganismos*, p. 13). Si consideramos que la temperatura promedio es de 22.2°C eso nos indica que durante un mayor tiempo las probetas estuvieron a temperaturas relativamente bajas, o al menos por debajo de la temperatura mínima considerada favorable para su desarrollo.

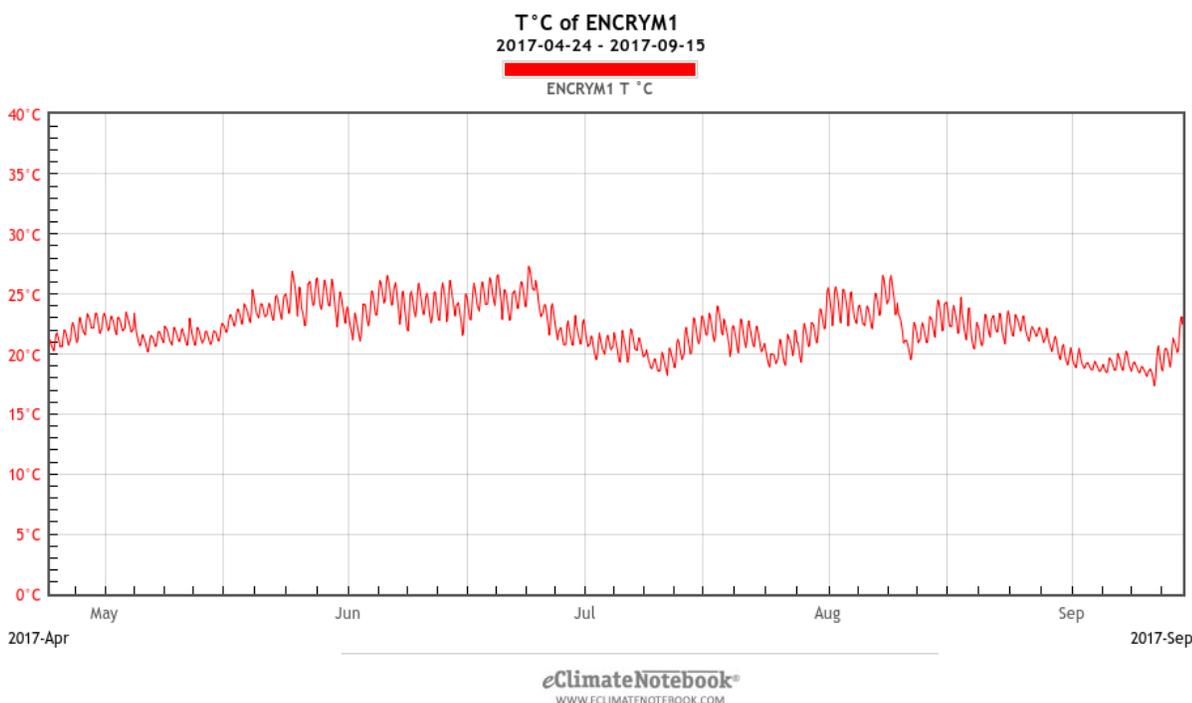


Imagen 56. Tabla general de temperaturas del 24 de abril al 15 de septiembre de 2017 en los laboratorios de biología (hasta el 13 de agosto de 2017) y de físico química de la ENCRyM (a partir del 14 de agosto del 2017).

La humedad tuvo picos más altos (arriba de 60%) en julio y septiembre, llegando en algunos momentos a más de 65% entre finales de julio y principios de agosto y a lo largo del periodo registrado en septiembre (ver imagen 57). Como se mencionó en el apartado *Principales factores para el crecimiento de microorganismos* (p. 13), la HR ideal para el crecimiento de éstos es entre 65% y 70%, por lo cual estos meses (agosto – septiembre) de la temporada de lluvias, son los más favorecedores para su crecimiento.

Este factor es muy importante en los resultados de la fase experimental después de la fumigación con los productos, sabiendo que las tres fumigaciones se hicieron respectivamente el 23 de mayo (fecha de inicio de registro de humedad relativa y temperatura), 14 y 22 de agosto, estando estas dos últimas fechas entre los dos meses de mayor humedad. Así mismo, la revisión final de las probetas se hizo el 14 de septiembre (fecha de fin de registro de los datos ambientales), la cual se encuentra en un valle dentro de la gráfica, pero es subsecuente a un largo periodo de HR arriba del 65%, el cual es más propicio para su desarrollo y sin embargo no tuvieron un crecimiento exponencial como se pudo haber esperado.

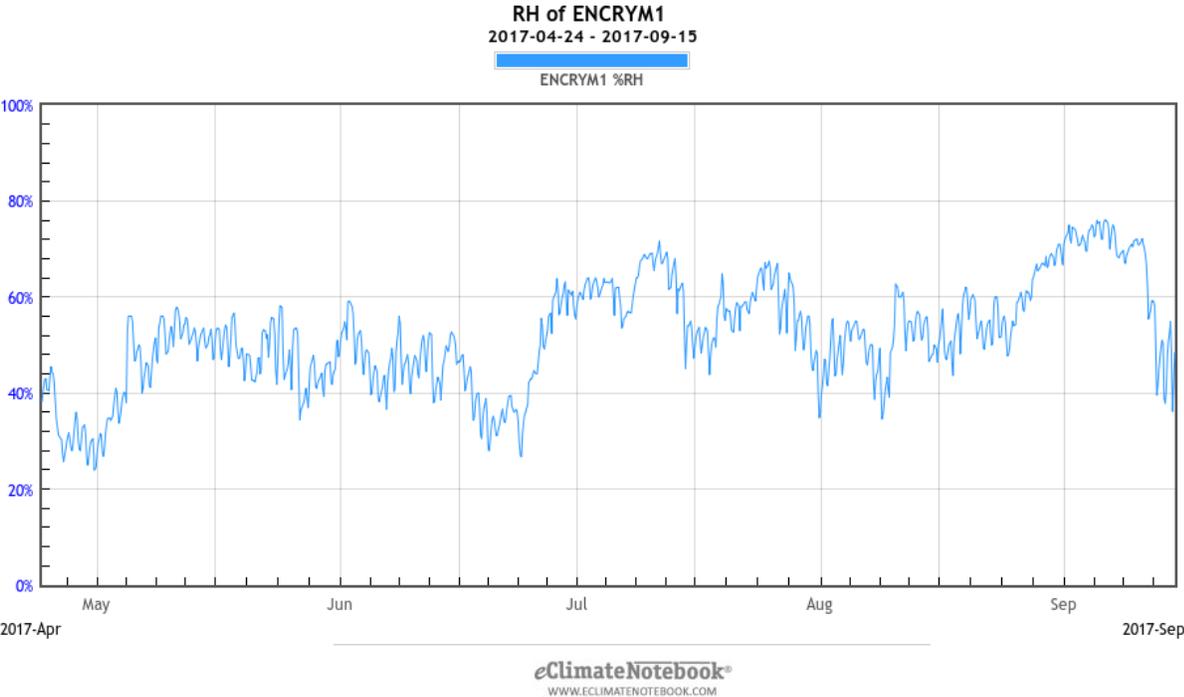


Imagen 57. Tabla de humedad relativa del 24 de abril al 15 de septiembre de 2017 en la ENCRyM.

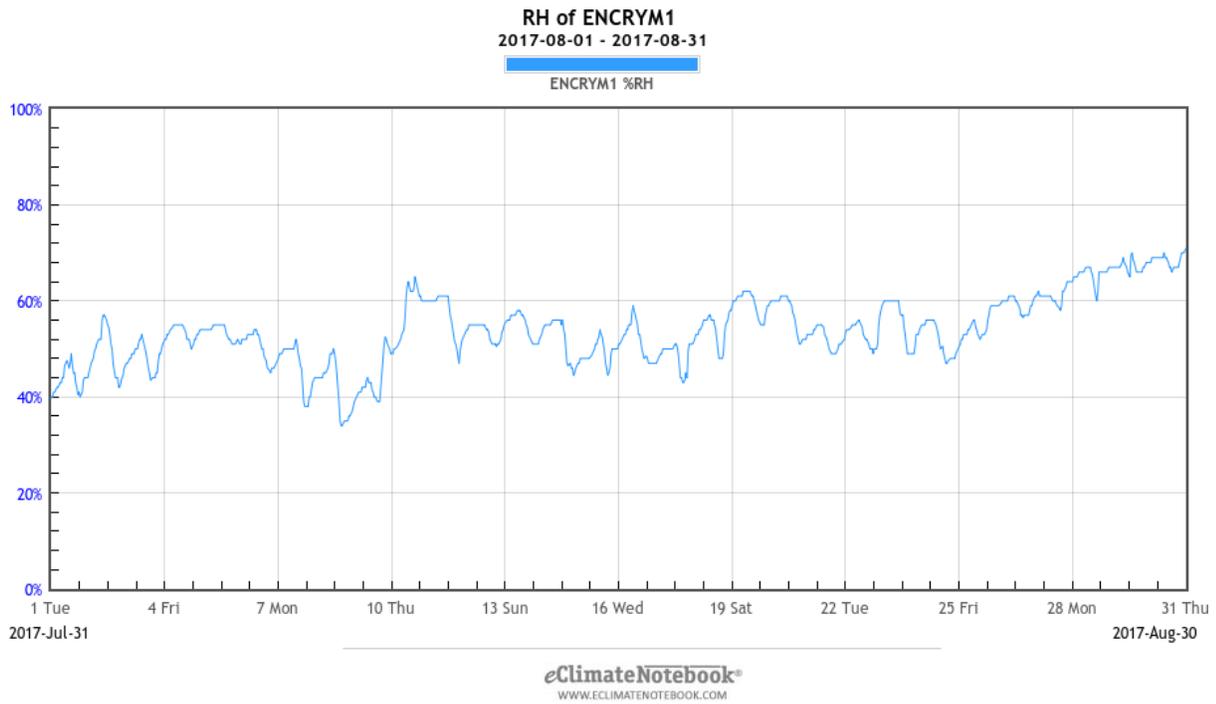


Imagen 58. Humedad relativa del 1 al 31 de agosto de 2017

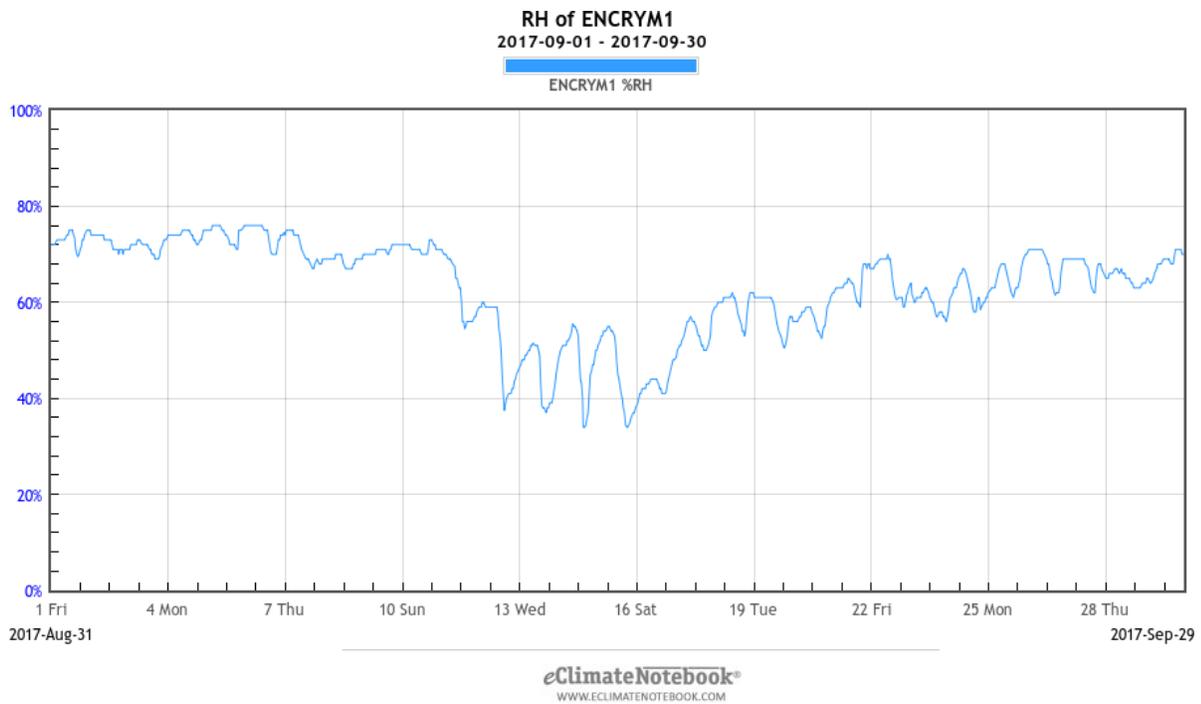


Imagen 59. Humedad relativa del 1 al 31 de septiembre de 2017

3.7. Conclusiones de la experimentación biológica

A través de la observación constante del proceso de crecimiento de hongos se notó que el Éviter® tuvo una mayor inhibición de los crecimientos de las colonias, que cualquiera de las diluciones de Citricidal®. En general las cepas tuvieron un crecimiento más lento después de la aplicación de este producto, a pesar de que las cuatro cepas se comportaron distinto, siendo la de *Chaetomium* sp. la más activa después del tratamiento con cualquiera de los productos, seguida de *Aspergillus* sp., luego *Cladosporium* sp., que tuvo un crecimiento menor y, finalmente, la más inhibida en todas las probetas, fue la de *Alternaria* sp. Es importante mencionar que las diluciones de Citricidal® reaccionaron distinto con todas las probetas, aunque de manera general se notó un crecimiento ligeramente más lento con las diluciones al 1% y 2% en agua destilada; los resultados obtenidos no pueden ser concluyentes ni tomados como una regla en tanto que, si bien conocemos el género fúngico, se desconoce exactamente las especies con las que se trabajó y considerando que cada una puede reaccionar distinto con los distintos productos y métodos de aplicación.

Con este método ambos productos resultaron fungistáticos pues, si bien las colonias volvieron a crecer, fue evidente una menor velocidad de desarrollo en todas las probetas después de la aplicación, que después de la inoculación inicial. Además los resultados obtenidos después del segundo cultivo en EMA no fueron concluyentes debido a la aleatoriedad de crecimiento de las siembras, siendo en algunos casos nulo y en otros muy pronunciado, sin haber correlación directa aparente con el producto empleado.

Se identificó la necesidad de un registro del crecimiento de las colonias fúngicas, en condiciones controladas (*in vitro* en medios de cultivo y en estufa de cultivo), previo a cualquier tratamiento, para evaluar la velocidad de crecimiento particular de cada género y así tener una referencia para evaluar las diferentes velocidades de crecimiento de los microorganismos antes y después de ser sometidos a un tratamiento fungicida. Con relación a esto, sería idóneo realizar una identificación de los microorganismos a nivel de

especie, para poder tener información más completa y precisa sobre el tipo de microorganismos en cuestión. Así mismo se considera prudente realizar pruebas de la eficacia de ambos productos directamente con los medios de cultivo, cuya composición homogénea, aunado a unas condiciones de incubación controladas, permitirán conocer de manera más detallada la efectividad de los biocidas antes mencionados.

Finalmente, el método de aplicación probado no resultó óptimo. Si bien permite abarcar una gran cantidad de materiales simultáneamente, no garantiza el contacto de los fungicidas con toda la superficie y por lo tanto que se incida sobre la totalidad de las esporas. Siendo así, el crecimiento posterior de hongos en la superficie de las probetas podría considerarse no como una deficiencia en la efectividad de éstos a nivel biológico, si no a un contacto superficial deficiente. Debido a esto se recomienda que se hagan nuevas pruebas con otros métodos como la nebulización, que, por su tamaño de partícula, mucho menor que cualquier aspersion, permite que se abarque una mayor superficie de manera más homogénea.

A raíz de las alteraciones que sufren las fotografías por la presencia de los hongos, en este punto no es posible llevar a cabo una revisión detallada sobre los efectos que tienen los biocidas en la gelatina, pues no resulta evidente si los deterioros que se observan son efectos de éstos o del crecimiento de los microorganismos en la gelatina.

Capítulo 4. Fase experimental: evaluación de cambios físico-químicos

Como parte de los objetivos de este proyecto se planteó identificar y analizar las posibles alteraciones de la gelatina o de la plata al interactuar con el Éviter® y el Citricidal®. Para el caso del análisis con Citricidal®, se seleccionó únicamente la concentración del 2% en agua destilada. En el capítulo anterior se mencionó que las diluciones con las que hubo un crecimiento ligeramente más lento fueron las de Citricidal® al 1% y 2% en agua destilada; a partir de esto se decidió usar el de mayor concentración pues se consideró que de esta manera, en caso de generar algún cambio, a corto plazo sería más evidente, pues las tres aplicaciones se realizaron con aproximadamente un mes de diferencia. La aplicación fue nuevamente por aspersion para continuar con las mismas variables de investigación y poder evaluar otros aspectos de este método que no se pudieran apreciar sobre las probetas deterioradas por hongos.

Considerando que el Éviter® está diluido en etanol y el Citricidal® en agua destilada se decidió hacer el mismo procedimiento de aplicación por aspersion empleando alcohol etílico y agua destilada puros para tener una referencia del comportamiento de las fotografías solamente con estos productos, y así asegurar que los posibles cambios que se pudieran identificar en las probetas tratadas con los biocidas se deberían únicamente a la acción de los agentes activos (la molécula Nbelyax® y el extracto cítrico).

En esta fase experimental se usaron dos impresiones fotográficas de plata gelatina sobre papel de fibra del mismo tiraje que las usadas para la inoculación de las cepas fúngicas y la aplicación de los biocidas correspondientes con el capítulo anterior, y así mantener las mismas variables de experimentación en toda la investigación (materiales fotográficos de plata gelatina con soporte de papel de fibra con *ferrotyping*).

Para poder tener una base de comparación, antes de la aplicación de los productos se hicieron mediciones preliminares de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (MEB) y colorimetría (descritos a

continuación) para tener la información del estado inicial de las dos fotografías que servirían como probetas. Estas dos impresiones fotográficas, como ya se mencionó, tuvieron las mismas características materiales que las empleadas en la fase experimental biológica, y además se seleccionaron iguales entre ellas, y simétricas, lo cual facilitó la comparación de características después de la aplicación de los productos. Posteriormente ambas fotografías fueron cortadas por la mitad (ver imagen 79), se hizo la aplicación de los cuatro productos (un producto en cada mitad; ver tabla 9) siguiendo la misma metodología que para las probetas de la experimentación biológica: se aplicaron 10 aspersiones, aunque en este caso únicamente en el anverso, en tres momentos distintos con aproximadamente cuatro semanas entre cada uno. Posteriormente a este procedimiento se realizaron segundas tomas con los mismos parámetros que se emplearon para las mediciones iniciales.

Fotografía 1		Fotografía 2	
Éviter®	Citricidal® diluido al 2% en agua destilada	Agua destilada	Alcohol etílico

Tabla 9. Organización de las fotografías para aplicación de los productos en esta fase experimental.

Los productos se aplicaron en tres momentos distintos, siguiendo el número de veces que se aplicaron en la fase experimental biológica; el tiempo transcurrido entre la primera de las aplicaciones en esta fase experimental y las segundas mediciones de FT-IR, MEB y colorimetría, fue de aproximadamente 3 meses: la primera aplicación de los productos se realizó el 13 de julio de 2017 y todas las mediciones posteriores a los tratamientos de se realizaron a mediados del mes de noviembre del mismo año, según la disponibilidad de los equipos.

En todas las aplicaciones fue inmediatamente evidente la reacción de la gelatina al contacto con los solventes: al hidratarse la gelatina, ésta se hinchó provocando deformaciones convexas de las impresiones y al secarse sin peso, se contrajo en el

sentido contrario a las fibras del papel para el caso de las probeta con agua y agua destilada, y en el mismo, para las de Éviter® y etanol (tabla 10).

	Éviter®	Citricidal® al 2% en agua destilada	Agua destilada	Etanol
Efecto al momento de la humectación	Ligera deformación convexa	Deformación convexa pronunciada	Deformación convexa pronunciada	Ligera deformación convexa
Efecto después del secado	Sin deformación	Deformación cóncava	Deformación cóncava	Deformación convexa ligera

Tabla 10. Deformaciones observadas en las probetas tras la aplicación de los productos.

4.1 Evaluación de cambios en la gelatina: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

La Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier es una técnica no destructiva de análisis que permite la identificación de materiales a partir de su reacción característica a la irradiación de una onda infrarroja (IR). Se basa en el registro de la interacción electromagnética de cada compuesto para determinar su espectro IR característico (Universidad Autónoma de Madrid, 2008, s.p.). Para esto, cada molécula absorbe y refleja las ondas IR de manera distinta, en función de su estructura particular. Esta tasa de reflexión (y de ahí el nombre de espectroscopía de reflectancia) se representa gráficamente como bandas de determinadas longitudes de onda las cuales permiten la identificación de los compuestos a partir de la comparación con muestras patrón (Perron, 1989, p. 113).

Existen dos tipos de espectroscopía de reflectancia: la de reflectancia externa y la de reflectancia interna (ATR por sus siglas en inglés *Attenuated Total Reflection*) (Derrick *et al.*, 1999, p. 33). En ambos métodos el equipo emite una onda de un rango entre 4000 y 500 cm^{-1} .⁴³ El método de ATR se basa en la absorción parcial de los fotones en la estructura interna de la muestra. Como se mencionó anteriormente, la composición de

⁴³ Frecuencia correspondiente a la región media del IR, más común para análisis que las regiones lejana (~ 500-20 cm^{-1}) y cercana (~12,000-4,000 cm^{-1}) (Derrick, Landry, & Stulik, 1999, p. 13; Serrano Martínez, s. f., p. 2).

cada grupo que forma una molécula es distinta; debido a esto la absorción de la energía será selectiva de acuerdo a las longitudes de onda afines a éstas y a una reflectancia parcial de esta energía (Stuart, 2004, p. 33). Este método es más sensible y por lo tanto más preciso que la reflectancia externa (Derrick *et al.*, 1999, p. 45), por lo cual es una de las técnicas más recomendadas para la identificación de aglutinantes en las fotografías (Lavédrine, 2009, p. 195). Debido a la sensibilidad que tiene este método y los artículos que lo sustentan (Ali *et al.*, 2015; Ali, *et al.*, 2012), se consideró como el más apropiado para identificar los posibles cambios que pudieran generar los productos empleados en la estructura molecular de la gelatina (e.g. hidrólisis).

En la espectroscopía IR de reflectancia externa se mide únicamente la interacción del haz de fotones en la superficie. Este tipo de reflectancia puede ser especular (es decir, que el ángulo de reflexión es igual al ángulo de incidencia del haz) y es específicamente usado para análisis de superficies (Stuart, 2004, p. 35), o difuso, el cual es sobre todo usado para muestras muy pequeñas, como fibras o polvo, por medir la energía que absorbe o refleja una o más partículas (Stuart, 2004, p. 36).

Para el caso presente se determinó usar la reflectancia especular, con el fin de obtener un mayor rango de muestras patrón para una comparación más detallada.

Objetivos del análisis

Para el presente proyecto, el uso de FT-IR tuvo el objetivo de identificar posibles cambios en la estructura molecular de la gelatina fotográfica, a partir de la comparación de los espectros obtenidos de las mediciones previas y posteriores a la aplicación de agua destilada, alcohol etílico, Éviter® y Citricidal® diluido al 2% en agua destilada.

Preparación de muestras de referencia de la gelatina

Con el fin de tener espectros de referencia, además de contar con los recabados en algunos artículos (Ali *et al.*, 2015, 2012; Stulik & Kaplan, 2013) se decidió obtener los espectros característicos de las impresiones que se iban a usar. Considerando que éstas tienen una base de barita (sulfato de bario y gelatina) y de papel, se optó también por obtener algunas variantes de los espectros de gelatina sobre diferentes soportes, como cartón de cuatro capas libre de ácido y un polímero plástico, así como granos de gelatina grado fotográfico con el fin de identificar algunas interferencias posibles externas a la gelatina.

Para las probetas sobre un cartón de cuatro capas libre de ácido y polímero plástico se utilizó gelatina tipo B grado fotográfico marca Talas® (ficha técnica en Anexos), hinchándola primero durante varias horas a temperatura ambiente en agua destilada y posteriormente calentándola, cuidando de no pasar de los 50°C para evitar su desnaturalización y el deterioro de sus propiedades mecánicas (Kozlov, 1983). Posteriormente se aplicó sobre los soportes de cartulina, polímero plástico y una lámina de aluminio (ésta última sólo fungió como soporte para la aplicación de la gelatina y obtener una película de gelatina pura para su análisis). Ésta se aplicó utilizando un pincel de pelo suave alternando los sentidos de aplicación hasta obtener un total de 6 capas. El secado fue a temperatura ambiente y todas las muestras se guardaron en una caja de polipropileno para evitar su contaminación con polvo, pelusas, etc.

Metodología de análisis

Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Conservación, Diagnóstico y Caracterización Espectroscópica de Materiales (CODICE) de la Coordinación Nacional de Conservación del Patrimonio Cultural (CNCPC – INAH), con el apoyo del M. en C. Armando Arciniega Corona e inicialmente de la Dra. Nora Adriana Pérez Castellanos. El equipo empleado fue un Alpha II marca Bruker con los módulos ATR y de reflexión frontal.

Una vez calibrado el equipo y realizada una prueba preliminar, se realizaron las tomas de cada muestra con el módulo ATR; este equipo realiza 24 barridos gracias a los cuales obtiene un espectro promedio. En todos los casos se realizaron dos tomas para asegurar la correcta medición y entre cada probeta se limpió la superficie del equipo con alcohol isopropílico. En primera instancia se realizó una toma con una pequeña muestra de polvo de la gelatina grado fotográfico (en su presentación granulada). A este siguió la toma de muestra de gelatina aplicada sobre la cartulina, posteriormente la toma de muestra sobre polímero plástico, de la película de gelatina pura y finalmente de la impresión fotográfica en la que se realizarían las pruebas. En ésta última se hicieron varias tomas: dos en una zona blanca de la imagen, dos en una zona gris (ambas por el anverso) y una toma del papel por el reverso.

Probetas				Fotografía 1		
Gelatina pura grado fotográfico Talas®		Gelatina en otros soportes		Anverso		Reverso
Granulada	Película	Polímero plástico	Cartulina	Zona blanca	Zona gris	Papel

Tabla 11. Número de muestras empleadas para analizar con FT-IR ATR. El marco gris señala aquellas que se analizaron también en el módulo de reflectancia externa.



Imagen 60. Muestras de gelatina granulada y en película en el módulo ATR del espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

Posteriormente las muestras se analizaron en el módulo de reflectancia externa (frontal) usando la ventana más grande para poder llevar a cabo un registro en un área más amplia. Éste solamente se realizó para la muestra de la gelatina sobre cartulina, la gelatina sobre polímero plástico y la impresión fotográfica (dos tomas por el anverso en zonas de luces (blanco), una en un medio tono (gris) y una cuarta por el reverso), por ser materiales opacos que permiten la reflectancia de los haces infrarrojos.



Imagen 61. Colocación de la muestra de gelatina sobre polímero en el módulo de reflexión frontal del espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

Análisis de resultados

Los resultados que se analizaron fueron únicamente los obtenidos con el módulo de ATR por haber encontrado una mayor cantidad de artículos (Ali, *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2015; Stulik & Kaplan, 2013) con espectros de fotografías de plata-gelatina reportados. Los espectros obtenidos en el módulo de reflectancia externa quedarán en el apartado de anexos por si fueran de interés en futuras investigaciones.

La gelatina, en los espectros ATR, presenta tres picos principales característicos correspondientes a su naturaleza proteica, así como otros seis secundarios (imágenes 63 y 64). De acuerdo con la información reportada por Stulik y Kaplan (2013, p. 35) la amina I se ubica a aproximadamente $1,630\text{ cm}^{-1}$, la amina II a $1,527\text{ cm}^{-1}$ y reportan picos de aminas adicionales a $1,442\text{ cm}^{-1}$, $1,405\text{ cm}^{-1}$ y $1,331\text{ cm}^{-1}$. Es importante mencionar la presencia del tercer pico principal, la amina III a $1,446\text{ cm}^{-1}$ (Ali *et al.*, 2012, p. 101) y

sobre todo que estos valores no son absolutos si no que, dependiendo del estado de la gelatina y sus características particulares pueden abarcar un cierto rango, por ejemplo la amina I ha sido reportada en rangos entre 1,660 – 1,600 cm^{-1} y la amina II entre 1,565 cm^{-1} y 1,500 cm^{-1} . De la amina III no se encontró mayor información relativa al rango en que se encuentra (tabla 11).

	Nº de onda (cm^{-1}) aproximado esperado					
Amina I (estiramiento del C=O de la gelatina)	1,660 a 1,600					
Amina II (estiramiento de C-N y flexión de N-H de la gelatina)	1,565 a 1,500					
Amina III (flexión del C-H de la gelatina)	1,446					
Aminas adicionales	1,442	1,405	1,331			
Barita (estiramiento del SO_4^{-2} del sulfato de Ba)				1,076	1,028	964
Papel (estiramiento de C-O en grupos hidroxilo C-OH)	3,277	3,071	2,931	1,233	1,163	1,076

Tabla 12. Picos importantes reportados en Ali *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2015 y Stulik & Kaplan 2013.

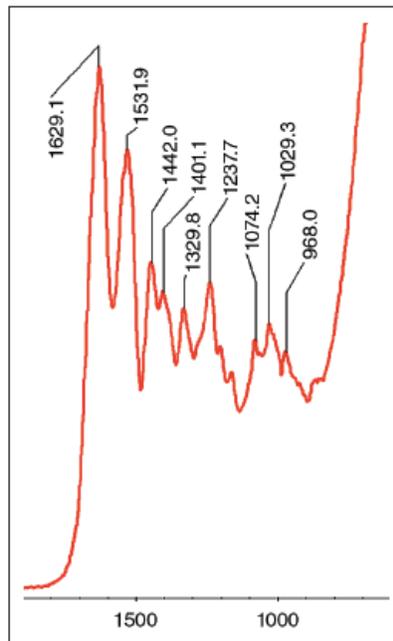


Figure 36a Detail of the ATR-FTIR analysis showing spectral peaks typical for gelatin-based photographs.

Imagen 62. Detalle de un espectro de absorción de gelatina en módulo ATR mostrando los picos típicos de la gelatina fotográfica (Stulik, 2013, p. 36).

Así mismo se esperaba encontrar picos correspondientes a la barita y al papel, materiales indisociables de la película fotográfica. Ali *et al.* (2012, p. 101) reportan las bandas correspondientes a la barita a $1,076.1\text{ cm}^{-1}$, $1,028.8\text{ cm}^{-1}$ y 964.2 cm^{-1} y las del papel a $3,277.4\text{ cm}^{-1}$, $3,071.1\text{ cm}^{-1}$, $2,931.3\text{ cm}^{-1}$, $1,233.3\text{ cm}^{-1}$, $1,163.8\text{ cm}^{-1}$ y $1,076.1\text{ cm}^{-1}$.

Las bandas obtenidas en los espectros de la gelatina grado fotográfico de Talas® (imágenes 58 y 59) permitieron identificar claramente los picos de las aminas principales y secundarias, así como los correspondientes a las vibraciones de los enlaces –CH, a $2,934.4\text{ cm}^{-1}$ y $2,881.4\text{ cm}^{-1}$ y los de las moléculas de agua presentes en la gelatina⁴⁴ a $3,273.5\text{ cm}^{-1}$, $3,081.1\text{ cm}^{-1}$, que responden a vibraciones de los enlaces –OH (Schrader, 1995, p. 190). La amina I se encontró a $1,626.6\text{ cm}^{-1}$, la amina II presentó tres picos entre $1,541.6\text{ cm}^{-1}$, $1,534.4\text{ cm}^{-1}$ y $1,522.3\text{ cm}^{-1}$, la amina III a $1,446.2\text{ cm}^{-1}$ y las aminas

⁴⁴ La gelatina contiene entre 8 y 13% de humedad aún estando “seca” (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 6).

secundarias a $1,418.9\text{ cm}^{-1}$, $1,397.3\text{ cm}^{-1}$ y $1,336.3\text{ cm}^{-1}$. Además se identificaron picos a $1,234.5\text{ cm}^{-1}$, $1,079.7\text{ cm}^{-1}$ y $1,030.8\text{ cm}^{-1}$, que también coinciden con picos que, de acuerdo con Ali (2012, p. 102), están relacionados con el estiramiento de moléculas C-O de grupos hidroxilo. Aunque los reporta asociados a la celulosa en el papel y el último al estiramiento de la molécula SO_4^{-2} del sulfato de bario, podría tratarse de un pico común a ambos compuestos.

	Nº de onda (cm^{-1}) obtenido					
Amina I (estiramiento del C=O de la gelatina)	1,626.6					
Amina II (estiramiento de C-N y flexión de N-H de la gelatina)	1,541.6 ; 1,534.4 ; 1,522.3					
Amina III (flexión del C-H de la gelatina)	1,446.2					
Aminas adicionales	1,418.9 1,397.3 1,336.3					
Barita (estiramiento del SO_4^{-2} del sulfato de Ba)	1,079.7 1,030.8					
Papel (estiramiento de C-O en grupos hidroxilo C-OH)	3,273.5	3,081.1	2,934.4	1,234.5	1,079.7	

Tabla 13. Picos obtenidos a partir de las muestras de gelatina fotográfica tipo B marca Talas®

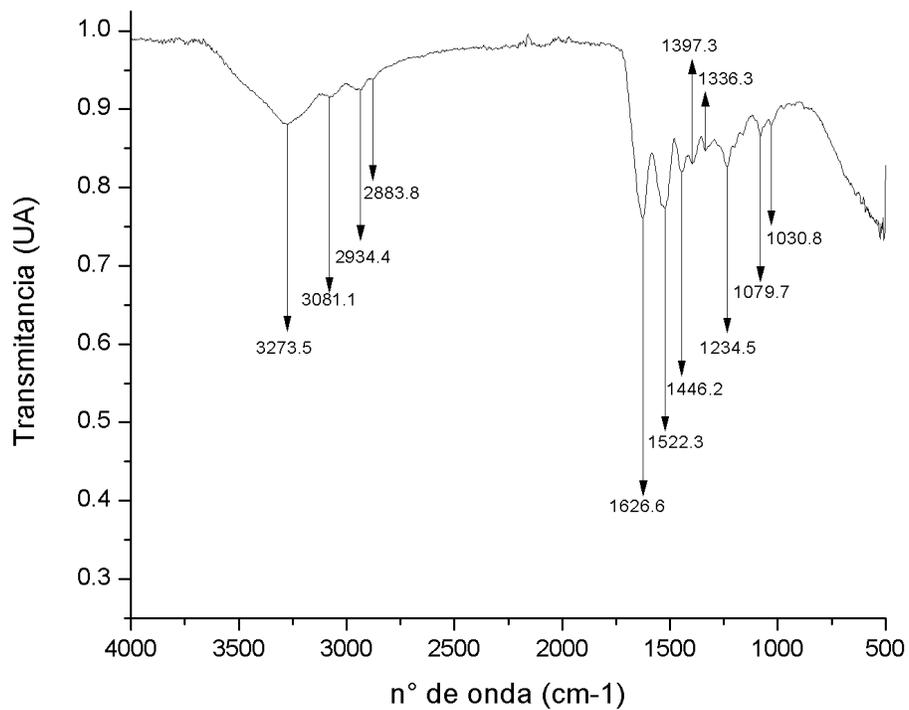


Imagen 63. Espectro de la gelatina granulada marca Talas®. Obtenido del espectrómetro con el equipo Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

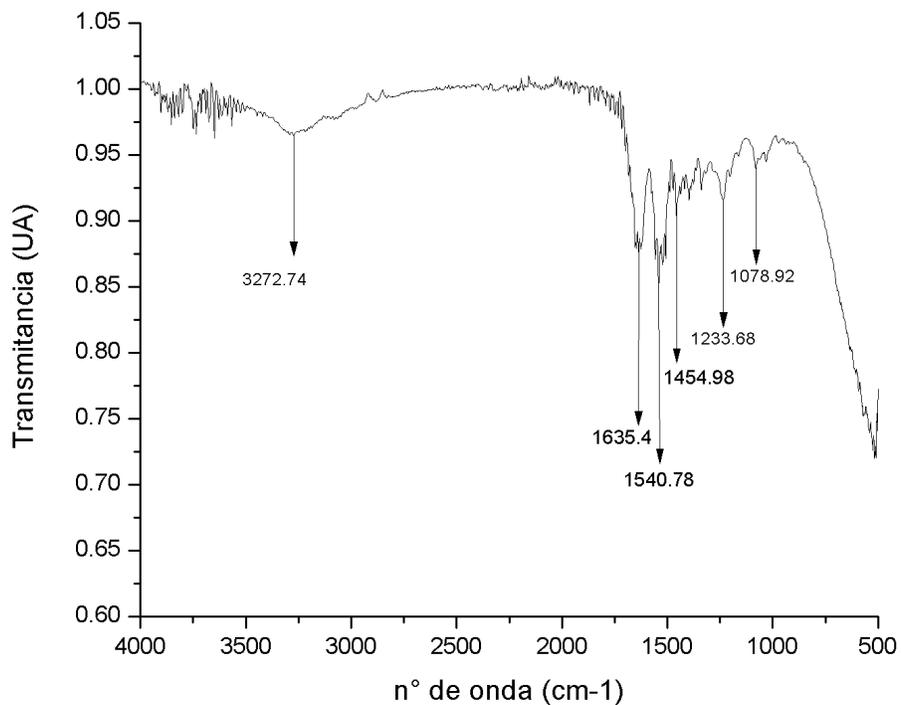


Imagen 64. Espectro de la gelatina marca Talas®, en película. Obtenido del espectrómetro con el equipo Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

En la probeta de referencia se hicieron cuatro mediciones, dos correspondientes a las zonas de luces (blancas) y dos a medios tonos (grises). Al obtenerse picos similares en todos los espectros, a continuación se reporta solamente el referente a uno de ellos (imagen 65). Los picos correspondientes a los enlaces –OH se encontraron a 3,274.3 cm⁻¹, 3,077.1 cm⁻¹ y los –CH a 2,942.4 cm⁻¹ y 2875.8 cm⁻¹. La amina I se encontró a 1,627.4 cm⁻¹, la banda de la amina II presentó nuevamente picos a 1,540 cm⁻¹, 1,532.8 cm⁻¹ y 1,522.4 cm⁻¹, la amina III a 1,447.8 cm⁻¹ y las aminas secundarias a 1,418.9 cm⁻¹, 1,399.7 cm⁻¹ y 1,335.5 cm⁻¹. Otros picos que resaltaron fueron 1,238.5 cm⁻¹, 1,162.3 cm⁻¹ y 1,079.7 cm⁻¹, los cuales como se mencionó están relacionados al papel, así como 1,028.2 cm⁻¹ y 896.1 cm⁻¹, los cuales, junto con la banda de 1,079.7 cm⁻¹, coinciden con el sulfato de bario.

	Nº de onda (cm ⁻¹) obtenido						
Amina I (estiramiento del C=O de la gelatina)	1,627.4						
Amina II (estiramiento de C-N y flexión de N-H de la gelatina)	1,540 ; 1,532.8 ; 1,522.4						
Amina III (flexión del C-H de la gelatina)	1,447.8						
Aminas adicionales	1,418.9 1,399.7 1,335.5						
Barita (estiramiento del SO ₄ ⁻² del sulfato de Ba)	1,079.7 1,028.2 896.1						
Papel (OH y estiramiento de C-O en grupos hidroxilo C-OH)	3,274.3	3,077.1	2,942.4		1,238.5	1,162.3	1,079.7
			2,875.8				

Tabla 14. Picos de referencia obtenidos de la impresión fotográfica antes de la aplicación de los productos

Los espectros correspondientes a las probetas de impresiones fotográficas tratadas con Citricidal® (imagen 68) fueron los que menos variaciones tuvieron con relación al espectro de la fotografía de referencia (imagen 65).

En los espectros de las cuatro probetas tratadas con agua destilada, alcohol etílico, Citricidal® y Éviter® (imágenes 66 a 69 respectivamente), en comparación con los espectros de las tomas preliminares (imagen 65), los dos picos de la amina II ($1,540\text{ cm}^{-1}$ y $1,522\text{ cm}^{-1}$) dejaron de estar presentes de manera individual debido a una superposición de ambos, quedando solamente uno como principal a $1,533\text{ cm}^{-1}$, situación que se dio también con el pico a $1,418\text{ cm}^{-1}$ de las aminas adicionales el cual deja de estar presente en todos los espectros obtenidos posteriormente a la aplicación de los productos (ver tabla 14). Si bien ambos se encuentran en la zona clave de la gelatina no se considera un cambio preocupante pues, además de darse por igual en todas las probetas (y por ende no es representativo de alguno de los productos) el cambio en la intensidad para causar esto fue mínima. Además, de acuerdo con Ali *et al.* (2015, p. 176), en caso de haber hidrólisis de la gelatina, se vería reflejado en un incremento en picos cercanos a $3,400\text{ cm}^{-1}$ y $1,650\text{ cm}^{-1}$ (-OH), debido a un estiramiento o encorvamiento respectivamente de cadenas, situación que no se identificó en ninguno de los casos presentes a los tres meses de la aplicación de ambos biocidas. Además, el incremento en dicho pico de $1,650\text{ cm}^{-1}$, por su cercanía con el de la amina I reflejaría una mayor intensidad en éste último, situación que no se da en el caso presente y por lo tanto se descarta el inicio de un proceso de hidrólisis de la gelatina. Esta ausencia de modificaciones en la gelatina es un buen indicio de la inocuidad de los productos empleados, sin embargo, sería importante que se complementara este análisis con un estudio de los cambios a mediano y largo plazo.

	Mediciones de referencia	Fotografía con agua destilada	Fotografía con alcohol etílico	Fotografía con Citricidal®	Fotografía con Éviter®
- OH	3274.3	3292.8	3282.4	3292.0	3292.8
- CH	3077.1	3079.5	3080.3	3079.7	
	2942.4	2943.2	2932.8	2928.0	2920.7
	2875.8	2875.0	2875.0	2875.8	2852.6
Amina I	1627.4	1629.0	1628.2	1629.0	1632.2
Amina II	1540.8	1533.6	1534.4	1533.6	1537.6
	1522.4				
Amina III	1447.8	1449.4	1449.4	1448.6	1451.8
Aminas adicionales	1418.9				
	1399.7	1403.7	1402.9	1402.1	1401.3
	1335.5	1334.7	1334.7	1334.7	1334.7
- CO	1238.5	1239.3	1238.5	1238.5	1238.5
	1162.3	1163.9	1161.5	1162.3	1161.5
	1079.7	1079.3	1078.9	1079.7	1081.3
SO4	1029.2	1030.0	1030.8	1030.8	1030.8
	976.3	974.7	974.7	974.7	974.0
	896.1				

Tabla 15. Tabla comparativa de los picos obtenidos.

Además de las modificaciones en los picos ya mencionados, los espectros obtenidos posteriormente a la aplicación de los biocidas no presentaron grandes diferencias con relación a las muestras patrón. El espectro correspondiente con la probeta de fotografía tratada con Citricidal® (imagen 68) fue el que presentó menores cambios, siendo éstos solamente relativos a la intensidad de los picos registrados, los cuales siguen correspondiendo con los de la fotografía de referencia; es decir,

Por su parte, los espectros obtenidos de la probeta tratada con Éviter® sí presentaron cambios más notorios (imagen 69). En general la intensidad de todos los picos disminuyó y las frecuencias correspondientes a la gelatina y al sulfato de bario mantuvieron una relación con las frecuencias de las bandas de la fotografía de referencia. Sin embargo, en la zona correspondiente a los enlaces –CH salta un cambio en los picos ubicados a $2,922,2 \text{ cm}^{-1}$ y $2,852.2 \text{ cm}^{-1}$, enmarcados en rojo (imagen 67), los cuales son más angostos que los de las mediciones de referencia (imagen 65). Estos dos últimos parecen tener correspondencia con las bandas detectadas en el espectro del Éviter® puro a $2,975.3 \text{ cm}^{-1}$, $2,975.3 \text{ cm}^{-1}$ y $2,897.5 \text{ cm}^{-1}$ (imagen 70) las cuáles, aunque

ligeramente desplazadas presentan una forma similar, lo cual podría estar relacionado con una permanencia del producto en la superficie; esta hipótesis se refuerza más adelante con los resultados del MEB (ver siguiente apartado). Así mismo, hasta la derecha del espectro de la fotografía tratada con Éviter® se pueden observar dos picos, enmarcados en verde en la imagen 62, a 721.4 cm^{-1} y 701.1 cm^{-1} , que no se relacionan con ninguno de los materiales analizados. Una investigación más puntual sería útil para determinar los compuestos de este producto y su concentración y así poder descartar su interacción con la gelatina y alteraciones en los grupos funcionales (como podría suponerse a partir de los picos enmarcados en el recuadro verde de la imagen 69).

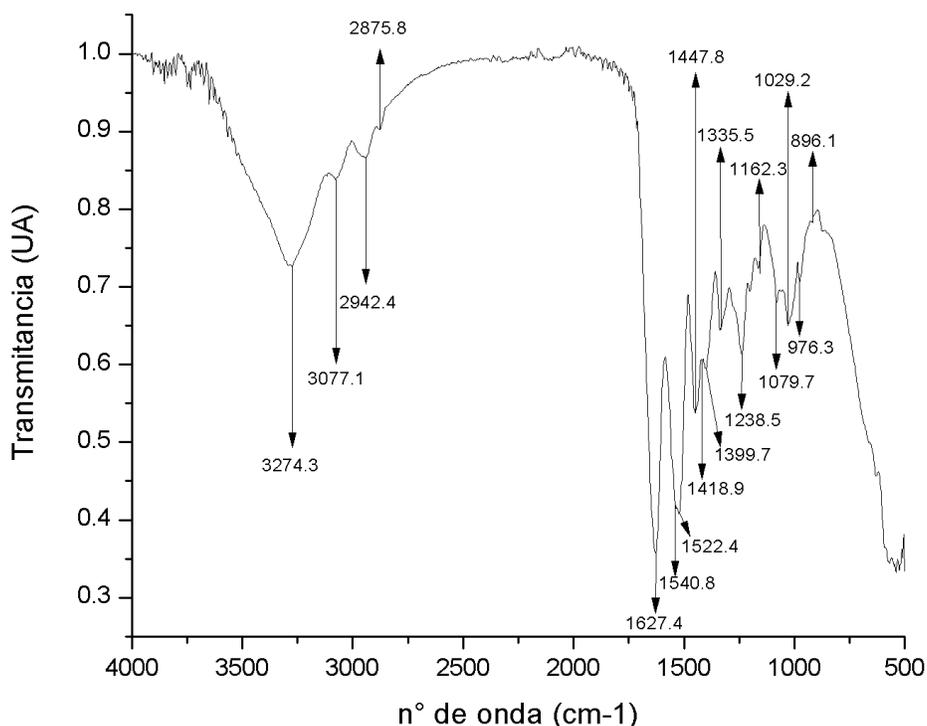


Imagen 65. Gráfica de espectro FTIR-ATR obtenido en la zona clara de la muestra de impresión fotográfica de referencia. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

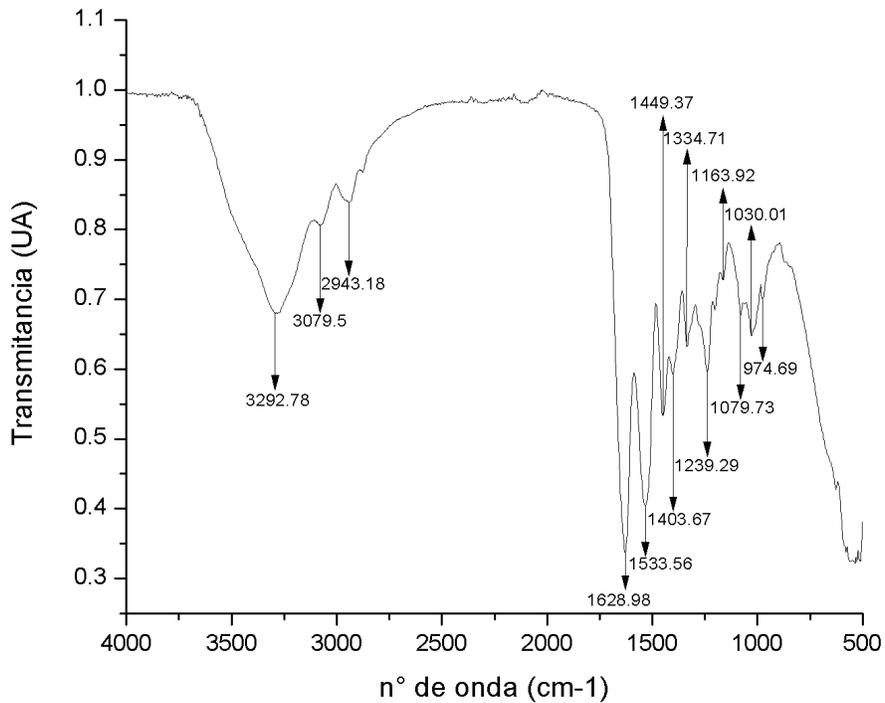


Imagen 66. Gráfica del espectro FTIR-ATR obtenido en la zona blanca de la fotografía tratada con agua destilada. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC – INAH.

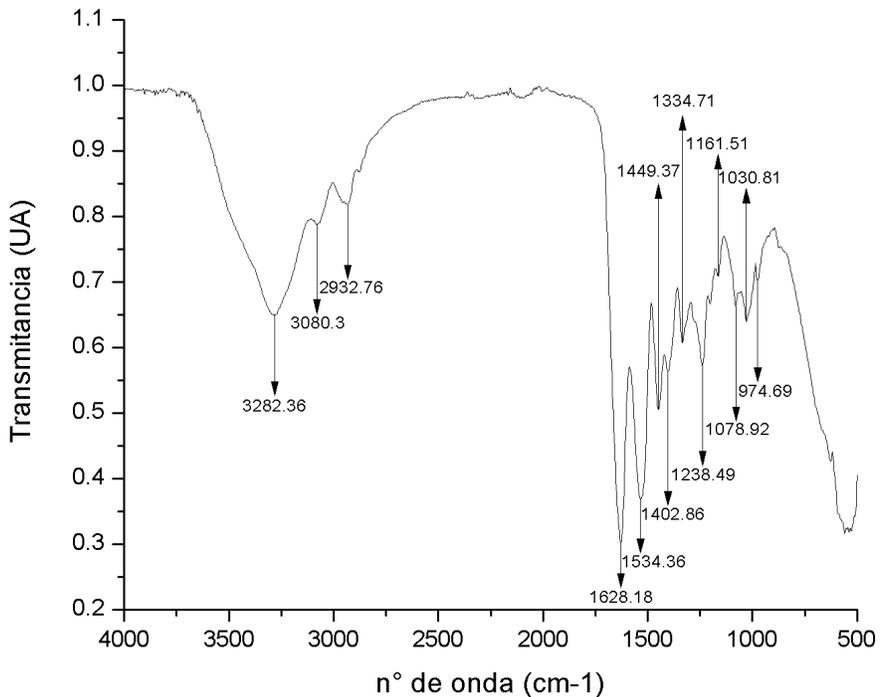


Imagen 67. Gráfica del espectro FTIR-ATR obtenido en la zona blanca de la fotografía tratada con alcohol etílico. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

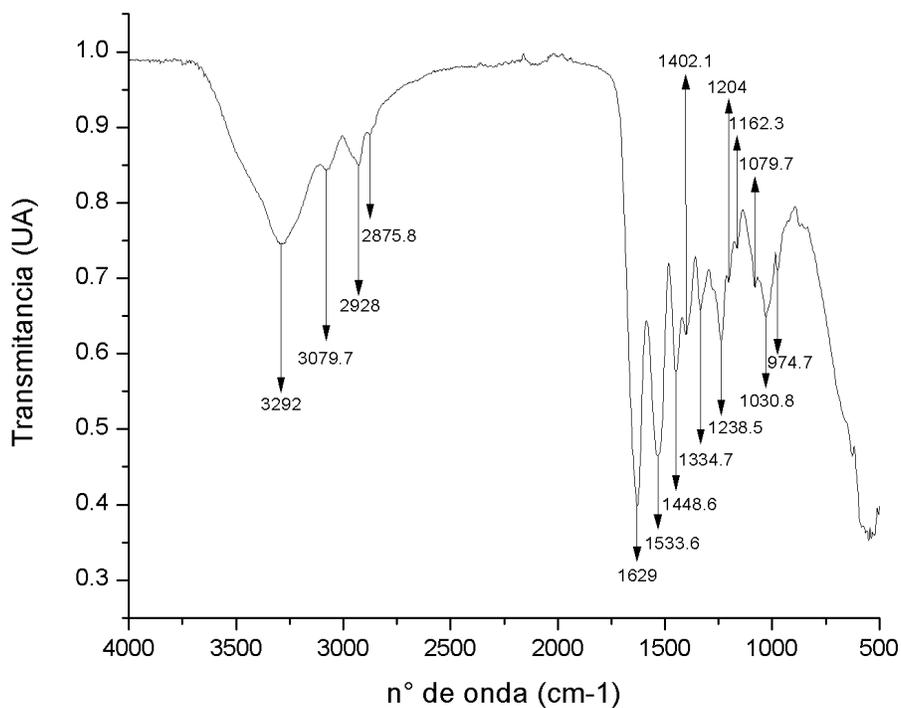


Imagen 68. Gráfica del espectro FTIR-ATR obtenido en la zona blanca de la fotografía tratada con Citricidal® al 2% en agua destilada. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

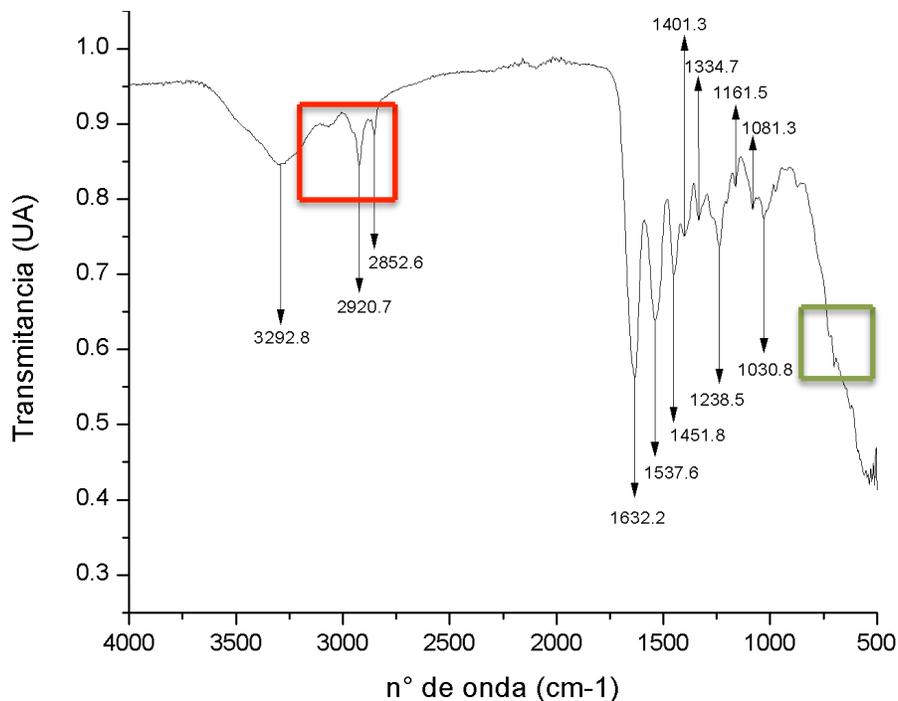


Imagen 69. Gráfica del espectro FITR-ATR obtenido en la zona blanca de la fotografía tratada con Éviter®. En rojo están enmarcados los picos que se modificaron y en verde los que no aparecían en el espectro de referencia. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

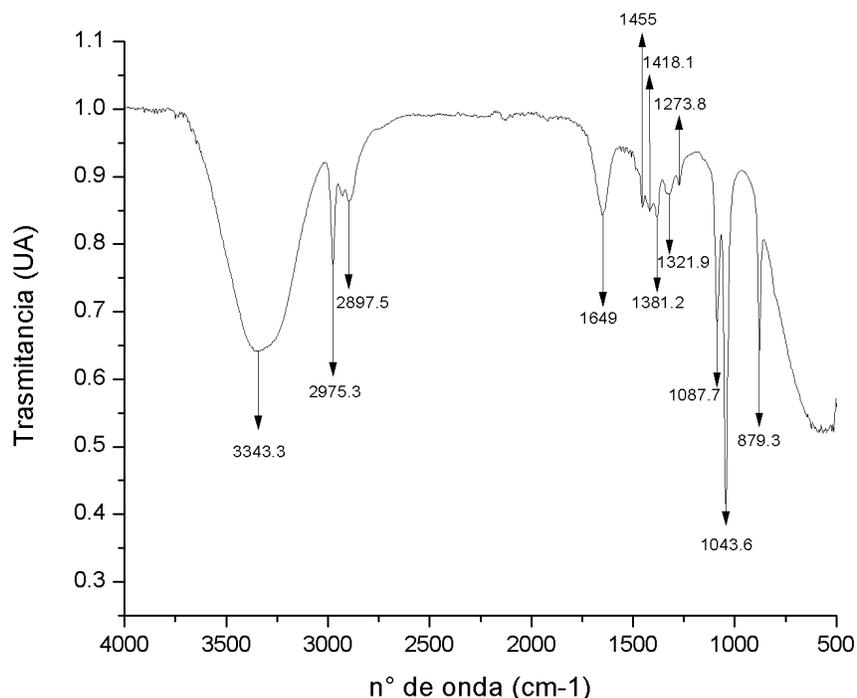


Imagen 70. Gráfica de espectro del Éviter®. Obtenido con el espectrómetro Alpha II marca Bruker del laboratorio CODICE de la CNCPC - INAH.

4.2. Evaluación de cambios elementales: Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido es un método de análisis que se basa en la interacción de una muestra con un haz de electrones. Ésta requiere que el material a estudiar, o muestra del mismo, sea de un tamaño tal que pueda ser ingresada a la cámara de vacío en la que se lleva a cabo la irradiación electrónica. Estos, al chocar con una muestra conductora, permiten hacer un mapeo de la imagen y así analizar su superficie, y permite identificar la composición elemental de la muestra (Vázquez Nin & Echeverría, 2000, p. 93). De no ser conductora la muestra debe ser recubierta con oro o grafito para poder llevar a cabo el procedimiento de análisis topográfico.

En el caso presente, si bien la gelatina no es conductora, recubrir la muestra hubiera implicado una alteración mayor de ésta que no permitiría un estudio comparativo del estado de la plata antes y después de la aplicación de los productos, el cual era uno de los objetivos principales. Además, considerando la naturaleza metálica de la plata que conforma la imagen fotográfica se decidió que se podía llevar a cabo este análisis para, además, obtener un mapeo elemental de la composición de la fotografía y una vez realizadas las aplicaciones comprobar o rechazar la hipótesis de posibles residuos del producto en la imagen, hipótesis principalmente enfocada a la determinación del tipo de residuos del Éviter® pues al tratarse de una suspensión nanométrica es evidente la presencia de un cierto porcentaje de sólidos (ver Anexos).

Objetivos del análisis

Mediante el análisis con microscopía electrónica de barrido se busca identificar la composición elemental de los componentes de la imagen e identificar cambios en dicha composición posteriormente a la aplicación de los biocidas.

Metodología de análisis

Este análisis se realizó en la Subdirección de Laboratorios del INAH con el apoyo del Ing. Mario R. Monroy Escamilla, usando un microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV acoplado a un sistema de espectroscopía por dispersión de energía de rayos X (EDS o *Energy Dispersive Spectroscopy*) marca Oxford Instruments, modelo INCAx-sight. Debido a que una misma impresión iba a ser dividida en dos para que cada mitad fuera tratada con un producto distinto, se tomó una muestra de aproximadamente 1.5 x 1.5 cm de lado en la que estuviera la zona más oscura de la imagen (correspondiente al cuello de la túnica del retratado) (imagen 71).

Muestra 1			Muestra 2	
	Zona 1 ⁴⁵	Zona 2 ⁴⁶	Zona 1	Zona 2
Mediciones preliminares	Toma de imágenes y análisis elemental	Toma de imágenes y análisis elemental Mapeo de elementos	No resultaron necesarias	No resultaron necesarias
Mediciones posteriores a las aplicaciones	Toma de imágenes y análisis elemental	Toma de imágenes y análisis elemental Mapeo de elementos	Toma de imágenes y análisis elemental	Toma de imágenes y análisis elemental Mapeo de elementos

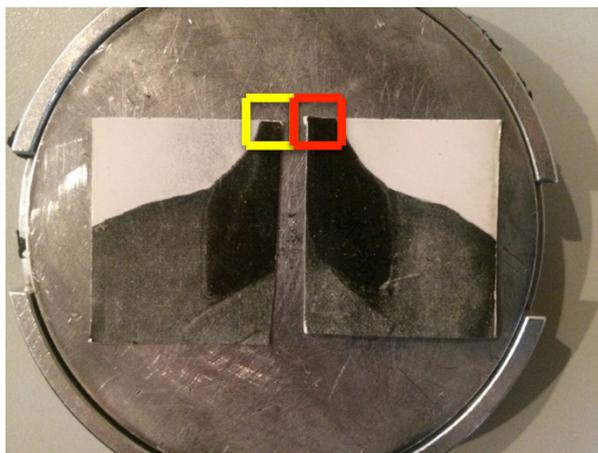


Imagen 71. Muestras de la probeta de impresión fotográfica para su colocación en la cámara de vacío del MEB. Enmarcado en amarillo: zonas de referencia negra (zona 1) y de transición entre la zona blanca y la negra (zona 2) de la muestra 1. Enmarcado en rojo: zona de referencia de la muestra 2 (sólo negro).

Análisis de resultados

- Composición elemental

Como se esperaba, en el análisis elemental preliminar realizado en la muestra 1 antes de la aplicación de los biocidas (imagen 72) se encontró un alto contenido de plata (Ag) y bario (Ba), elementos constituyentes de la imagen y de la barita (sulfato de bario), respectivamente. Así mismo se detectó presencia de azufre (S). Esto se puede deber a la presencia de la barita, cuya composición ya mencionamos es sulfato de bario, y al

⁴⁵ Zona oscura (con mayor concentración de plata)

⁴⁶ Área de transición entre la zona clara (menor concentración de plata) y la oscura.

posible residual de fijador. Finalmente hay una gran presencia de carbono (C). Éste, junto con el oxígeno (O), pueden deberse a la presencia de gelatina en el estrato registrado, pues en términos generales de los elementos que la componen, tiene aproximadamente un 50% de C y un 25% de O (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012, p. 6).

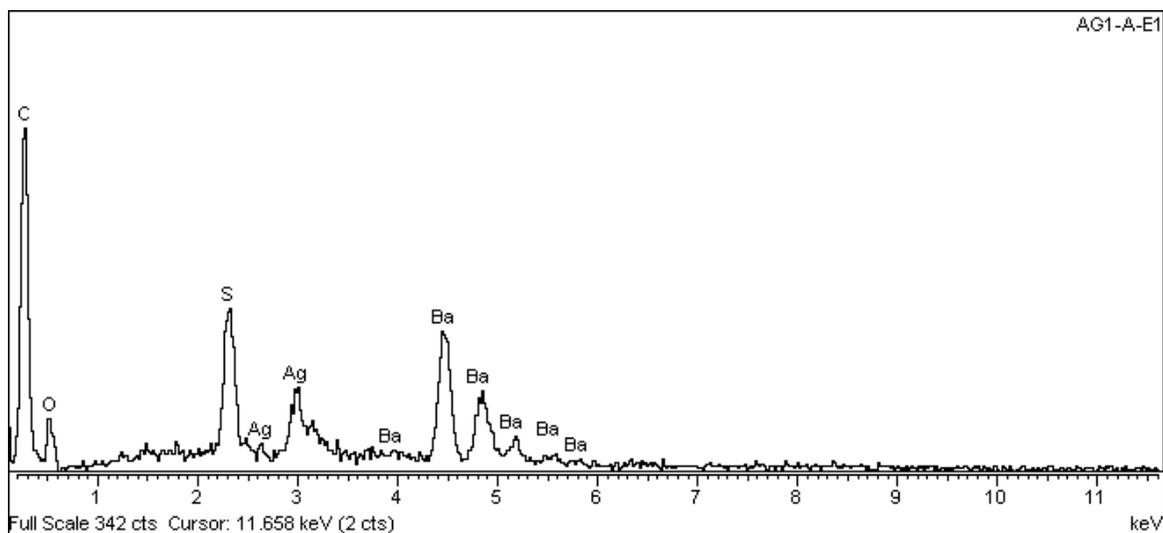


Imagen 72. Espectro de referencia de la composición elemental de la fotografía. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

Valores de los elementos identificados (muestra patrón)						
Código de espectro	C	O	S	Ag	Ba	Total
AG1-A-E1	58.55	13.83	4.45	4.56	18.62	100

Tabla 16. Elementos identificados en la muestra de referencia.

El análisis de la muestra con Éviter® (imagen 73) desplegó, además de los elementos obtenidos en la toma preliminar (Ag, Ba, S, C y O), algunos picos correspondientes al cloro (Cl) y al aluminio (Al).

Es importante mencionar que en esta muestra específica, originalmente apareció titanio (Ti). Al momento de realizar el mapeo elemental, se desconocía aún que el Éviter® en su composición contiene titanio, razón por la cual en ese momento se atribuyó a una confusión con el pico del bario pues ambos presentan energías de detección similares, siendo el pico principal del bario de 4.47 keV y el del titanio de 4.51 keV (zona marcada en rojo en la imagen 73; ver base de datos de GUPIX en Anexos), razón por la cual se

decidió inicialmente eliminarlo del análisis. Sin embargo gracias a la patente se sabe que el Éviter® contiene titanio nanoparticulado a partir de lo cual podemos inferir que muy probablemente también esté presente.⁴⁷

En la patente del producto se menciona que a la base de dióxido de titanio y extractos naturales nanoparticulados “se le adsorben grupos funcionales orgánicos, radicales inorgánicos y extractos de plantas”, y específicamente mencionan:

“los grupos funcionales pueden incluir hidroxilo, carboxilo, amina sulfato, fosfato y los soportes pueden ser de dióxido de titanio, sílice, zirconia, óxido de zinc, alúmina y otros óxidos metálicos sin quedar restringido a estos grupos funcionales, extractos o soportes” (World Intellectual Property Organization, 2014).

Gracias a esta referencia de la patente podemos corroborar la presencia de cloro y aluminio en el espectro; además, como veremos más adelante, en la realización del mapeo también se detectaron silicio (Si), calcio (Ca). Considerando que el cloro tiene propiedades antimicrobianas (Harrison *et al.*, 1990, p. 328) resulta lógico que esté en la composición del Nbelyax®.

⁴⁷ La patente del Éviter® se consiguió después de llevar a cabo los análisis, razón por la cual no se tuvo en consideración previamente.

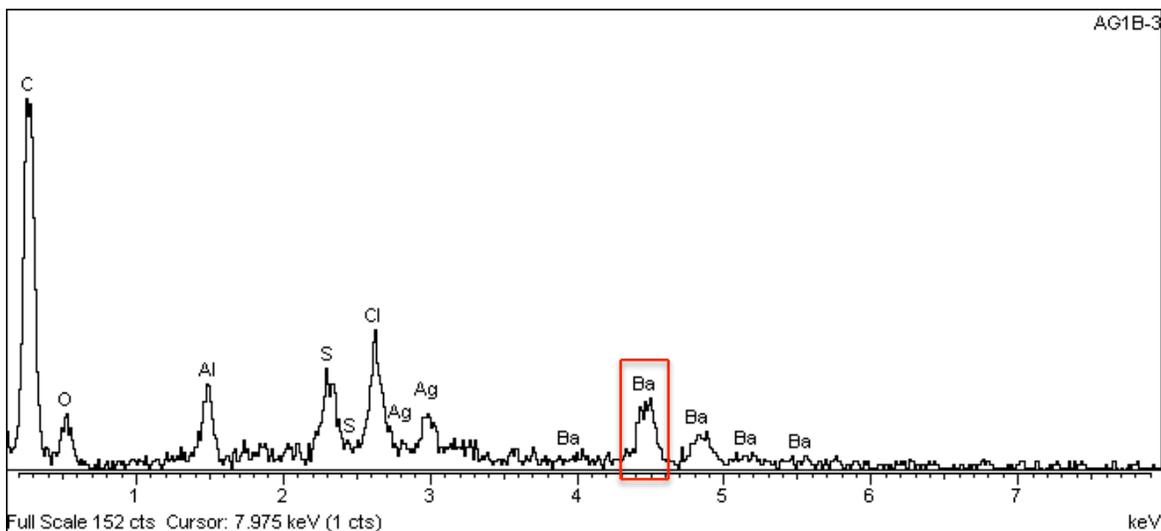


Imagen 73. Espectro de la composición elemental de la fotografía tratada con Éviter®. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

Valores de los elementos identificados (Éviter®)										
Código de espectro	C	O	Al	Si	S	Cl	Ca	Ag	Ba	Total
AG1-B-3	68.21	11.44	2.2	-	2.16	3.14	-	3.77	9.07	100

Tabla 17. Elementos identificados en la muestra con Éviter®

Finalmente en el análisis realizado en la muestra con Citricidal® (imagen 74) se obtuvieron los mismos elementos que en la muestra inicial (C, O, S, Ag y Ba) con la única diferencia de presentar aluminio. En el caso de este elemento se podría adjudicar su presencia a una confusión de los picos, pues el Al se encuentra a 1.487 keV, mientras que el Br, elemento normal en las fotografías, se encuentra a 1.481 keV (ver base de datos de GUPIX en Anexos). Aunque, como se ve en la imagen 77, su presencia tan homogénea y tan importante nos indica que el Citricidal® puede contener Al como parte de su composición. Sería útil realizar un análisis específico al Citricidal® que permita el descarte o comprobación de partículas inorgánicas en su composición.

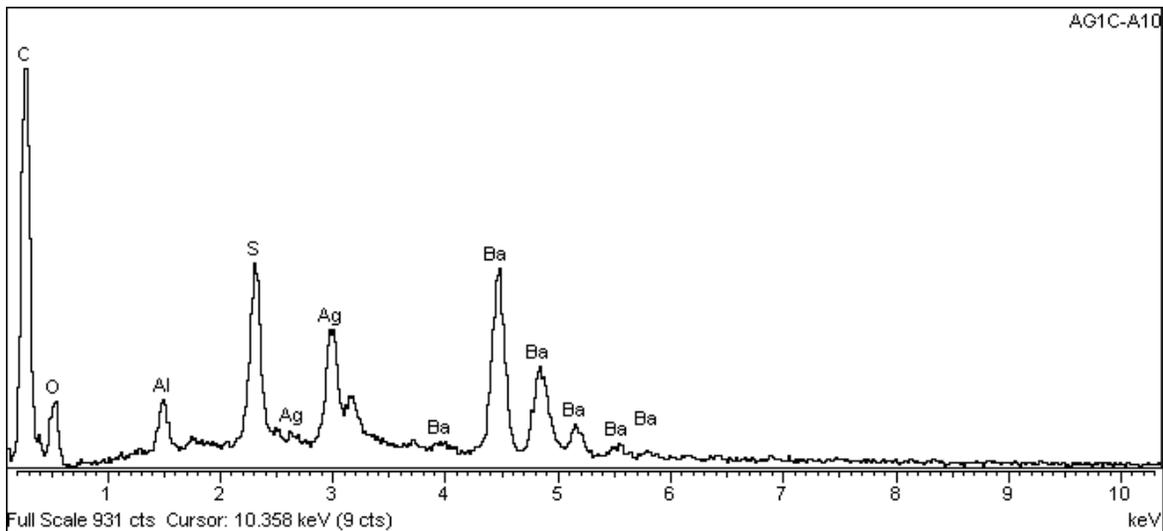


Imagen 74. Espectro de la composición elemental de la fotografía tratada con Citricidal®. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

Valores de los elementos identificados (Citricidal®)										
Código de espectro	C	O	Mg	Al	Si	S	Ca	Ag	Ba	Total
AG1-C-10	56.34	11.72	-	1.43	-	4.07	-	7.29	19.15	100

Tabla 18. Elementos identificados en la muestra con Citricidal®

Como se ha dicho en otros apartados, conocer la composición de los productos empleados para la restauración de obras es muy importante. En el caso presente, a partir de los resultados obtenidos se concluyó que sería de utilidad realizar un análisis en una muestra de Éviter® puro, pues hubiera servido como referencia para los valores obtenidos en las muestras de la fotografía tratada con este producto.

- Mapeos elementales

Muestra patrón

Además de los análisis elementales representados en las gráficas anteriores se realizó el mapeo de los elementos presentes en el área de transición entre el fondo blanco y el área oscura del cuello, con el fin de identificar el patrón de la plata en dicha zona y,

tentativamente, identificar el de otros elementos presentes que pudieran estar relacionados con ésta.

La toma de referencia se realizó a 200X durante 770 segundos. En la imagen electrónica 1 (la de mayor tamaño del conjunto imagen 75) puede notarse una mayor cantidad de plata (área más clara) en el borde derecho de la imagen, mientras que en el borde izquierdo hay una mayor cantidad de gris, lo cual indica menos plata.

Además de la plata cuya distribución es ligeramente menos concentrada en la esquina superior izquierda, el resto de los elementos obtenidos en las imágenes (carbono – $CKa1_2$ –, oxígeno – $OKa1$ –, azufre – $SKa1$ – y bario – $BaKa1$ –, todos en la imagen 75) tuvieron una presencia homogénea. Otro elemento detectado fue bromo (Br), el cual tiene un patrón similar a la plata ($BrKa1$, imagen 75): hay una mayor cantidad de Br en la esquina inferior derecha, correspondiente a la zona con mayor cantidad de Ag, mientras que la esquina superior izquierda coincide con el área más clara y una menor cantidad de Br en la imagen. Esto puede explicarse a partir del revelado y fijado de las imágenes fotográficas: durante el revelado las sales de plata (generalmente bromuros o cloruros de plata), compuestos insolubles, se disocian para formar plata metálica y compuestos solubles en agua susceptibles de ser eliminados durante el fijado y el enjuague. No obstante algunas de esas sales permanecen insolubles y quedan en el aglutinante (Eaton, 1987, p. 79).

Muestra patrón (11 de julio 2017)

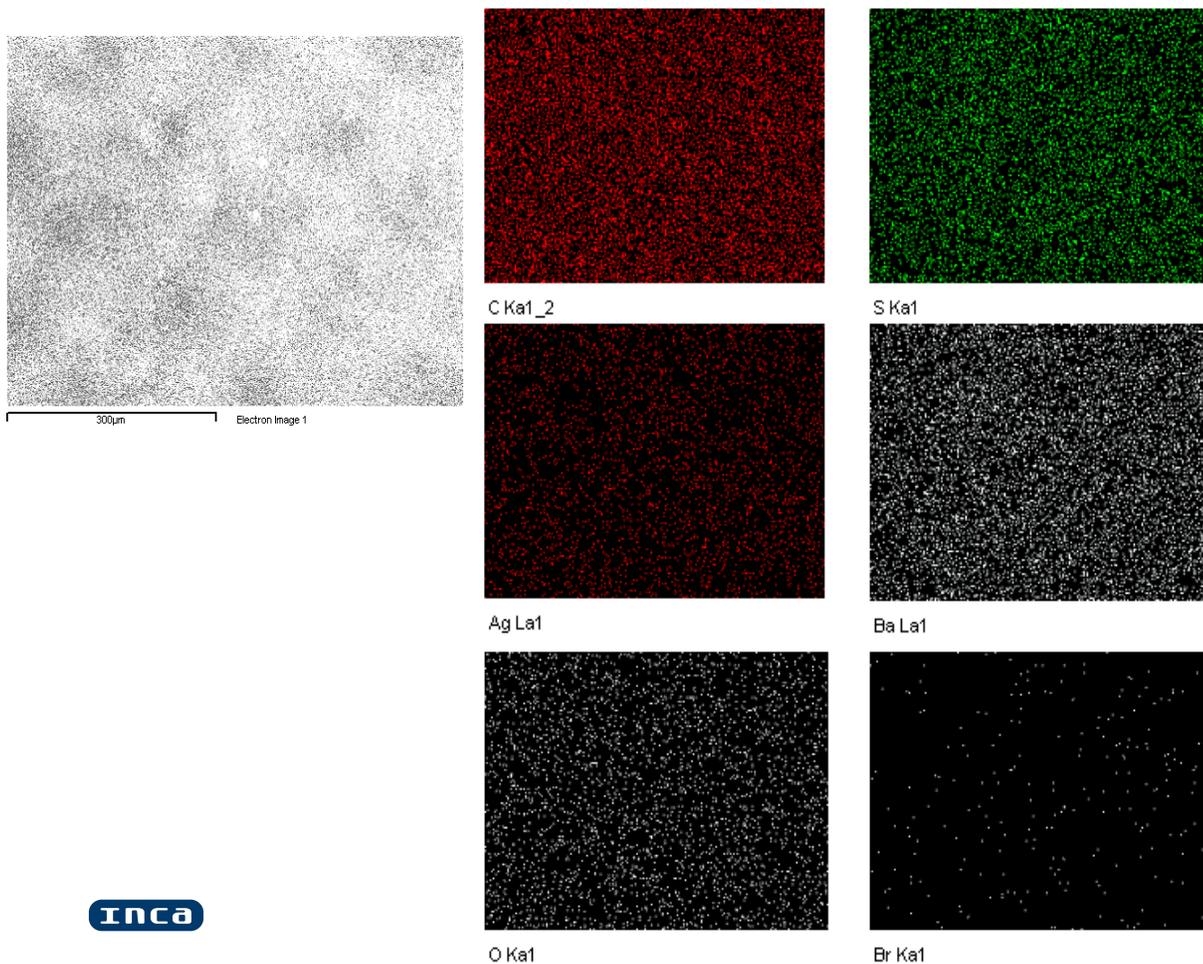


Imagen 75. Imágenes electrónicas. A la izquierda: imagen general. Al centro y a la derecha: imágenes del mapeo de cada elemento detectado, para tener una referencia previa a la aplicación de los productos. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV acoplado con EDS, de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

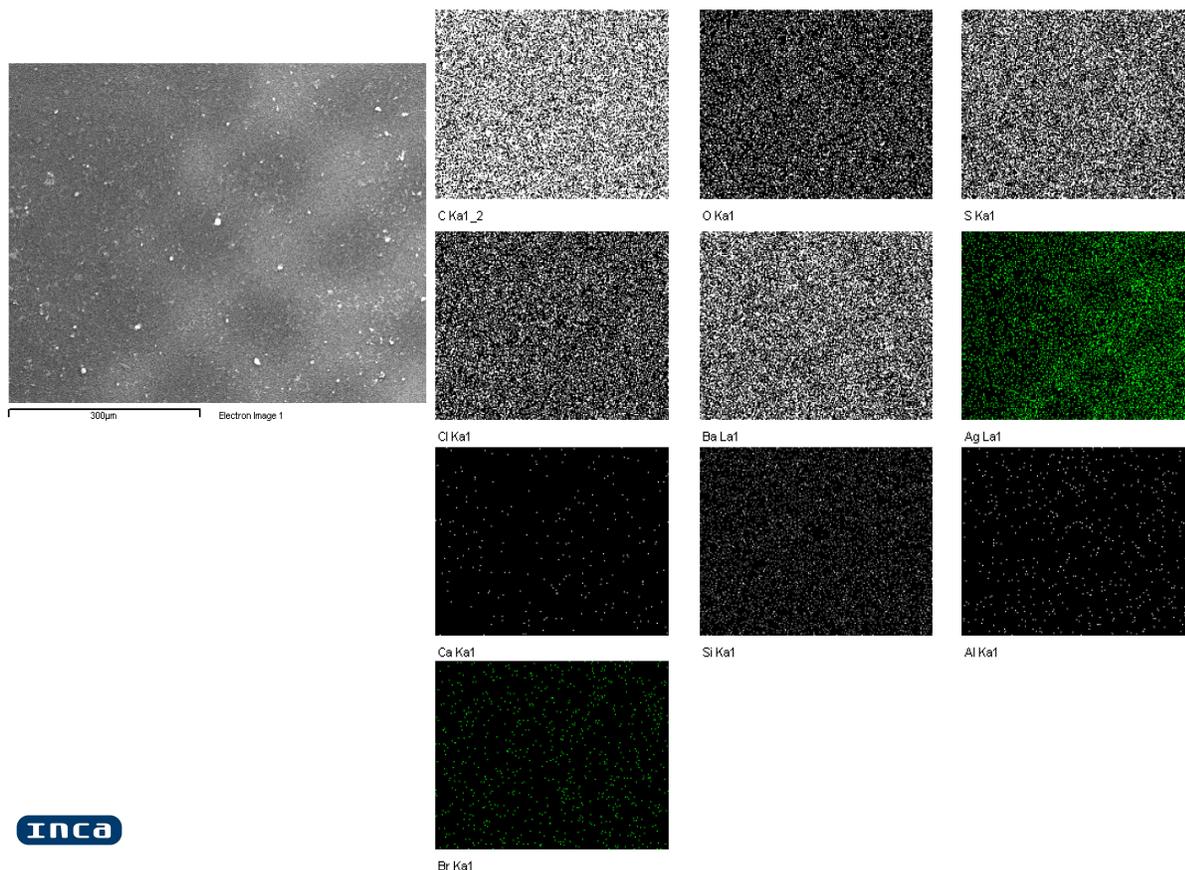
Muestra con Éviter®

El mapeo de esta muestra se realizó a 50X durante 826 segundos. Una confusión que se generó durante la realización del mapeo elemental fue a raíz de la proximidad del pico principal del aluminio y uno de los secundarios del bromo (Br), los cuales colindan entre sí y generan confusión en la información y así mismo el titanio originalmente se descartó tras la confusión de picos con el bario.

Como se vio en el análisis elemental (ver imagen 73 y tabla 16), se identificaron C, O, S, Ag, Al, Ba y Cl. Sin embargo, el mapeo elemental, al realizarse en una zona más amplia, tiene un mayor rango de detección de los elementos presentes, gracias al cual se determinaron también Br, Ca y Si. Nuevamente es interesante comparar los patrones de distribución generados para cada elemento, con el patrón de la imagen electrónica general (imagen de mayor tamaño en el conjunto "imagen 76"). En la imagen general podemos notar que en la parte superior izquierda hay una menor cantidad de plata (evidenciada por ser una zona más oscura), mientras que en la inferior derecha hay más (zona más clara); además, debido al poco aumento de la toma (30X) es evidente el patrón de impresión de la imagen fotográfica y es posible apreciar el contraste entre las zonas con mayor y menor densidad de plata, facilitando la revisión de las imágenes.

Nuevamente la mayoría de los elementos (C, O, S, Cl, Ba, y Si) presentan una distribución homogénea en el área analizada. Por su parte, los elementos Ca, Al y Br parecen coincidir con el patrón de la Ag, estando el Br, como ya se mencionó, relacionado a las sales de plata empleadas para la fotografía; por su parte, la presencia de Ca y Al, así como el patrón de distribución que presentan pueden estar relacionados con la composición del producto y las diferentes concentraciones causadas por el método de aplicación. En el escaneo de la muestra se obtuvieron también plomo (Pb) y wolframio (W), sin embargo debido a la mínima cantidad en que se encontraban se consideró ruido en el análisis.

Muestra con Éviter® (7 de nov. 2017)



Inca

Imagen 76. Imágenes electrónicas del mapeo elemental, obtenidas de la muestra tratada con Éviter®. A la izquierda: imagen general. Centro y derecha: imágenes del mapeo de cada elemento detectado por el microscopio. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV acoplado con EDS, de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

Muestra con Citricidal®

En la muestra tratada con Citricidal® la toma se realizó nuevamente a 200X. Aunque en la imagen electrónica general no se aprecie claramente, el patrón de la plata resulta evidente en la imagen característica a este elemento (imagen AgLa1, del conjunto “imagen 77”), presentando una mayor cantidad en el borde izquierdo (evidente por una mayor concentración color verde) que en el derecho. Nuevamente los elementos C, O, S y Ba, al igual que en el mapeo de referencia, tuvieron una dispersión homogénea en la superficie. Como se esperaba a partir de la gráfica de elementos se obtuvo Al, el cual

parece corresponder ligeramente con el patrón de la plata, con una ligera menor concentración en la esquina superior derecha. Por su parte se obtuvieron nuevos elementos no detectados en la gráfica: calcio (Ca), magnesio (Mg) y Si, en cantidades menores.

Muestra con Citricidal® (14 de nov. 2017)

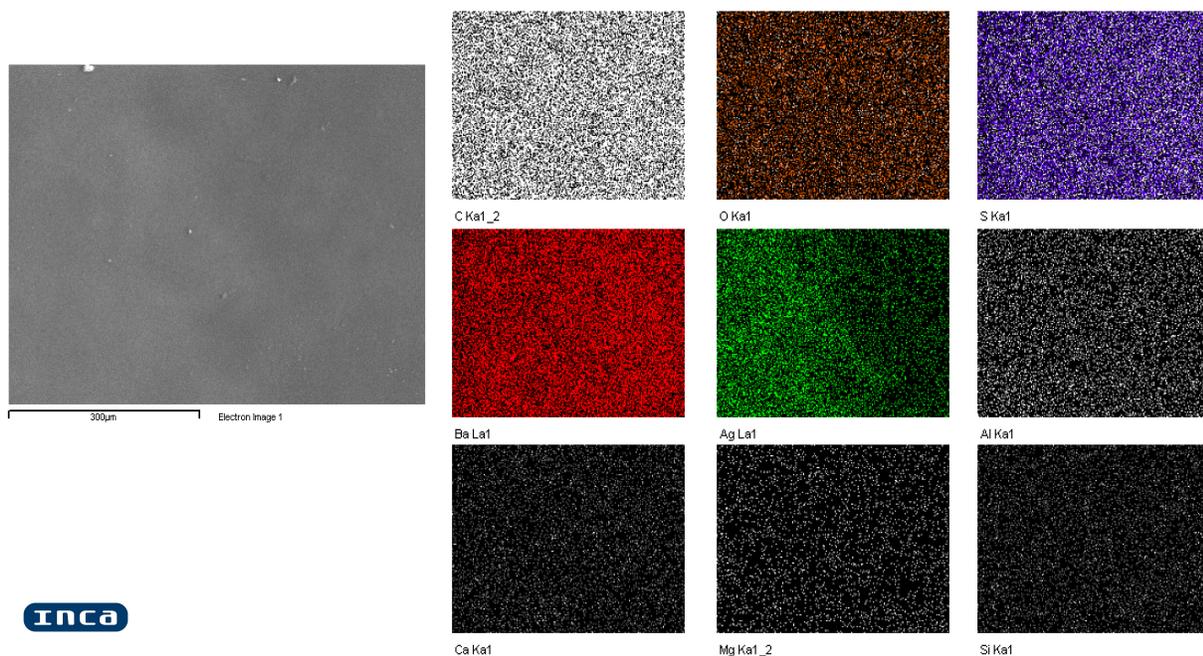


Imagen 77. Imágenes electrónica del mapeo elemental obtenidas de la probeta tratada con Citricidal. A la izquierda: imagen general. Centro y derecha: imágenes del mapeo de cada elemento detectado por el microscopio. Obtenido en el microscopio electrónico de barrido marca Jeol, modelo JSM-6460LV acoplado con EDS, de la Subdirección de Laboratorios del INAH.

A partir de las gráficas y los mapeos elementales, la detección de nuevos elementos evidencia que, al menos a corto plazo, el Éviter® y el Citricidal® dejan residuos en la superficie fotográfica. Es importante mencionar que en el caso de la probeta con Éviter® los nuevos elementos detectados coinciden con algunos de los mencionados en la patente; hay elementos mencionados en dicha patente que no fueron detectados por el equipo, lo cual podría deberse a la mínima cantidad contenida, a la inexistencia de estos en este producto específico (Sanitizante de Uso Directo)⁴⁸ o a una mayor volatilidad de

⁴⁸ En la patente se menciona que “puede contener”, lo cual no implica que contenga todos los compuestos enlistados.

éstos. Esto refuerza la necesidad de realizar análisis más precisos con relación a la composición de la formulación de Éviter® empleada en restauración, pues es también probable que las diferentes formulaciones, dependiendo del uso para el que estén desarrolladas, tengan una variabilidad en su composición.

Igualmente sería importante evaluar el tiempo de permanencia de ambos productos en la superficie de los materiales y los efectos que pudieran tener a largo plazo al interactuar con los materiales y el ambiente.

4.3. Evaluación de cambios cromáticos: Colorimetría

La colorimetría permite la medición exacta y objetiva de un color en un sistema determinado. En el caso presente nos basamos en el sistema de coordenadas $L^* a^* b^*$, con el cual podemos medir tres parámetros principales: la luminosidad (L^*) o escala blanco – negro, la escala verde – rojo (a^*) y la escala azul – amarillo (b^*) (Nassau, 1998, p. 56) (imagen 78). Esta escala fue determinada en 1976 por la CIE (por sus siglas en francés, *Commission Nationale de l'Éclairage*), comisión que por décadas se ha encargado de regular cuestiones relativas a la iluminación, al color y sus mediciones (Nassau, 1998, p. 36). Así mismo con este método se puede medir la saturación (C^*_{ab}) y el tono (h^*_{ab}) de los colores mediante algunos cálculos que involucran los valores de a^* y b^* (Nassau, 1998, p. 59). En el caso presente, estos datos (L^* , a^* , b^* , C^* y h^*) se obtuvieron directamente con el espectrofotómetro empleado.

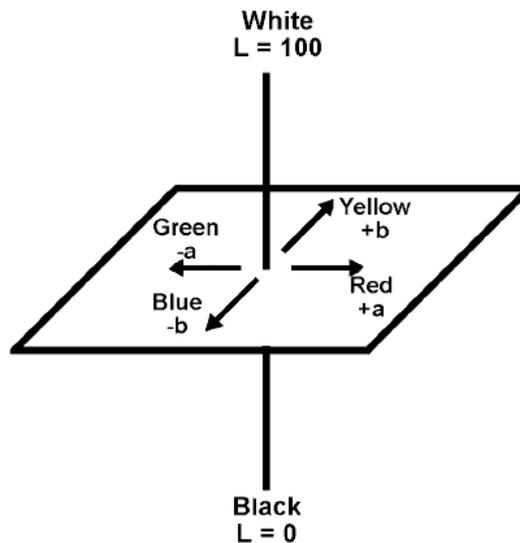


Imagen 78. Diagrama de medición CIE $L^*a^*b^*$ (HunterLab, 2008, p. 1)

En el campo de la conservación de bienes muebles la importancia de este método radica en la posibilidad de identificar cambios cromáticos en los objetos a partir de la medición de estos valores a través del tiempo (ej. evaluar alteraciones por exposición a la luz, el calor o envejecimiento natural) o su medición antes y después de algún tratamiento de restauración para identificar cambios a raíz de los materiales empleados.

Considerar los cambios visuales a partir de cualquier tratamiento de restauración es fundamental, pues una variación de tono, saturación del color, de brillo, etc., podría implicar la pérdida de algunos detalles o alterar la apreciación de la imagen.

Tras considerar que el Citricidal® tiene una coloración ámbar y que el Éviter® al agitarlo y dispersar las partículas contenidas toma un color ligeramente lechoso, se formuló la hipótesis de una posible repercusión de éstos en el color de la imagen fotográfica por lo cual monitorearlo se consideró una prioridad.

Objetivos del análisis

Para este caso, dadas las características de color de los productos empleados, se infirió que éstos podrían tener un efecto en los tonos de las fotografías. Así, el objetivo de los análisis con espectrofotómetro es determinar las posibles variaciones en tono o luminosidad de las impresiones, a partir de la comparación de mediciones previas y posteriores a su aplicación.

Metodología de análisis

El análisis colorimétrico se realizó con un espectrofotómetro de contacto marca Konica Minolta modelo CM-2500d, específico para superficies opacas, en el laboratorio de físico-química de la ENCRYM, con el mismo objetivo comparativo previo y posterior al tratamiento.

Para asegurar que todas las tomas se realizaran exactamente en los mismos puntos, se hizo una plantilla en acetato en la cual, tras determinar las áreas a monitorear, se cortaron ventanas de 1 x 1 cm (ubicados dentro de los recuadros rojos de la imagen 79). Las áreas mencionadas responden a una por tono: una blanca, en el fondo de la imagen, una gris en la vestimenta del personaje retratado y una gris oscuro en el cuello de dicha vestimenta. Cada medición se realizó por duplicado para asegurar la correcta lectura del equipo. Los datos se analizaron primero con el programa Color Data Software Spectra Magic NX® y posteriormente se procesaron en Microsoft Excel®.



Imagen 79. Plantilla con ventanas para las mediciones colorimétricas.

Posteriormente a las aplicaciones de agua destilada, alcohol etílico, Éviter® y Citricidal® al 2% en agua destilada, se procedió a realizar nuevas tomas en las impresiones usadas para las pruebas. Gracias a que las dos impresiones eran exactamente iguales se pudo usar la misma plantilla para ambas.

Análisis de resultados

En las mismas condiciones de humedad y temperatura ambiental, las impresiones tratadas con agua destilada y con Citricidal® diluido en agua destilada tardaron más en secar que aquellas tratadas con etanol y Éviter®, debido a la mayor volatilidad de estos dos últimos. El agua destilada penetró en el aglutinante y fue evidente a simple vista el hinchamiento de la gelatina siguiendo el patrón de las gotas en la superficie del aglutinante; pese a lo pequeñas de las gotas generadas por el aspersor, inevitablemente se produjeron zonas con acumulación del producto, resultando en gotas más grandes y por lo tanto con un mayor contacto con la superficie (imagen 80). No obstante a esto, no

hubo mayores cambios en el brillo de las impresiones, situación que se esperaba debido al *ferrotyping*, salvo en la fotografía tratada con Éviter®, como se verá más adelante.

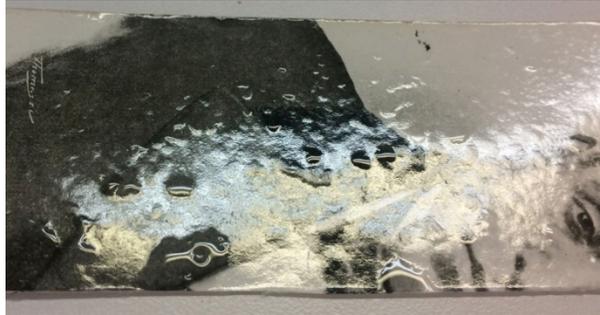


Imagen 80. Gotas en la superficie e hinchamiento de la gelatina tras la aplicación de agua destilada

En las fotos tratadas con Éviter® esto resultó en ligeras manchas mate inmediatamente notorias (imagen 81), lo cual puede deberse a la deposición en la superficie de la imagen de los elementos que componen el producto.



Imagen 81. Lado izquierdo: luz especular en la fotografía tratada con Éviter®, se nota un menor brillo y un manchado. Lado derecho: luz especular en la fotografía de referencia se nota un brillo homogéneo en la superficie.

En el caso de la foto tratada con Citricidal®, tras la segunda aplicación empezaron a ser también notorias manchas correspondientes al patrón de goteo de la aspersion particularmente evidente en las zonas blancas donde se pudieron observar motas con una tonalidad ámbar. Estas manchas fueron más evidentes después de la tercera aplicación, incluso sin necesidad de llevar a cabo la colorimetría (imagen 82). En las áreas más oscuras fue menos evidente.



Imagen 82. Izquierda: registro de la imagen tratada con agua destilada (mitad izquierda) y la tratada con Citricidal® al 2% en agua destilada (mitad derecha). Derecha: misma imagen de registro con aumento de la saturación para evidenciar las manchas de Citricidal® generadas en las zonas blancas.

Como se mencionó anteriormente, el sistema colorimétrico empleado se basa en la medición de la luminosidad, la escala verde-rojo, la escala azul-amarillo, la saturación y el tono. Tras haber obtenido los valores numéricos (tanto los previos como los posteriores a los tratamientos) correspondientes a cada escala se calcularon las diferencias en cada una (ΔL^* , Δa^* , Δb^* y ΔC^*) y la diferencia total (ΔE^*).

Cada una de estas diferencias individuales se midió a partir de restar los valores iniciales a los valores finales de la siguiente manera:

$$\Delta L^* = L^*_{\text{final}} - L^*_{\text{inicial}}$$

Por su parte la diferencia total se midió a partir de la siguiente ecuación (Nassau, 1998, p. 61):

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Por tratarse de fotografías en blanco y negro los parámetros considerados fueron la luminosidad (ΔL^*), la saturación (ΔC^*), el tono (Δh^*), la escala amarillo – azul (Δb^*)⁴⁹, y los cambios totales (ΔE^*). Para llevar a cabo este análisis numérico de variaciones se tomaron como referencia los valores de desviación propuestos para ΔE^* en la norma ASTM DS 4422 – 05⁵⁰ (ASTM International, 2005, p. 2), en la cual las desviaciones $\Delta E^* < 5$ se consideraron bajas a moderadas y las $\Delta E^* \geq 5$ importantes.⁵¹ En las tablas que se presentan a continuación (tabla 20) se resaltaron en amarillo los valores de ΔE^* que presentan una desviación considerada moderada ($3 < \Delta E^* < 5$) y en rojo aquellos con una desviación alta ($\Delta E^* \geq 5$), así como aquellos valores de otras escalas con parámetros similares.

El colorímetro da la información obtenida con tres parámetros de luz: “D65”, equivalente a la luz de día, “A” que simula la luz incandescente y “F2” que es la luz fluorescente. Los datos que se usaron para el cálculo de variaciones fueron los correspondientes a los valores de D65 pues es también la medida de referencia de la ASTM DS 4422 – 05 (ASTM International, 2005, p. 1). En los casos de las fotografías tratadas con Citricidal® y Éviter® se realizó la medición por duplicado y debido a algunas diferencias en los valores obtenidos se desglosaron los resultados de ambas en las tablas.

⁴⁹ Escala tomada en cuenta a partir de los cambios que se sospechó podrían generar el color ámbar del Citricidal®.

⁵⁰ *Standard Practice for Calculation of Color Tolerances and Color Differences from Instrumentally Measured Color Coordinates.*

⁵¹ De acuerdo a la ASTM 4422 – 05 no hay una escala determinada para definir cambios en ΔL^* , Δa^* , Δb^* y ΔC^* .

Fotos tratadas con agua						
Color de la zona	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	ΔC^*	Δh^*
Blanco	-0.17	0.04	0.2	0.27	0.19	0.19
Negro	0.42	-0.06	-0.51	0.66	-0.49	0.44
Gris	0.26	-0.11	-0.24	0.36	-0.22	0.27

Fotos tratadas con etanol						
Color de la zona	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	ΔC^*	Δh^*
Blanco	-0.06	-0.02	0.19	0.20	0.2	0.02
Negro	0.11	-0.08	-0.25	0.28	-0.24	0.13
Gris	-0.07	-0.11	-0.27	0.29	-0.245	0.12

Tabla 19. Diferencias en los valores antes y después de la aplicación de agua destilada y alcohol étílico

Fotos tratadas con Éviter®						
Color de la zona	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	ΔC^*	Δh^*
Blanco	-0.74	0.2	0.76	1.08	0.74	0.26
Blanco	-0.52	0.2	0.6	0.82	0.58	0.25
Negro	0.79	0.64	-0.38	1.09	-0.45	0.59
Negro	0.91	0.58	-0.22	1.10	-0.28	0.55
Gris	-3.36	0.5	-0.39	3.42	-0.51	0.38
Gris	-5.76	0.47	-0.58	5.81	-0.68	0.31

Fotos tratadas con Citricidal® 2%						
Color de la zona	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	ΔC^*	Δh^*
Blanco	-1.66	0.03	4.56	4.85	4.56	0.03
Blanco	-1.76	0.09	5.11	5.41	5.08	0.56
Negro	-0.05	-0.07	0.72	0.73	0.72	0.07
Negro	-0.28	-0.04	0.71	0.76	0.7	0.13
Gris	-1.85	0.02	0.39	1.89	0.37	0.12
Gris	-0.71	0.04	0.6	0.93	0.55	0.24

Tabla 20. Diferencias en los valores obtenidos antes y después de la aplicación de Éviter® y Citricidal®. En amarillo se marcaron los cambios mayores a 3 y menores a 5 y en rojo los cambios mayores a 5.

En los cálculos de diferencia realizados (los valores iniciales y finales se encuentran en los Anexos) y reflejados en las tablas anteriores, el que un valor sea positivo o negativo tiene diferentes implicaciones dependiendo de la escala de la que se esté hablando. De acuerdo a la ASTM 4422 – 05 (ASTM International, 2005, p. 3), los cambios se dan de la siguiente manera:

- + ΔL^* = más claro ; - ΔL^* = más oscuro
- + Δa^* = más rojo ; - Δa^* = más verde
- + Δb^* = más amarillo ; - Δb^* = más azul
- + ΔC^* = mayor saturación ; - ΔC^* = menor saturación

Es importante hacer mención de que los cambios representados por ΔE^* son absolutos, es decir, carecen de información con relación a la dirección del cambio, por lo tanto es importante leerlo con relación a las variaciones presentes en los otros campos (ASTM International, 2005, p. 3).

Salta inmediatamente que en las fotos tratadas con agua destilada y con alcohol etílico casi todas las variaciones son menores a 0.5, lo que se traduce en cambios mínimos a nivel de la imagen, indetectables al ojo humano.



Imagen 83. Medición de colores en las impresiones después de la aplicación de los productos. La fotografía con Éviter® se nota menos amarilla que las demás, situación evidente sobre todo en los grises. En las zonas blancas con Citricidal® se nota un mayor amarillamiento que en las demás probetas.

Las fotografías tratadas con Éviter® presentan una disminución de la luminosidad en la toma correspondiente a la zona gris de la imagen, y los valores determinados en las dos tomas son moderado y alto (-3.36 y -5.76 respectivamente) lo cual implica un oscurecimiento en la imagen, situación evidenciada también en ΔE^* . Este oscurecimiento también se da en el blanco, aunque con variaciones menores a 1, mientras que el negro parece presentar un ligero aumento en su luminosidad (igualmente los valores son menores a 1). Esto contrasta con el manchado mate que se ve a simple vista en la superficie, que como ya mencionamos es ligeramente blancuzco (imagen 81), así como con el tono general de la imagen que parece ser más claro (imagen 83). Esto podría tener una relación con el brillo propio de la plata, detectado por el espectrofotómetro, sin embargo sería deseable evaluar la pertinencia de una investigación más profunda en ese sentido pues aumentar la variable de la plata incrementa la complejidad de los estudios, lo cual queda fuera de los alcances de este proyecto.

Por su parte los cambios que se reflejan en los valores del Citricidal® concuerdan con el amarillamiento que se observa en la imagen. Todos los cambios moderados y fuertes están en ΔE^* , Δb^* y ΔC^* indicando un aumento en el amarillamiento y en la saturación (Δb^* y ΔC^* son positivos). Este mismo aumento se da también en las tomas grises y negras, sin embargo es mucho menos evidente tanto visualmente como en las tomas colorimétricas. Así mismo, la pérdida de brillo no resulta evidente a simple vista, a diferencia de lo observado en la impresión tratada con Éviter®.

4.4. Conclusiones de los análisis físico-químicos

Como se esperaba, a corto plazo los efectos evidentes son principalmente macroscópicos, siendo los más importantes los cambios de tono en la fotografía tratada con Citricidal® al 2% en agua destilada y de brillo en la fotografía tratada con Éviter®, resultados corroborados con el espectrofotómetro.

Los análisis de FTIR-ATR no reflejan diferencias mayúsculas en este momento, salvo por la modificación de dos de las bandas de las aminas (amina II y una amina adicional) posteriormente a la aplicación, en todas las probetas. Debido a que no corresponden con ninguno de los tratamientos, se hizo una revisión de las bandas concluyendo que en el caso de la amina II los dos picos que se veían en un inicio se superpusieron, mientras que la amina adicional debido a que el cambio en la intensidad necesaria es muy poco se considera irrelevante para este estudio. Así mismo se pudo descartar la hidrólisis de la gelatina en este momento. Por otro lado, el cambio en los picos identificados en la impresión tratada con Éviter® sería necesario monitorearlos pues es importante recordar que los efectos vistos en todos los casos son a corto plazo. Se desconocen las implicaciones a largo plazo de cualquiera de estos dos productos, por lo cual sería deseable se retomara posteriormente para llevar a cabo pruebas en cámara de intemperismo o, en su defecto, un monitoreo de las probetas usadas para este trabajo. Asimismo, los espectros realizados permiten sentar un antecedente para futuras investigaciones relacionadas.

Por su parte, el MEB puso en evidencia algunos de los elementos que componen al Éviter®, como Ti, Cl o Si, y que permanecen en la superficie, como era de esperarse al sacar el porcentaje en sólidos del producto. Es importante una investigación más profunda sobre la posible relación de los elementos Al, Ca, Mg y Si, detectados en la muestra tratada con Citricidal® e indagar en las posibles interacciones de los elementos encontrados en ambas muestras con los materiales fotográficos. Es necesario mencionar que el aparente pequeño porcentaje en sólidos del Éviter® (4%) es también un factor a considerar a largo plazo, pues aunque en apariencia éste pueda calificarse como “menor”, la cantidad de productos depositados en superficie aumenta ante una mayor cantidad de producto aplicado. Esto es importante pues si bien ya conocemos algunos de los elementos que lo forman se desconoce la mayoría de compuestos totales, su cantidad y por ende no podemos predecir su posible reactividad con los materiales.

Conclusiones y líneas de investigación a futuro

A lo largo de la investigación y de la experimentación que guiaron este proyecto, se pudo contrastar información con relación a los procesos de eliminación de microorganismos en obras con soporte de papel y en fotografías.

En lo que respecta a las imágenes fotográficas, cualquier agente externo que se añada a la imagen elimina o modifica parcial o totalmente la información de la misma. Esto es muy evidente en el caso de crecimientos fúngicos pues el desarrollo de colonias en la superficie no sólo cubre la imagen en mayor o menor proporción, sino que también puede alterar su coloración y sobre todo generar deterioros que afecten la estabilidad de la fotografía, como la condición material de la gelatina y del soporte de papel. En las probetas fue evidente la pérdida de la imagen, pues los crecimientos de las colonias llegaron a imposibilitar el reconocimiento de la zona de la foto afectada y para identificar las diferentes áreas de las impresiones se tuvo que recurrir a la comparación con las fotografías de registro tomadas al inicio de la experimentación.

Considerando que las investigaciones llevadas a cabo en bienes culturales provienen de las áreas de medicina o la industria alimenticia, para su aplicación en fotografías, pese a haber obtenido resultados favorables en otras obras con soporte de papel, es necesario considerar la naturaleza proteica de la gelatina. Ésta le confiere propiedades particulares y por lo tanto requiere de pruebas específicas para identificar los comportamientos de los materiales en ella, como se pudo notar a lo largo de la investigación presente donde fue evidente el amarillamiento del aglutinante con el Citricidal® y la pérdida de brillo con el uso del Éviter®. En lo que respecta al Citricidal® llama la atención la coloración amarilla evidente en la impresión, pues es el producto más empleado para desinfección de documentos y en los informes revisados del Seminario Taller Optativo de Conservación de Fotografías y de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías no se tiene reportado algún cambio en este sentido. El único cambio que se identificó fue el

mencionado por Buendía en su trabajo de titulación (2017, p. 44) en el cual reportó una “Textura ligeramente grasa” de los documentos posterior a la aplicación del producto.

Como se mencionó, uno de los factores sustanciales en el uso de materiales para conservación es comprender su interacción con las obras en las que se van a emplear. Esto es únicamente posible cuando se conoce su composición, por lo cual haber encontrado la patente del Éviter® en conjunto con los resultados del MEB son factores clave, pues hasta este momento se conocía apenas poco más que el nombre de la molécula (Nbelyax®). Sería deseable realizar una caracterización más puntual de este material para un mejor sustento para su uso o desecho en objetos patrimoniales.

Es necesario revisar el procedimiento de aplicación de los fungicidas, y realizar una comparación más puntual sobre las concentraciones usadas en documentos sobre papel y sobre fotografías, con relación a los resultados de pruebas de laboratorio proporcionadas por la Distribuidora Hidalgo® en su ficha técnica. Otro punto significativo sería hacer una revisión de los métodos de aplicación usados en restauración y los efectos visuales y biológicos obtenidos. Realizar nuevas investigaciones sería ideal también debido a la falta de congruencia obtenida en los cultivos realizados posteriormente a la aplicación de las diferentes concentraciones de Citricidal®, obteniendo resultados positivos en unos y en otros no, sin haber concordancia con las concentraciones empleadas. Respecto a esto, también es posible que cada especie reaccione distinto con los productos usados y las concentraciones probadas, pues cada microorganismo tiene sus propias características de desarrollo. Sería idóneo llevar a cabo una identificación precisa de las especies empleadas (principalmente con fines de investigación y registro más precisos) y una siembra de las cuatro cepas, tras una aplicación controlada de los productos, sometiendo todas a las mismas condiciones y llevando un registro periódico para una comparación de las velocidades de crecimiento específicas a cada género con y sin aplicación de los biocidas.

Por otro lado, aunque con el Éviter® el crecimiento fue más lento, es necesario hacer énfasis en probar con un método que asegure la aplicación homogénea del producto en grandes cantidades de documentos, como la nebulización. Respecto a esto se encontró recientemente que Éviter® cuenta ya con un Sanitizante de Alto Nivel de uso directo especialmente diseñado para su nebulización, lo cual puede darnos las herramientas necesarias para llevar a cabo una experimentación más puntual en esa dirección.

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación ambos productos únicamente se consideran fungistáticos, pues ralentizaron el crecimiento de la mayoría de las colonias fúngicas en las probetas y no se identificó un patrón en las siembras en EMA que no tuvieron crecimiento con a las concentraciones empleadas. Al haber una inhibición en el desarrollo de los hongos, esto podría permitir una manipulación de los documentos para su traslado y, en dado caso, proceder a otras medidas para su preservación, como un registro digital de ellos (en caso de no existir previamente) que permita la conservación de la información. Es pertinente mencionar que la evaluación de las fotografías (o colecciones fotográficas) afectadas debe hacerse tomando en cuenta la importancia de éstas en función de la información que proveen, su origen, cualidades artísticas, etc., para poder realizar un dictamen acertado en el que se pueda, en dado caso, valorar su tratamiento con cualquiera de ambos productos, a sabiendas de las posibles alteraciones de color y brillo que podrían causar. Dicha evaluación debe tomar en cuenta de manera primordial el estado de conservación de la gelatina para poder determinar el método de aplicación más adecuado.

Es también necesario tomar en cuenta que la efectividad a largo plazo de un agente fungistático depende de una periodicidad en su aplicación, pues una vez que el producto deja de actuar, el microorganismo que hasta entonces había estado inhibido, si las condiciones ambientales son favorables, puede iniciar (o continuar) su desarrollo, y no todos los archivos cuentan con el personal para realizar dichas aplicaciones frecuentes e incluso la estabilidad los mismos materiales no permite en muchos casos las aplicaciones repetitivas. Este factor es relevante pues en el caso del Éviter®, gracias a la

información de la patente y a los resultados obtenidos en los análisis que nos dieron un indicio más claro sobre su composición, pesé a especificar en su página que el efecto biocida dura 72h, se esperaría un mayor efecto antimicrobiano remanente, principalmente debido al porcentaje en sólidos que tiene y que muy posiblemente sean los que permanecen en superficie y hayan sido detectados por el MEB. Sin embargo faltaría comprobar esta última hipótesis haciendo un análisis más puntual sobre la naturaleza de los componentes sólidos extraídos.

Con relación al Citricidal® sería idóneo realizar pruebas *in vitro* que permitan entender mejor el comportamiento de este producto a diferentes concentraciones, considerando que la respuesta de las colonias durante la siembra en EMA después de la aplicación de los productos fue muy aleatoria, pues no hubo una relación de mayor concentración – menor crecimiento, si no que en algunos casos hubo y en otros no, independientemente de la concentración. Así mismo sería importante llevarlas a cabo para contrastar con la información proveída en la ficha técnica de la Distribuidora Hidalgo y otros estudios o tesis donde se haya investigado. Si bien hubo mayor inhibición de los microorganismos con las diluciones de 1% y 2% en agua, esto no es determinante dada la variabilidad de la información con relación a estos parámetros con la ficha técnica y la tesis de Buendía (2017). Esto sería importante sobre todo considerando el cambio de color que hubo en los tonos blancos de la imagen; si, como viene en la ficha técnica del producto, concentraciones más bajas tienen un buen efecto fungicida (con una aplicación uniforme) sería idóneo identificarlo pues evitaría o disminuiría estos cambios. En el caso de fotografías en blanco y negro, como vimos, implican un amarillamiento del blanco, pero de llegarse a usar en impresiones o transparencias a color podrían generar cambios cromáticos mayores.

Si bien son pocas las fotografías en las que se han hecho estudios previos a la aplicación del Citricidal® sería interesante rastrearlas para llevar un registro y monitoreo de la evolución de los materiales, tomando en cuenta las condiciones de almacenamiento en

las cuales están (o han estado), así como rastrear, en los casos posibles, los análisis que se hayan hecho anteriormente para darles seguimiento.

Los análisis con FT-IR permitieron constatar que no hay un proceso inmediato de deterioro, como hidrólisis, desencadenado por alguno de los productos. Sin embargo sería recomendable hacer una evaluación a un mayor plazo, ya sea sometiendo éstas u otras probetas a cámaras de envejecimiento acelerado para identificar posibles posteriores daños en la estructura molecular de la gelatina, así como monitorear los picos que se alteraron en la impresión tratada con Éviter® a 721.4 cm^{-1} y 701.1 cm^{-1} , que no se relacionan con el material analizado. Este análisis podría complementarse con pruebas de control positivas, deteriorando controladamente las fotografías con diferentes agentes, por ejemplo ácidos o bases fuertes, y así obtener espectros de referencia para futuras investigaciones relacionadas al deterioro molecular de la gelatina.

Una investigación más puntual sería útil para determinar los compuestos de este producto y sus concentraciones; complementarla a partir de estudios de MEB de una muestra de Éviter® puro que permita conocer su composición elemental, sería deseable y así tenerlo como elemento de referencia para el análisis de la fotografía realizado posteriormente a su aplicación, y poder identificar la correlación entre los elementos identificados posteriormente en las gráficas y mapeos elementales.

Con relación a la colorimetría, contrastó el aumento en los valores de luminosidad con el manchado mate que se ve a simple vista en la superficie, que como ya mencionamos es ligeramente blancuzco, así como con el tono general de la imagen que parece ser más claro. Esto podría tener una relación con el brillo propio de la plata, detectado por el espectrofotómetro, sin embargo sería deseable evaluar la pertinencia de una investigación más profunda en ese sentido pues aumentar la variable de la plata incrementa la complejidad de los estudios, lo cual queda fuera del alcance de esta tesis. Los valores de obtenidos con la colorimetría permiten tener valores de referencia que permitan su comparación con tomas posteriores.

Finalmente otro análisis que podría complementar la experimentación biológica es la observación de las fotografías con luz ultravioleta. Si bien mencionamos que esta frecuencia del espectro electromagnético no se recomienda para su uso en fotografías como método fungicida por generar alteraciones principalmente en las cadenas de celulosa del papel, es una buena herramienta para la revisión de actividad fúngica en los materiales fotográficos: la fluorescencia permite evidenciar zonas con hongos activos y dimensionar el avance del deterioro microbiológico (aun siendo invisibles al ojo humano bajo iluminación natural) (Buzit Tragnani, 2005, p. 21; Garavito Posada, 2009, p. 20).

Fuentes consultadas

- Ali, M. A., Ali, M. F., Darwish, S., Saker, U., Ciliberto, E., Greco, E., & Viscuzo, E. (2015). Investigation and conservation of El-Shenawy Palace photographic collection in Mansoura, Egypt. *Mediterranean Archeology and Archeometry*, 15, 165-185.
- Ali, M. A., Ali, M. F., Saker, M. O., Abdel Aleem, A. A. E. B., & El Nagar, K. I. (2012). Investigations on the chemical degradation of silver gelatin prints. *International Journal of Conservation Science*, 3, 93-106.
- Allhof, F., Lin, P., & Moore, D. (2010). *What is nanotechnology and why does it matter? From science to ethics*. Reino Unido: Wiley-Blackwell Publishing.
- Apoyo para el Desarrollo de Archivos y Bibliotecas de México, (ADABI). (2011). Promueven aplicación de nuevas técnicas de conservación para acervos. Recuperado 9 de octubre de 2016, a partir de <http://www.adabi.org.mx/content/Notas.jsfx?id=626>
- Archives outside. (2010). Removing mould from records and archives. Recuperado 14 de febrero de 2018, a partir de <https://archivesoutside.records.nsw.gov.au/conservation-tip-no-5-removing-mould-from-records-and-archives/>
- Arenas Guzmán, R. (2018). *Micología médica ilustrada* (4ª). México: McGraw Hill Interamericana.
- Arias Cifuentes, E. L., & Piñeros Espinosa, P. A. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde* (Tesis para obtener el grado de microbiólogas industriales). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. Recuperado a partir de <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
- ASTM International. (2005). D 2244 – 05 Standard practice for calculation of color tolerances and color differences from instrumentally measured color coordinates. Recuperado a partir de http://gost-snip.su/download/astm_d_224405_standard_practice_for_calculation_of_color_tol
- Baer, N. S., & Holben Ellis, M. (1988). Conservation notes: on thymol fumigation. *The*

International Journal of Museum Management and Curatorship, 7, 185-188.

- Barita. (s. f.). Recuperado 10 de marzo de 2017, a partir de <http://www.fotonostra.com/glosario/barita.htm>
- Bellotti, N., Bogdan, S., Deyá, C., Del Amo, B., & Romagnoli, R. (2013). Evaluación de la actividad antigúngica de una sal de amonio cuaternario para su aplicación en pinturas. *3er Congreso Iberoamericano y XI Jornada Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio*, 15. Recuperado a partir de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/44483/Documento_completo.pdf?sequence=1
- Bertalan, S., Wood Lee, M., & Olcott Price, L. (Eds.). (1994). Paper Conservation Catalog: Chapter 12. Mold and fungi. Book and Paper Group of the American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works (BPG - AICHAW). Recuperado a partir de http://cool.conservation-us.org/coolaic/sg/bpg/pcc/12_mold-fungi.pdf
- Bertalan, S., Wood Lee, M., & Olcott Price, L. (2017, septiembre). AIC – Book and Paper Group: Mold. Recuperado 15 de octubre de 2017, a partir de http://www.conservation-wiki.com/wiki/BPG_Mold#Removing_Fungal_Growth
- Borrego, S. (2012). Cladosporium: género fúngico que deteriora soportes documentales y afecta la salud del hombre. *Boletín del Archivo Nacional*, 104-118.
- Borrego, S., Valdés, O., Vivar, I., Lavin, P., Guiamet, P., Battistoni, P., ... Borges, P. (2012). Essential oils of plants as biocides against microorganisms isolated from cuban and argentinian documentary heritage. *ISRN Microbiology*. Recuperado a partir de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3671688/>
- Botello Miranda, M. E. (2014). *Proyecto de investigación del cuadro geográfico histórico cronológico conmemorativo del centenario de la proclamación de la independencia de los Estados Unidos Mexicanos. Tercera temporada*. (Informe de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías). México Distrito Federal: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete».
- Buendía Sánchez, A. R. (2017, abril). *Evaluación de cuatro alternativas para el control de hongos presentes en documentos de papel de pulpa de trapo* (Tesis de

licenciatura). Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete», Ciudad de México.

- Buzit Tragnani, C. (2005). *The use of ultraviolet-induced visible fluorescence for examination of photographs* (Advanced Residency Program in Photograph Conservation of the George Eastman House). Estados Unidos de América: International Museum of Photography and Film and Image Permanence Institute, Rochester Institute of Technology. Recuperado a partir de <https://drive.google.com/file/d/0B0TTVsrV1oMQYzBrRTNQeFRfOEU/view>
- Cáceres Acereto, L. M. (1998). *El uso del extracto de semilla y pulpa de toronja como una alternativa bactericida y fungicida en la conservación del papel* (Tesis de licenciatura). Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete», México Distrito Federal.
- Calvo Torras, M. Á., Adelantado, C., & Corcuera Marín, E. (2005). Principales características de los hongos causantes de alteraciones en materiales celulósicos. *PH Boletín del Instituto Andaluz de Patrimonio Histórico*, 53, 18-23.
- Caneva, G., Nugari, M. P., & Salvadori, O. (2000). *La biología en la restauración*. España: Editorial NEREA.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22, 5-14.
- Centre de Recherche sur la Conservation des Collections, (CRCC). (s. f.). *Alternaria*. Recuperado 18 de diciembre de 2017, a partir de <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/genreDetail.php?num=2&n=Alternaria>
- Chávez Lozano, M. V. (2015). *Evaluación de la esencia de clavo como preservativo de la cola de conejo* (Tesis de licenciatura). Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete», Ciudad de México.
- Cunha Boaventura, A. C., Bittencourt, J., Carrillo Medrano, P., & Garay Fernández de Villegas, M. (2011). *Informe sobre los trabajos realizados en cuatro fotografías pertenecientes a la colección «Proyecto para el Panteón Nacional» del CENIDIAP* (Informe de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías). México Distrito Federal: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía

«Manuel del Castillo Negrete».

- Cvetnić, Z., & Vladimir-Knežević. (2004). Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharm*, 54, 243-250.
- Deacon, J. W. (1988). *Introducción a la micología moderna*. México: Limusa.
- Departamento de química UNAM. (2016). Química de proteínas. Recuperado a partir de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4-Proteinas-Resumen-Intersemestral-16-1_32160.pdf
- Derrick, M. R., Landry, J. M., & Stulik, D. C. (1999). *Infrared Spectroscopy in Conservation Science*. Estados Unidos de América: Getty Conservation Institute.
- Díaz Cañas, D. L., & Guzmán Solano, M. E. (2009). *Informe de los trabajos de restauración realizados a la fotografía "Cerro de la Somera" procedente del museo tecnológico minero del siglo XIX en Tlalpujahua de Rayón, Michoacán* (Informe de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías). México Distrito Federal: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete».
- Distribuidora Hidalgo. (2017). Citricidal (R): Ficha técnica. Recuperado a partir de http://www.distribuidora-hidalgo.com/images/2015DH_CITRICIDAL.FichaTecnica.pdf
- Eaton, G. T. (1987). *Photographic chemistry: in black-and-white and color photography* (3ª). Estados Unidos de América: Morgan & Morgan.
- Flieder, F., & Capderou, C. (1999). *Sauvegarde des collections du Patrimoine: la lutte contre les détériorations biologiques*. Francia: CNRS Éditions.
- Florian, M.-L. E. (2000). Aseptic technique: a goal to strive for in collection recovery of moldy archival materials and artifacts. *Journal of the American Institute for Conservation*, 39, 107-115.
- Florian, M.-L. E. (2002). *Fungal facts: solving fungal problems in heritage collections*. Reino Unido: Archetype publications.
- Florian, M.-L. E. (2003). Water, heritage photographic materials and fungi. En B.

Bernier (Ed.), *Topics on Photographic Preservation* (Vol. 10, pp. 60-73). Estados Unidos de América.

- Fuentes de Cía, Á. M., & Robledano Arillo, J. (s. f.). Capítulo 3: La identificación y preservación de materiales fotográficos. Recuperado a partir de http://www.angelfuentes.es/PDF/Identificacion_preservacion.pdf
- Garavito Posada, M. A. (2009). *Informe de los trabajos de restauración realizados a la fotografía «Cholula (Pue)» que forma parte del acervo de la fototeca de la Coordinación Nacional de Monumentos Históricos* (Informe de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías). México Distrito Federal: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete».
- Gelatin Manufacturers Institute of America, (GMIA). (2012). Gelatin handbook. Recuperado a partir de http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf
- Gillespie, R. J., Humphreys, Baird, & Robinson. (1988). *Química*. (A. Beltrán, Trad.). España: Reverte.
- Gray, G. G. (1987). From Papyrus to RC Paper: history of paper supports. *Pioneers of Photography: Their Achievements in Science and Technology*, 37-46.
- Gresmex. (2017). La ciencia detrás de los productos Éviter. Recuperado 6 de diciembre de 2017, a partir de <http://www.eviter.com.mx/ciencia.php>
- Gutiérrez Olguín, I., Rodríguez Sepulveda, T., & Uraga Serratos, E. (2011). *Informe del trabajo de restauración realizado a la colección de fotografías «El trunfo de Eros, Sección Transversal», procedente del Centro Nacional de Investigación, Documentación e Información de Artes Plásticas, CENIDIAP-INBA*. (Informe de la Especialidad Internacional en Conservación de Fotografías). México Distrito Federal: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía «Manuel del Castillo Negrete».
- Haist, G. (1979). *Modern photographic processing* (Vol. 1). Estados Unidos de América: John Wiley and Sons Inc.

- Harrison, J. W., Wagner, G. W., & Henry, C. A. (1990). Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. *Journal of Endodontics*, 16, 328-330.
- Heggors, J. P., Cottingham, J., Gusman, J., Reagor, L., McCoy, L., Carino, E., Zhao, J.-G. (2002). The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8, 333-340.
- Hendriks, K. B. (1991). *Fundamentals of photograph conservation: a study guide*. Estados Unidos de América: Lugus.
- Hendriks, K. B., Lesser, B., Stewart, J., & Nishimura, D. (1984). Properties and stability of gelatin layers in photographic materials. Recuperado 18 de junio de 2018, a partir de <http://albumen.conservation-us.org/library/c20/hendriks1.html>
- Herrera, T., & Ulloa, M. (2004). *El reino de los hongos: micología básica y aplicada* (2ª). Ciudad de México: Fondo de Cultura Económica.
- HunterLab. (2008). Insight on color: CIE L*a*b* color scale. HunterLab. Measure color... measure quality. Recuperado a partir de <https://www.hunterlab.se/wp-content/uploads/2012/11/CIE-L-a-b-.pdf>
- Huppmann, T., Wintermantel, E., Yatsenko, S., Krampe, E., Kretschmer, K., & Bastian, M. (2017). Dióxido de titânio aumenta ação antimicrobiana em compostos plásticos. *Aranda editora técnica e cultural*, 223. Recuperado a partir de http://www.arandanet.com.br/revista/pi/materia/2017/05/13/dioxido_de_titanio.html
- Image Permanence Institute. (2018). Graphics Atlas: Compare Processes. Recuperado 25 de junio de 2018, a partir de <http://www.graphicsatlas.org/compareprocesses/>
- Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (2016). Innovación y reconocimiento internacional. Recuperado 8 de diciembre de 2017, a partir de <https://www.gob.mx/impi/articulos/innovacion-y-reconocimiento-internacional>
- Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, (ININ). (s. f.). Beneficios de la irradiación gamma. Recuperado a partir de <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Beneficios.pdf>

- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, (INSHT). (2014). Databio: *Alternaria* spp. Recuperado a partir de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Alter%20spp.pdf>
- Kodak. (2017). Film cleaning solvents. Recuperado 5 de julio de 2017, a partir de https://www.kodak.com/us/en/motion/support/people_and_planet/product_use/film_cleaning_solvents/default.htm
- Kozlov, P. V. (1983). The structure and properties of solid gelatin and the principles of their modification. *Polymer*, 34, 651-666.
- Lavédrine, B. (2003). *A guide to the preventive conservation of photograph collections*. Los Angeles, EUA: Getty Conservation Institute.
- Lavédrine, B. (2009). *Protographs of the past: process and preservation*. Los Angeles, EUA: Getty Conservation Institute.
- Lourenço, M. L. J., & Sampaio, J. P. (2007). Microbial deterioration of gelatin emulsion photographs: a case of study. En B. Bernier (Ed.), *Topics in Photographic Preservation* (Vol. 12, pp. 19-34). Estados Unidos de América.
- Lucas, C. (2016). "*L'asphalte même est un miroir*": étude et conservation de sept tirages de la Bibliothèque Historique de la Ville de Paris. *Traitement aux vapeurs d'éthanol des gélatines photographiques altérées par des micro-organismes* (Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de restaurateur du patrimoine dans la spécialité Photographie). Institut National du Patrimoine, París, Francia.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2013). *Brock: Biología de los microorganismos* (10ª). Reino Unido: Pearson Prentice Hall.
- Marchese, A., Orthan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., ... Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: a brief review of the literature. *Journal of Food Chemistry*, 210, 402-414.
- Marín Serafín, J. H. (2006). *Aplicación de un conservador en productos de malvavisco y fondant, en Wong's S.A. de C.V.* (Informe de experiencia profesional para obtener el título de biólogo). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad

Nacional Autónoma de México.

- Mateus, J., Peña, D., Peña, G., Rojas, Á., Rojas, J., Zambrano, S., ... Santander, M. (2004). Seguimiento y control de biodeterioro microbiológico en documentos de interés histórico en el Archivo General de la Nación. *Universitas Scientiarum, Revista de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana*, 9, 37-46.
- Meier-Wolff, C., & Petersen, K. (2006). *Shimmelpilze auf Papier. Ein Handbuch für Restauratoren: biologische Grundlagen, Erkennung, Behandlung und Prävention*. Alemania: Der Andere Verlag.
- Mendoza Morales, B. (2015). *Proyecto de conservación de libros de la biblioteca antigua del Museo Nacional del Virreinato, dirigido a la identificación visual del biodeterioro por ataque de hongos. Tercera etapa*. (Informe de servicio social). Estado de México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado a partir de <http://www.bibliotecaenba.sep.gob.mx/tesis/138.pdf>
- Morales Samper, J. G. (2006). *La conservación preventiva de materiales bibliográficos en soporte de papel deteriorados por hongos celulolíticos* (Tesina para obtener el grado de licenciado en biblioteconomía). Escuela Nacional de Biblioteconomía y Archivonomía, México Distrito Federal.
- Nassau, K. (Ed.). (1998). *Color for Science, Art and Technology*. Holanda: Elsevier Science.
- National Center for Biotechnology Information. (2017). Trichloroethane. Recuperado 17 de noviembre de 2017, a partir de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_1_1-trichloroethane#section=Top+
- Norris, D. H., & Gutierrez, J. J. (Eds.). (2010). On the mechanism of image silver degradation. En *Issues in the Conservation of Photographs* (pp. 227-235). Los Angeles, EUA: Getty Conservation Institute.
- Paredes Medina, D., Álvarez Núñez, M., & Silva Ordoñez, M. (2010). Obtención de enzimas celulasas por fermentación de sólida de hongos para ser utilizadas en el proceso de obtención de bioalcohol de residuos del cultivo del banano. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*, 23, 81-88.

- Perron, J. (1989). The use of FTIR in the Study of Photographic Materials. En R. E. Siegl (Ed.), *Topics in photographic preservation* (Vol. 3, pp. 112-122). Estados Unidos de América.
- Probiotek. (2017). Extracto de malta. Recuperado 4 de marzo de 2018, a partir de <http://www.probiotek.com/productos/reactivos/medios-de-cultivo-reactivos/extracto-de-malta/>
- Prockop, D. J., & Guzmán, N. A. (1981). El colágeno. *Tiempos Médicos*, n^o 191, 53-63.
- Rodríguez Galván, E. (2015). *Proyecto de conservación de libros de la biblioteca antigua del Museo Nacional del Virreinato, dirigido a la identificación visual del biodeterioro por ataque de hongos. Tercera etapa.* (Informe de servicio social). Estado de México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Schrader, B. (Ed.). (1995). *Infrared and raman spectroscopy: methods and applications*. Estados Unidos de América: VCH Publishers.
- Sequeira, S., Cabrita, E. J., & Macedo, M. F. (2012). Antifungals on paper conservation: an overview. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 74, 67-86.
- Serrano Martínez, J. L. (s. f.). *Espectroscopía infrarroja 1: fundamentos*. Universidad Politécnica de Cartagena. Recuperado a partir de https://www.upct.es/~minaees/espectroscopia_infrarroja.pdf
- Stanford Solar Center. (2015). UV Light. Recuperado 2 de febrero de 2018, a partir de <http://solar-center.stanford.edu/about/uvlight.html>
- Stuart, B. (2004). *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Gran Bretaña: Wiley Publishers.
- Stulik, D. C., & Kaplan, A. (2013). The atlas of the analytical signatures of photographic processes: silver gelatin. Getty Conservation Institute. Recuperado a partir de https://www.getty.edu/conservation/publications_resources/pdf_publications/pdf/atlas_

silver_gelatin.pdf

- Stupar, M., Grbić, M. L., Džamić, A., Unković, N., Ristić, M., Jelikić, A., & Vukojević, J. (2014). Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *South African Journal of Botany*, 93, 118-124.
- Textures.com. (s. f.). Moldy photographs. Recuperado 5 de febrero de 2018, a partir de <https://www.textures.com/download/photographsmoldy0009/105853>
- Trinidad Bello, A. (2014). *Modelos de crecimiento en biología, su significado biológico y selección del modelo por su ajuste* (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Iztapalapa, Ciudad de México. Recuperado a partir de http://mat.izt.uam.mx/mcmai/documentos/tesis/Gen.11-O/Adalberto_Trinidad.pdf
- Universidad Internacional de Valencia. (2017). Nutrición autótrofa y heterótrofa e influencia de las nuevas tecnologías. Recuperado a partir de <https://www.universidadviu.es/nutricion-autotrofa-heterotrofa-e-influencia-las-nuevas-tecnologias/>
- Valdez Marín, J. C. (1992). *Determinación y control de fungosis en material fotográfico*. México Distrito Federal: Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Valentín Rodrigo, N. (s. f.). Biodeterioro de los materiales de archivos y museos. Conservación y prevención. Instituto Cultural de España. Recuperado a partir de <http://www.aacidcf.org.co/documentos/MI%2018.283%20Valentin,%20Nieves.%20Bio%20deterioro.pdf>
- Valgañón, V. (2008). *Biología aplicada a la conservación y restauración*. España: Editorial Síntesis, S. A.
- Vargas Ángel, A. C. (2011). Evaluación y selección de productos para el control del biodeterioro en los fondos históricos de la biblioteca nacional de Colombia. *Conservamos: guía técnica de preservación en bibliotecas*, 6, 52.
- Vázquez Nin, G., & Echeverría, O. (2000). *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas*. México Distrito Federal: Fondo de Cultura Económica.

- Walls, H. J., & Attridge, G. G. (1977). *Basic photo science: how photography works* (2ª). Gran Bretaña: Focal Press.
- Weaver, G. (2008). *A guide to fiber-base gelatin silver print condition and deterioration* (Advanced Residency Program in Photograph Conservation of the George Eastman House). International Museum of Photography and Film and Image Permanence Institute, Rochester Institute of Technology. Recuperado a partir de http://gawainweaver.com/images/uploads/Weaver_Guide_to_Gelatin_Silver.pdf
- World Intellectual Property Organization, (WIPO). (2014). Nanoparticulate titanium dioxide nanomaterial modified with functional groups and with citric extracts adsorbed on the surface, for the removal of a wide range of microorganisms. Recuperado 12 de diciembre de 2017, a partir de <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2014204290>
- Zepeda Martínez, M. de G. (2010). *Fibras para la restauración de papeles antiguos*. México Distrito Federal: Instituto Nacional de Antropología e Historia.

Anexos

**** K X-RAYS ****

Element	Energy(keV)	Z	Sym	Ka	Kb
11 Na	1.041				
12 Mg	1.254				
13 Al	1.487			1.560	
14 Si	1.740			1.839	
15 P	2.010			2.135	
16 S	2.308			2.464	
17 Cl	2.622			2.816	
18 Ar	2.954			3.187	
19 K	3.314			3.590	

File: KLME.DAT version 1997/9/3 10:53 AM
 C:\users\ne\p\k\misc\klme.wb3
 extracted from the GUIPIX database by J.A. Maxwell

Z	Sym	At. Wgt.	Density	Val
11	Na	22.990	0.97	1
12	Mg	24.312	1.74	2
13	Al	26.981	2.70	3
14	Si	28.086	2.33	4
15	P	30.974	1.82	5
16	S	32.064	2.07	6
17	Cl	35.453	0.00	-1
18	Ar	39.948	0.00317	0
19	K	39.102	0.86	1

20 Ca	3.692	4.013
21 Sc	4.091	4.461
22 Ti	4.511	4.934
23 V	4.952	5.430
24 Cr	5.415	5.949
25 Mn	5.899	6.493
26 Fe	6.405	7.061
27 Co	6.930	7.651
28 Ni	7.479	8.263
29 Cu	8.048	8.906

**** L X-RAYS ****

Energy (keV)

Element	Energy (keV)	Li	La	Ln	L beta range	L gamrr range
20 Ca	3.692					
21 Sc	4.091					
22 Ti	4.511					
23 V	4.952					
24 Cr	5.415					
25 Mn	5.899					
26 Fe	6.405					
27 Co	6.930					
28 Ni	7.479					
29 Cu	8.048					
30 Zn	8.639					
31 Ga	9.252					
32 Ge	9.866					
33 As	10.544					
34 Se	11.222					
35 Br	11.924					
36 Kr	12.651					
37 Rb	13.395					
38 Sr	14.165					
39 Y	14.958					

20 Ca	40.080	1.55	2
21 Sc	44.956	3.00	3
22 Ti	47.900	4.50	4
23 V	50.941	5.80	3
24 Cr	51.992	7.19	3
25 Mn	54.938	7.43	2
26 Fe	55.847	7.86	3
27 Co	58.933	8.90	2
28 Ni	58.710	8.90	2
29 Cu	63.540	8.96	1
30 Zn	65.370	7.14	2
31 Ga	69.720	5.91	3
32 Ge	72.590	5.32	4
33 As	74.922	5.72	5
34 Se	78.960	4.80	4
35 Br	79.909	3.12	-1
36 Kr	83.800	0.00	0
37 Rb	85.470	1.53	1
38 Sr	87.620	2.60	2
39 Y	88.905	4.50	3
40 Zr	91.220	6.49	4
41 Nb	92.906	8.55	5
42 Mo	95.940	10.20	6
43 Tc	97.000	11.50	7
44 Ru	101.070	12.20	4
45 Rh	102.905	12.40	3
46 Pd	106.400	12.00	2
47 Ag	107.870	10.50	1
48 Cd	112.400	8.86	2
49 In	114.820	7.31	3
50 Sn	118.690	7.30	4
51 Sb	121.750	6.68	5
52 Te	127.600	6.24	4
53 I	126.904	4.92	-1
54 Xe	131.300	0.01	0
55 Cs	132.905	1.87	1
56 Ba	137.340	3.50	2
57 La	138.910	6.70	3
58 Ce	140.120	6.78	3
59 Pr	140.907	6.77	3
60 Nd	144.240	7.00	3
61 Pm	145.000	6.48	3
62 Sm	150.3500	7.54	3
63 Eu	151.9600	5.26	3
64 Gd	157.2500	7.89	3
65 Tb	158.9240	8.27	3
66 Dy	162.5000	8.54	3
67 Ho	164.9300	8.80	3
68 Er	167.260	9.05	3
69 Tm	168.934	9.33	3
70 Yb	173.040	6.98	3
71 Lu	174.970	9.84	3
72 Hf	178.490	13.10	4
73 Ta	180.948	16.60	5
74 W	183.850	19.30	6
75 Re	188.200	21.00	7
76 Os	190.200	22.40	4
77 Ir	192.200	22.50	4
78 Pt	195.090	21.40	4
79 Au	196.970	19.30	3
80 Hg	200.590	13.52	2
81 Tl	204.370	11.85	1
82 Pb	207.190	11.40	2
83 Bi	208.980	9.80	3
84 Po	209.000	9.40	4
85 At	210.000	9.00	-1
86 Rn	222.000	0.01	0
87 Fr	223.000	2.00	1
88 Ra	226.000	5.00	2
89 Ac	227.000	10.07	3
90 Th	232.038	11.70	4
91 Pa	231.000	15.40	5
92 U	238.030	18.90	6

40 Zr	15.775	17.667
41 Nb	16.610	18.623
42 Mo	17.479	19.607
43 Tc	18.367	20.619
44 Ru	19.279	21.657
45 Rh	20.216	22.724
46 Pd	21.177	23.819
47 Ag	22.163	24.943
48 Cd	23.174	26.095
49 In	24.210	27.276
50 Sn	25.271	28.486
51 Sb	26.359	29.726
52 Te	27.472	30.995
53 I	28.612	32.295
54 Xe	29.779	33.624
55 Cs	30.973	34.987
56 Ba	32.194	36.378
57 La	33.442	37.801
58 Ce	34.720	39.258
59 Pr	36.026	40.748
60 Nd	37.361	42.271

60 Nd	37.361	42.271
61 Pm		
62 Sm		
63 Eu		
64 Gd		
65 Tb		
66 Dy		
67 Ho		
68 Er		
69 Tm		

70 Yb		
71 Lu		
72 Hf		
73 Ta		
74 W		
75 Re		
76 Os		
77 Ir		
78 Pt		
79 Au		

80 Hg		
81 Tl		
82 Pb		
83 Bi		
84 Po		
85 At		
86 Rn		
87 Fr		
88 Ra		
89 Ac		

90 Th		
91 Pa		
92 U		

**** M X-RAYS ****

Energy (keV)

Element	Energy (keV)	Meta	Malpha	Mbeta	gamma	range
70 Yb	173.040					
71 Lu	174.970					
72 Hf	178.490	1.281	1.644	1.698	1.884	2.164
73 Ta	180.948	1.331	1.709	1.766	1.953	2.243
74 W	183.850	1.384	1.773	1.834	2.022	2.328
75 Re	188.200	1.439	1.838	1.901	2.094	2.414
76 Os	190.200	1.482	1.908	1.977	2.168	2.502
77 Ir	192.200	1.546	1.978	2.052	2.239	2.597
78 Pt	195.090	1.602	2.049	2.127	2.315	2.689
79 Au	196.970	1.660	2.120	2.204	2.391	2.781
80 Hg	200.590	1.724	2.194	2.282	2.469	2.885
81 Tl	204.370	1.780	2.268	2.362	2.550	2.983
82 Pb	207.190	1.839	2.345	2.444	2.631	3.067
83 Bi	208.980	1.901	2.420	2.525	2.713	3.184
84 Po	209.000					
85 At	210.000					
86 Rn	222.000					
87 Fr	223.000					
88 Ra	226.000					
89 Ac	227.000					
90 Th	232.038	2.365	2.992	3.146	3.332	4.014
91 Pa	231.000					
92 U	238.030	2.507	3.166	3.337	3.523	4.276

Espectros de reflectancia

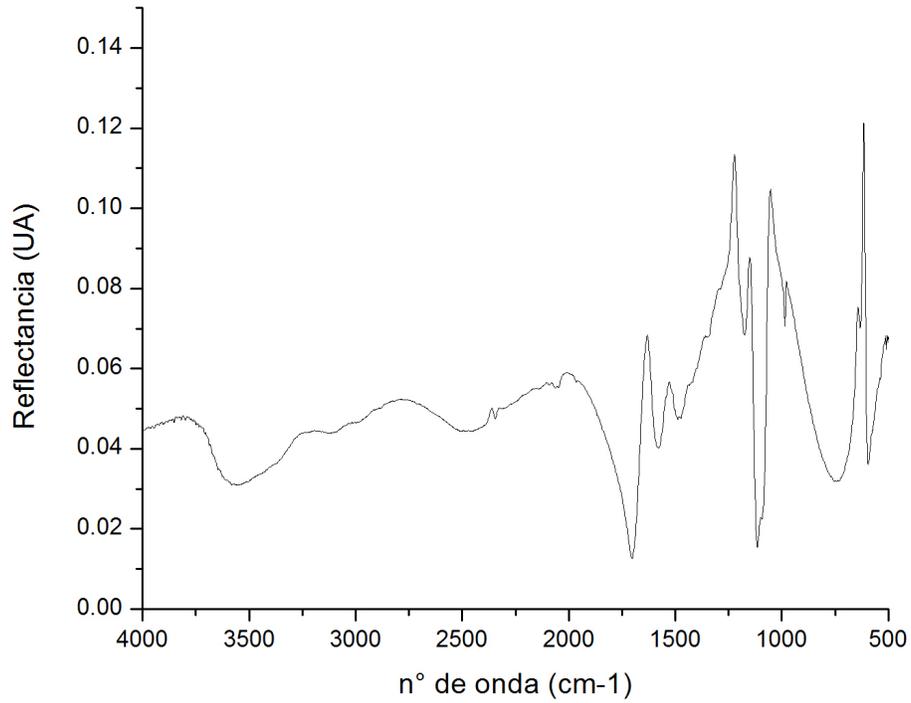


Imagen 84. Zona gris de la foto patrón previo al tratamiento

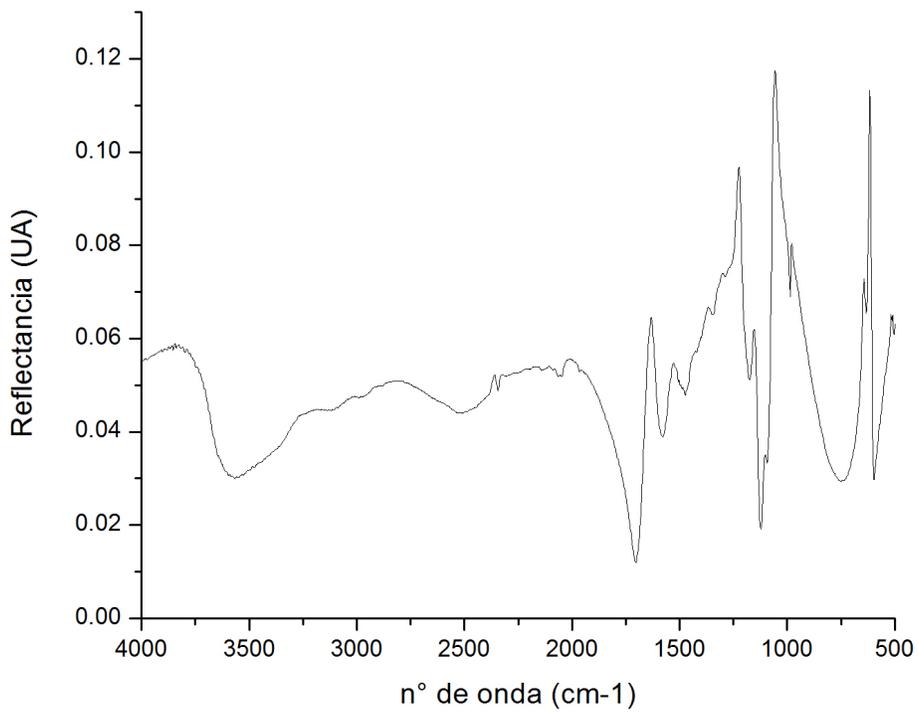


Imagen 85. Zona blanca de foto patrón previo a la aplicación de los productos

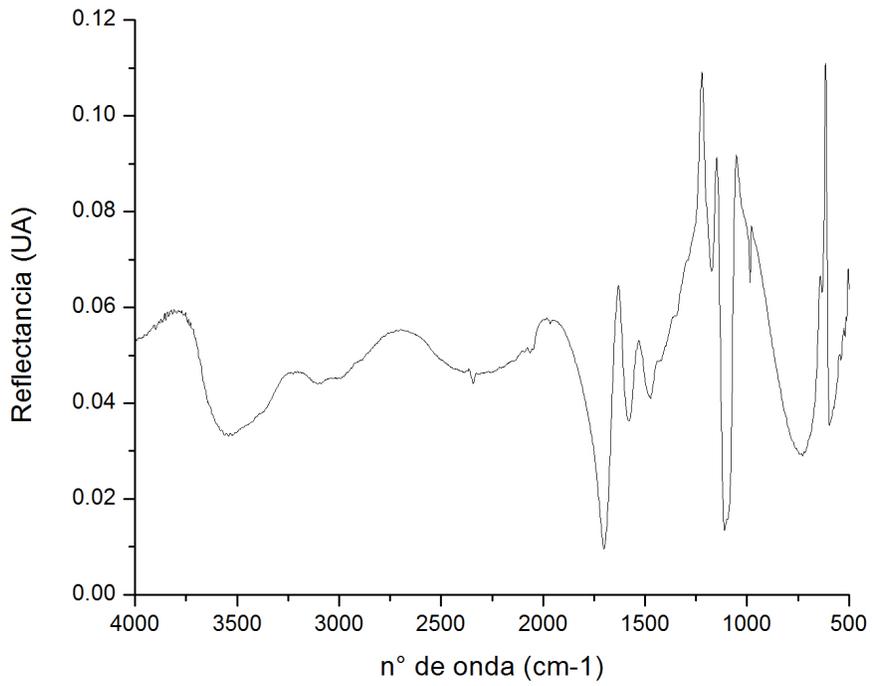


Imagen 86. Zona blanca de la foto patrón después de tratamiento con agua

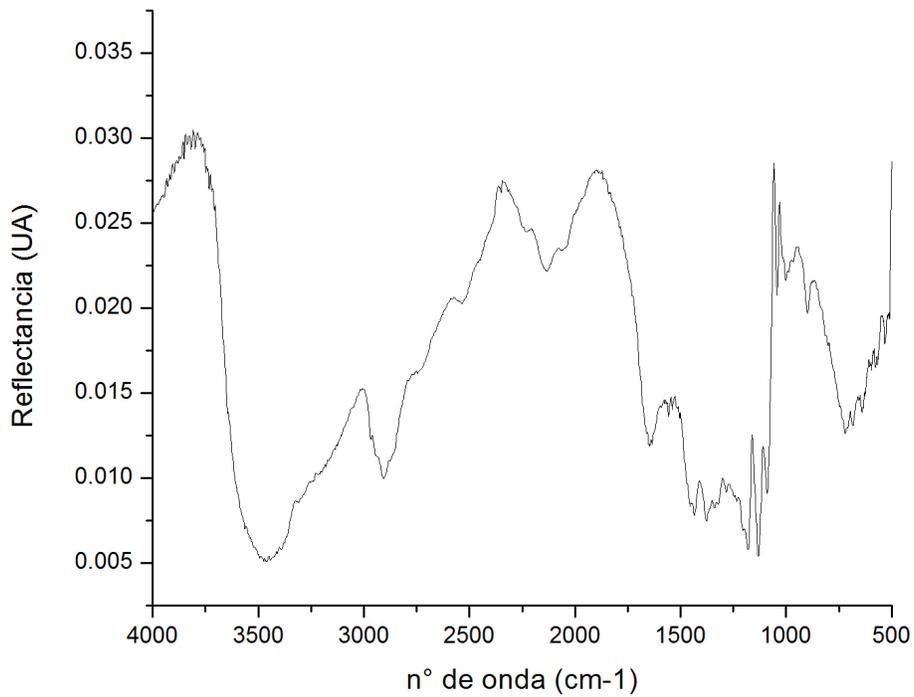


Imagen 87. Reverso de la foto patrón previo a la aplicación de los productos

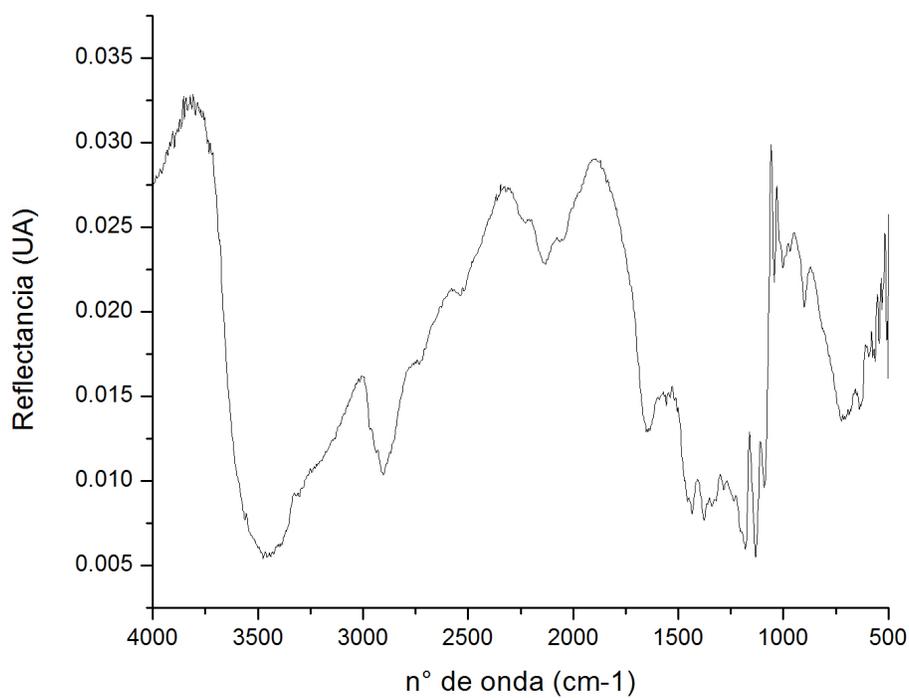


Imagen 88. Zona gris después de aplicación de Éviter®

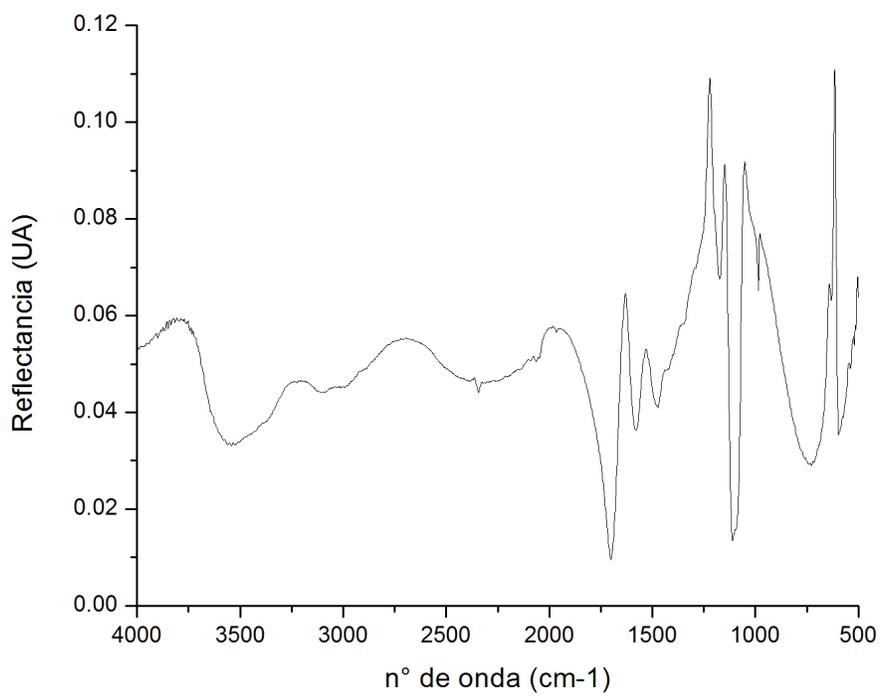


Imagen 89. Zona blanca después de la aplicación del Éviter

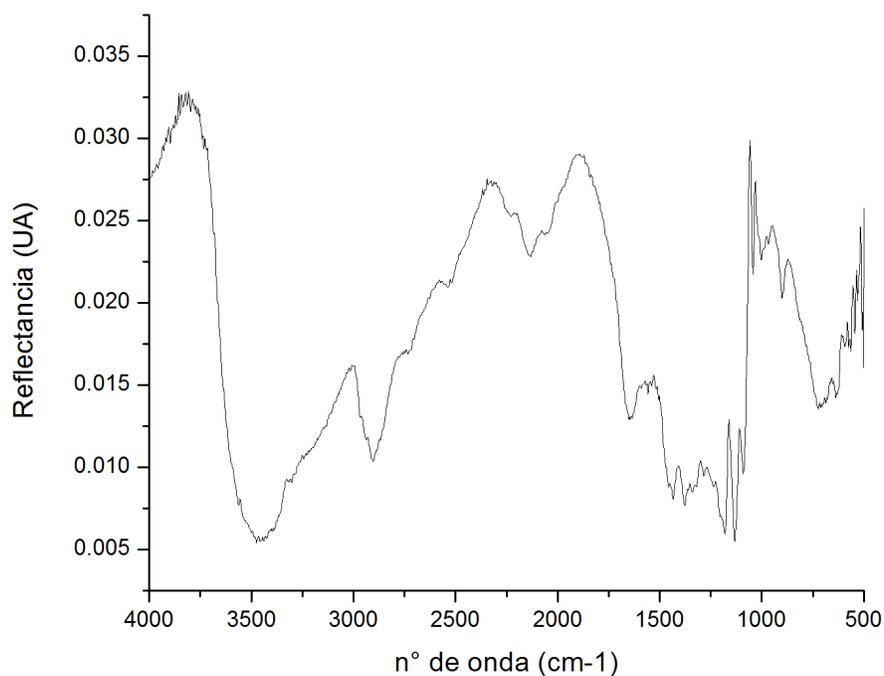


Imagen 90. Reverso de foto patrón después de aplicación del Éviter®

Porcentaje en sólidos del Éviter®

A partir de la evidente presencia de partículas solidas en la composición del producto, se decidió realizar un breve análisis de su porcentaje. Para esto se tomó una pequeña muestra de Éviter® a la cual, tras tomar el peso inicial (45 g), se puso durante 5 días en un horno a 50°C para su evaporación hasta obtener únicamente el material sólido, cuyo peso final fue de 1.8 g. Gracias a esto se pudo determinar que el porcentaje de sólidos del Éviter® empleado fue de 4%.

Toma de imágenes en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

Los análisis y la toma de imágenes que se llevaron a cabo en el microscopio electrónico de barrido (MEB) se hicieron en bajo vacío (LV)⁵² debido a que en alto vacío (HV)⁵³ se detectó un exceso de carga que no permitió hacer un registro adecuado de las imágenes. En las primeras mediciones, previas a la aplicación de productos, se realizaron 14 lecturas en la muestra 1, en dos diferentes puntos de la muestra y a distintos aumentos, siendo las primeras dos únicamente ensayos para determinar los mejores parámetros necesarios (presión, voltaje y tamaño de foco). En el caso de la zona de transición (zona 2) primero se hicieron 4 lecturas (AG1_A7 a A10) en un punto mayoritariamente oscuro (con predominancia de plata) y luego otras 4 (AG1_A11 a A14) de una zona más clara (con predominancia de gelatina) con fines comparativos. Así mismo en dicha zona se llevó a cabo el mapeo elemental para intentar determinar cambios en la composición entre las zonas del aglutinante con y sin plata.

Con la muestra 2, por tratarse de la misma imagen, sin tratamientos, sólo se realizaron 2 imágenes, una a 20,000X y otra a 10,000X, con los mismos parámetros.

N° de medición		Aumento	Otros parámetros
Z o n a 1	AG1_A1	20,000X	20kV, 20Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A2	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A3	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A4	10,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A5	5,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A6	2,500X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A7	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A8	10,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>

⁵² *Low vacuum*, por sus siglas en inglés

⁵³ *High vacuum*, por sus siglas en inglés.

Z o n a 2	AG1_A9	5,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A10	2,500X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A11	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A12	10,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A13	5,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_A14	2,500X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>

Tabla 21. Parámetros de las mediciones antes de la aplicación del Éviter® y Citricidal®.

Posteriormente a la aplicación de Citricidal® diluido al 2% en agua destilada y de Éviter® se realizó una segunda toma para las mismas muestras empleadas anteriormente, las cuales habían sido tratadas respectivamente con Éviter® (muestra 1) y con Citricidal® (muestra 2). Considerando que lo que nos interesaba conocer en esta etapa era la naturaleza de los elementos inorgánicos residuales del Éviter® y el Citricidal®, se determinó que las muestras tratadas con agua destilada y etanol no eran relevantes para este análisis.

En el caso de la muestra 1, tratada con Éviter®, se usaron inicialmente los mismos parámetros que en las tomas previas a los tratamientos (LV, 25kV, 23Pa y *spot size 36*) y los mismos aumentos, sin embargo la muestra se cargó y se tuvo que subir la presión a 27Pa para las mediciones con menor aumento. Se realizaron en total nueve tomas en esta muestra: dos tomas preliminares para enfocar y determinar el área a analizar, seis subsecuentes a diferentes aumentos y una novena en la zona en la que se llevó a cabo el mapeo elemental.

	Nº de medición	Aumento	Otros parámetros
M U E S	AG1_B1	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B2	20,000X (zona distinta)	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B3	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B4	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>

T R A 1	AG1_B5	10,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B6	10,000X	25kV, 27Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B7	5,000X	25kV, 27Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B8	2,500X	25kV, 27Pa, <i>spot size 36</i>
	AG1_B9	200X (general)	25kV, 27Pa, <i>spot size 36</i>

Tabla 22. Parámetros de las mediciones en la muestra 1, tratada con Éviter®

En la muestra tratada con Citricidal® (muestra 2) se usaron los mismos parámetros iniciales y, al igual que con la muestra tratada con Éviter® se tomó una imagen de la zona mapeada, esta vez a 30X.

		Nº de medición	Aumento	Otros parámetros
M U E S T R A 2	AG1_C1	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C2	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C3	10,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C4	5,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C5	2,500X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C6	2,500X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C7	30X (general)	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C8	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	
	AG1_C9	20,000X	25kV, 23Pa, <i>spot size 36</i>	

Tabla 23. Parámetros de las mediciones en la muestra 2, tratada con Citricidal®

Sin embargo las fotografías obtenidas a partir de estas lecturas carecieron de detalle suficiente para poder llevar a cabo un análisis topográfico preciso, como se puede apreciar en las imágenes a continuación. Debido a esto no se tomaron en cuenta para este trabajo, pero se anexan por si fueran de utilidad en futuras investigaciones.

Registro de imagen previo a la aplicación de los biocidas

Zona 1

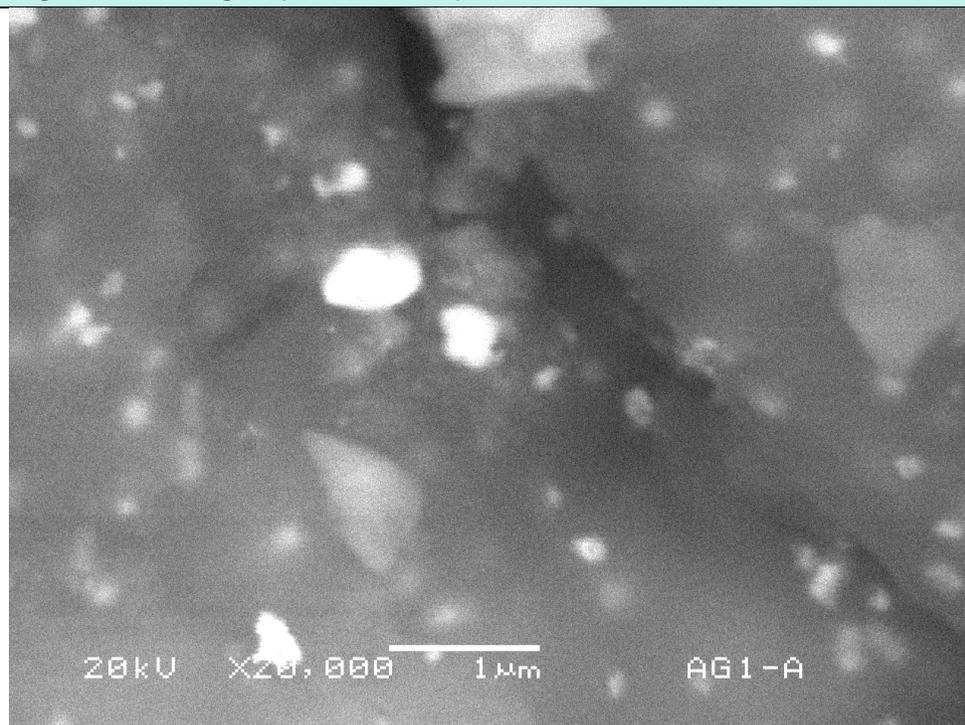


Imagen 91. AG1_A1

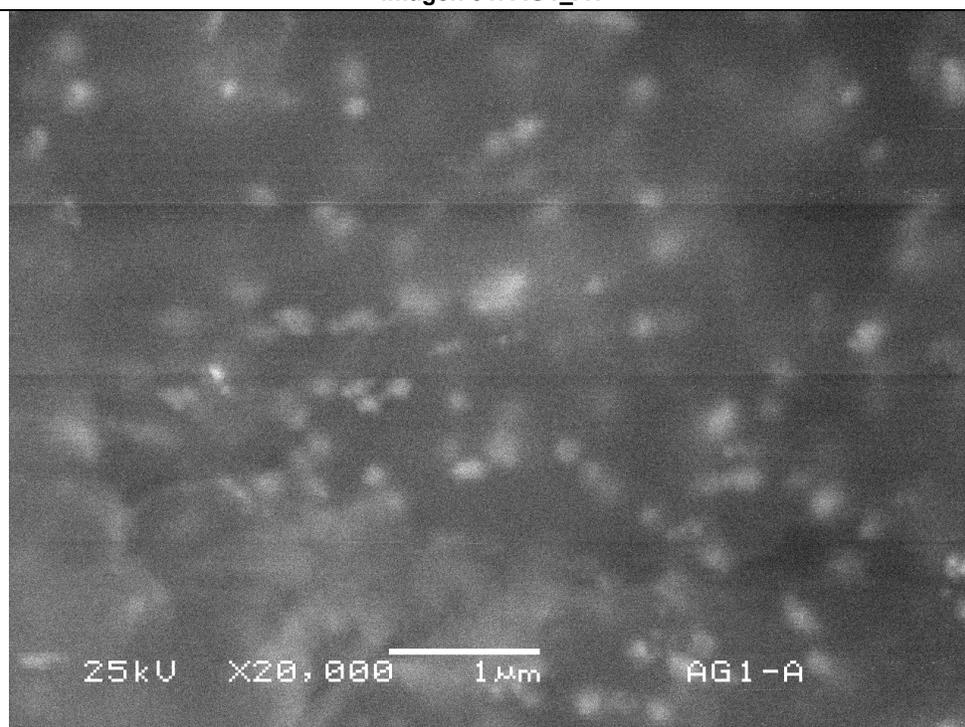


Imagen 92. AG1_A2

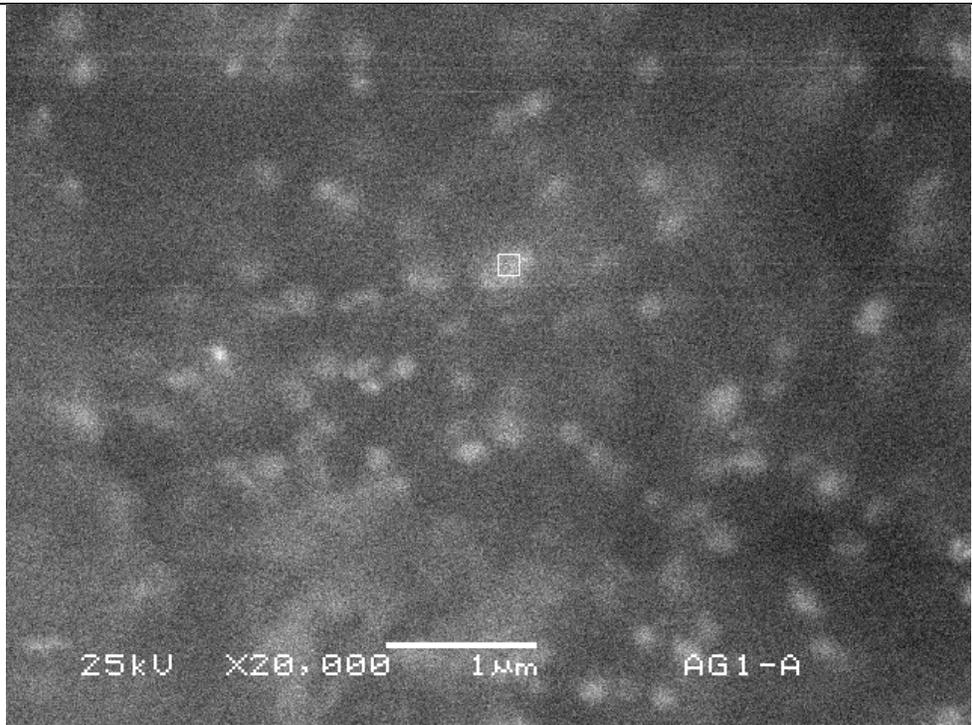


Imagen 93. AG1_A3

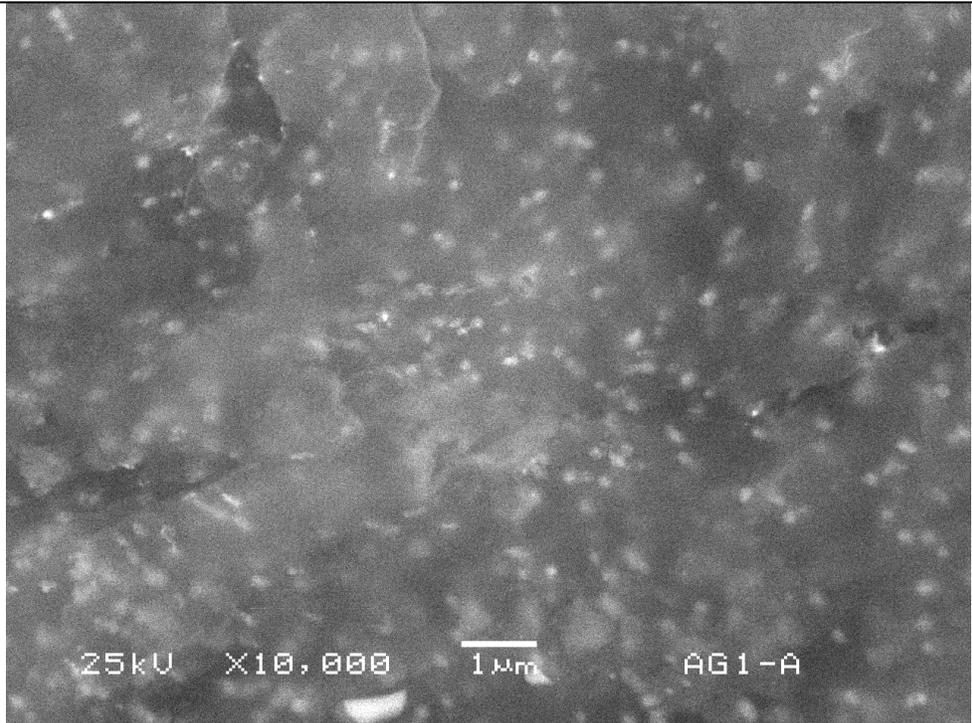


Imagen 94. AG1_A4

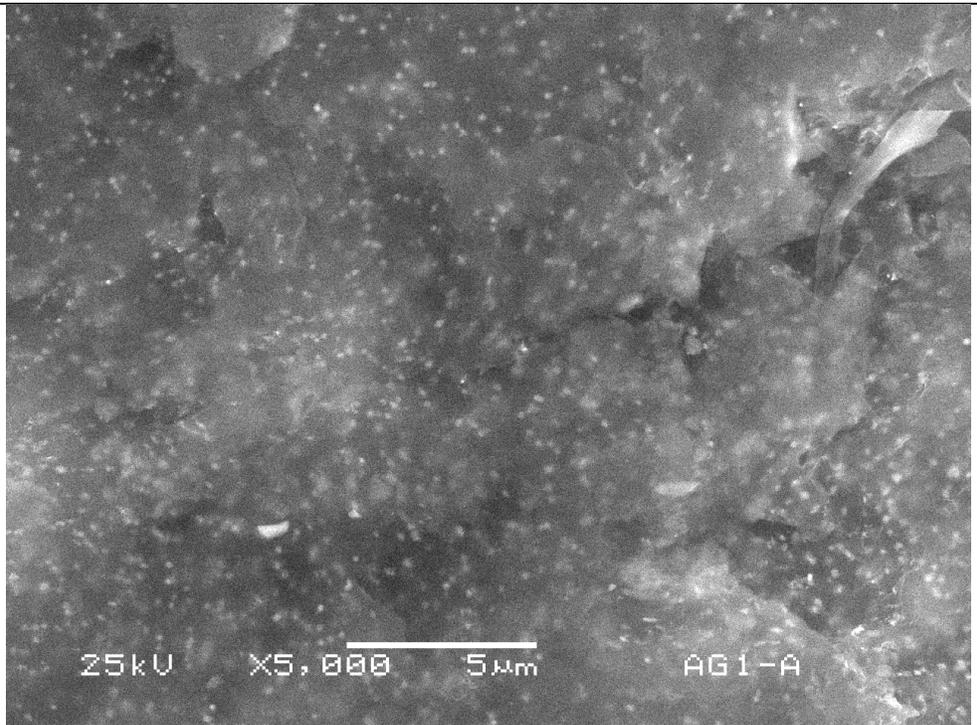


Imagen 95.AG1_A5

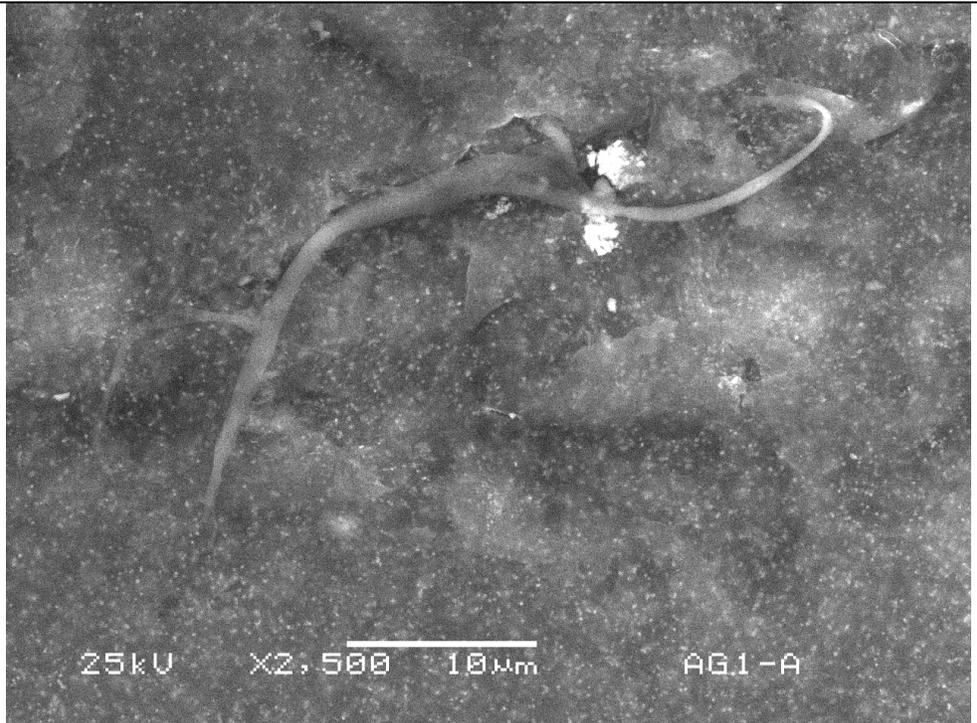


Imagen 96.AG1_A6

Zona 2

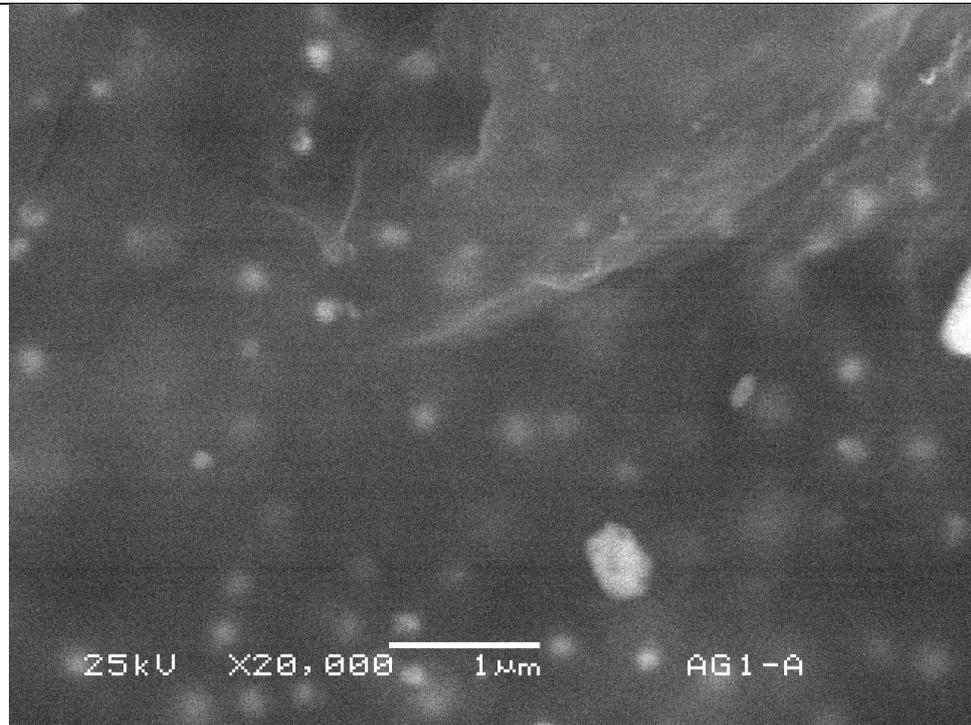


Imagen 97. AG1_A7

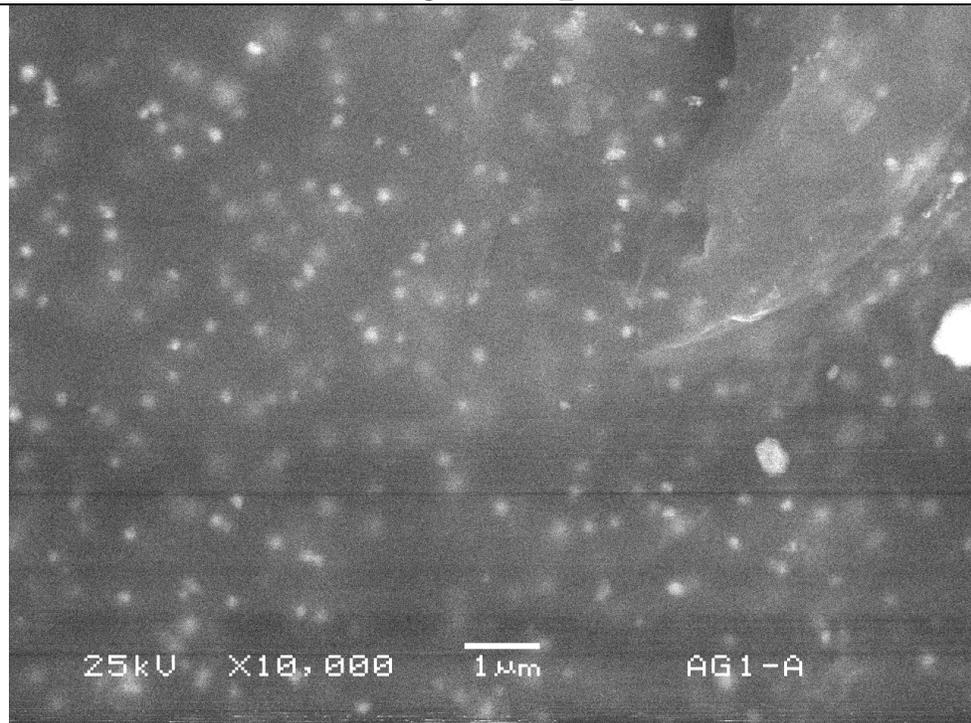


Imagen 98. AG1_A8

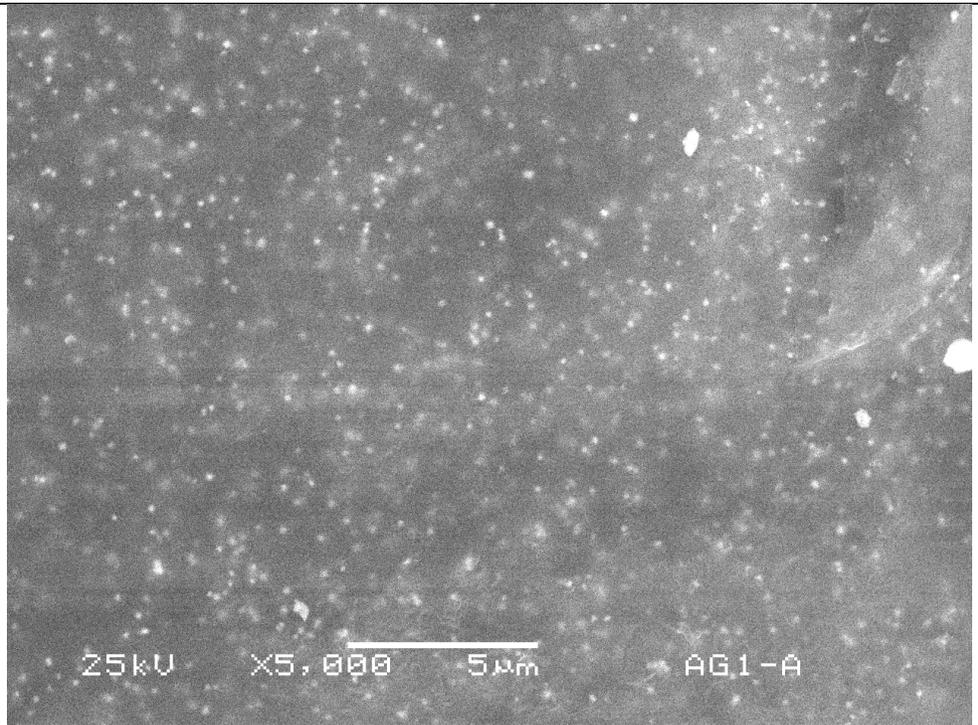


Imagen 99. AG1_A9

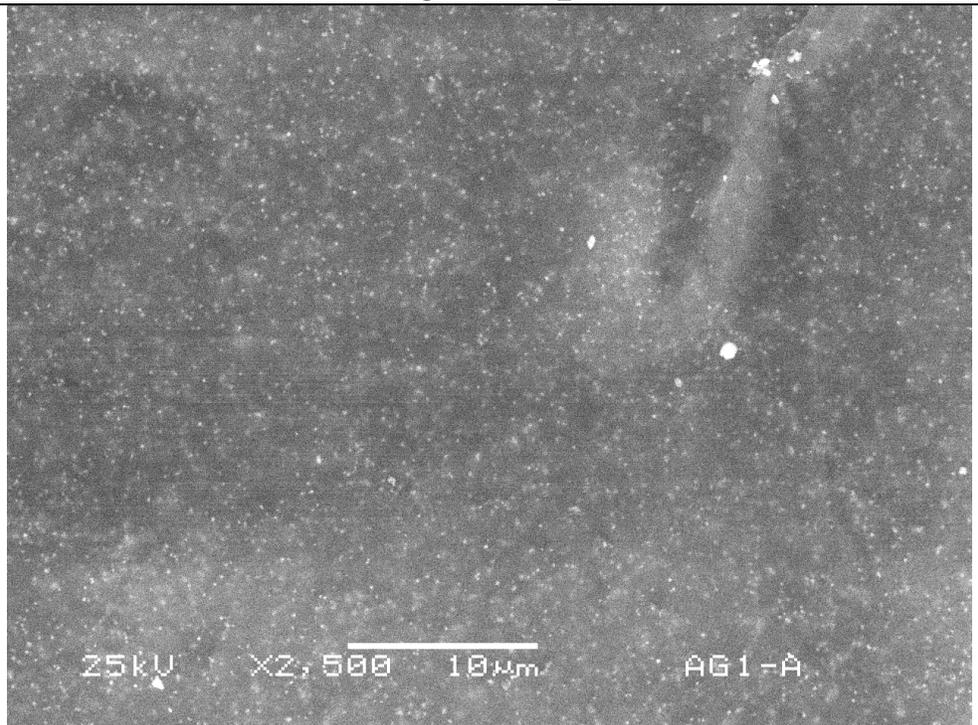


Imagen 100. AG1_A10

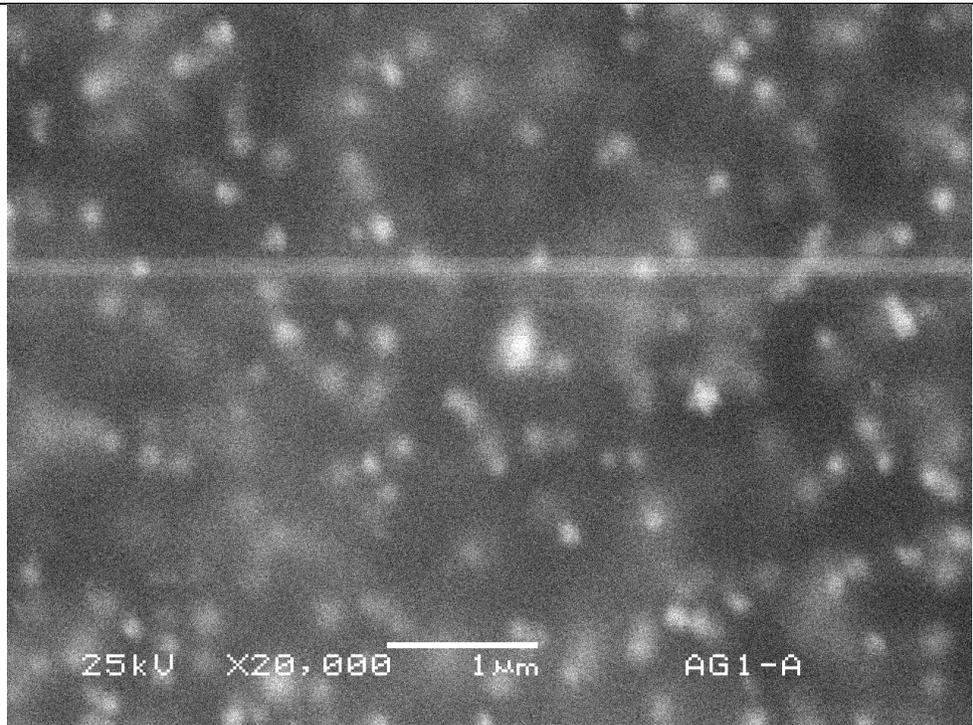


Imagen 101. AG1_A11

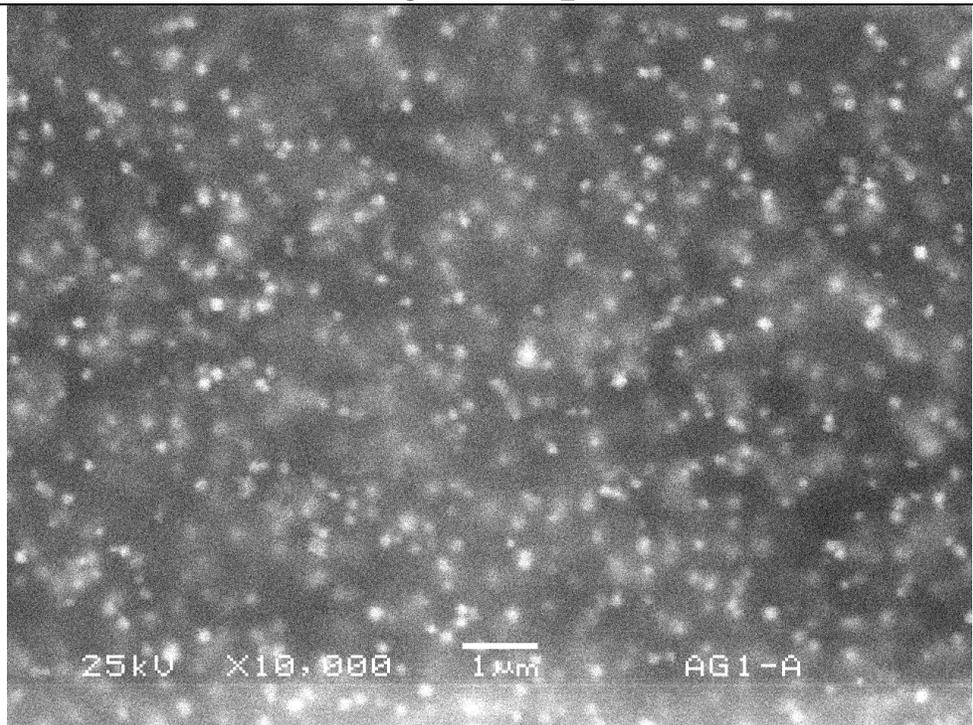


Imagen 102. AG1_A12

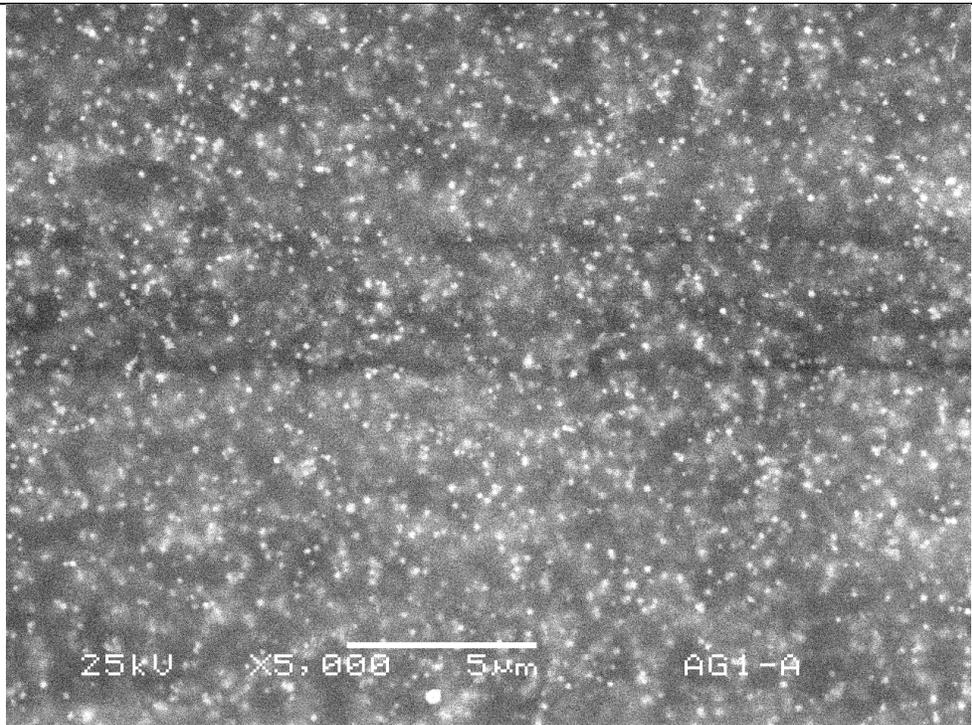


Imagen 103. AG1_A13

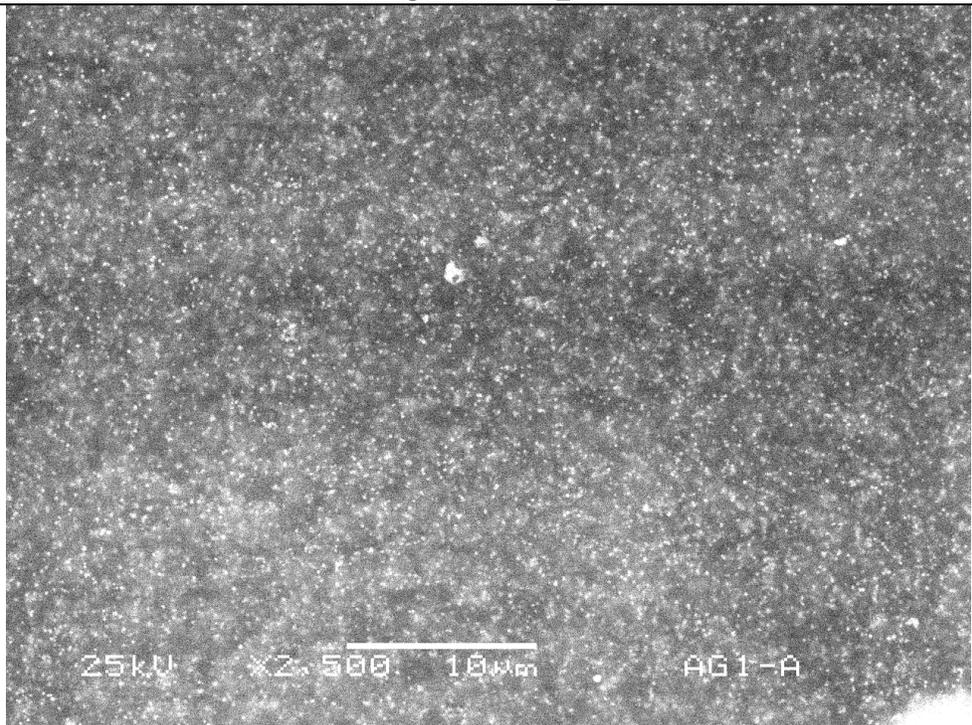


Imagen 104. AG1_A14

Registro de imagen en la muestra 1 posterior a la aplicación del biocida (Éviter®)

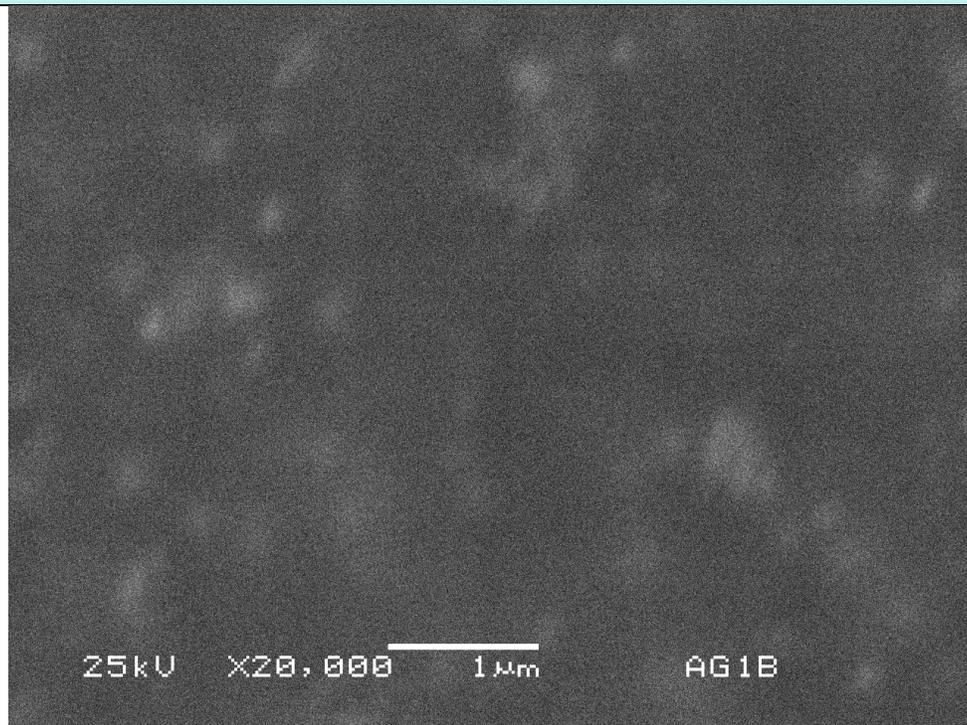


Imagen 105. AG1_B1

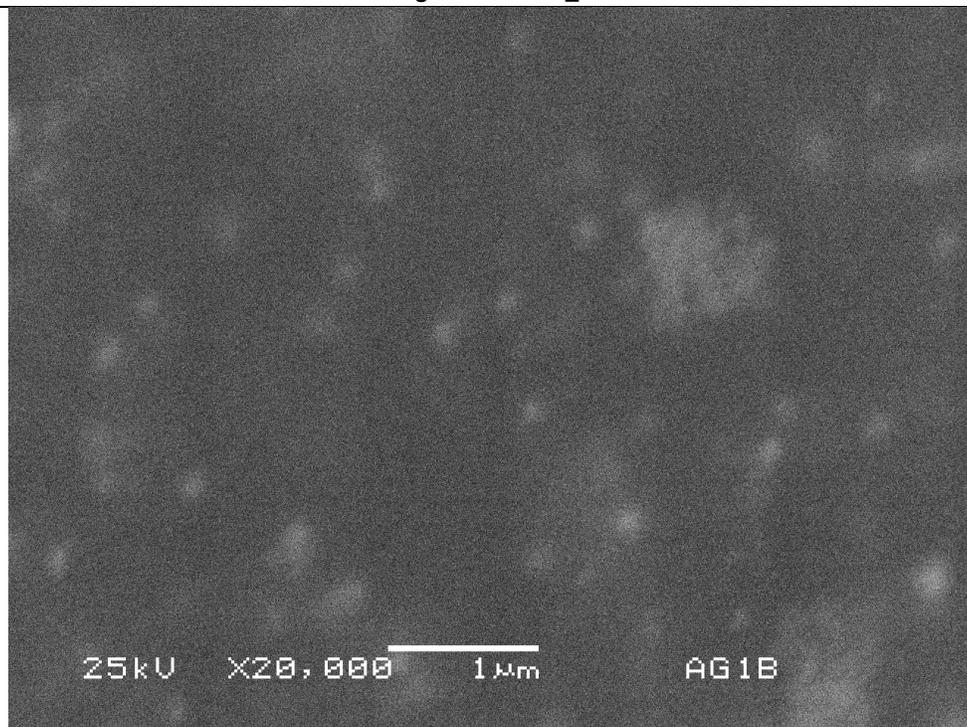


Imagen 106. AG1_B2

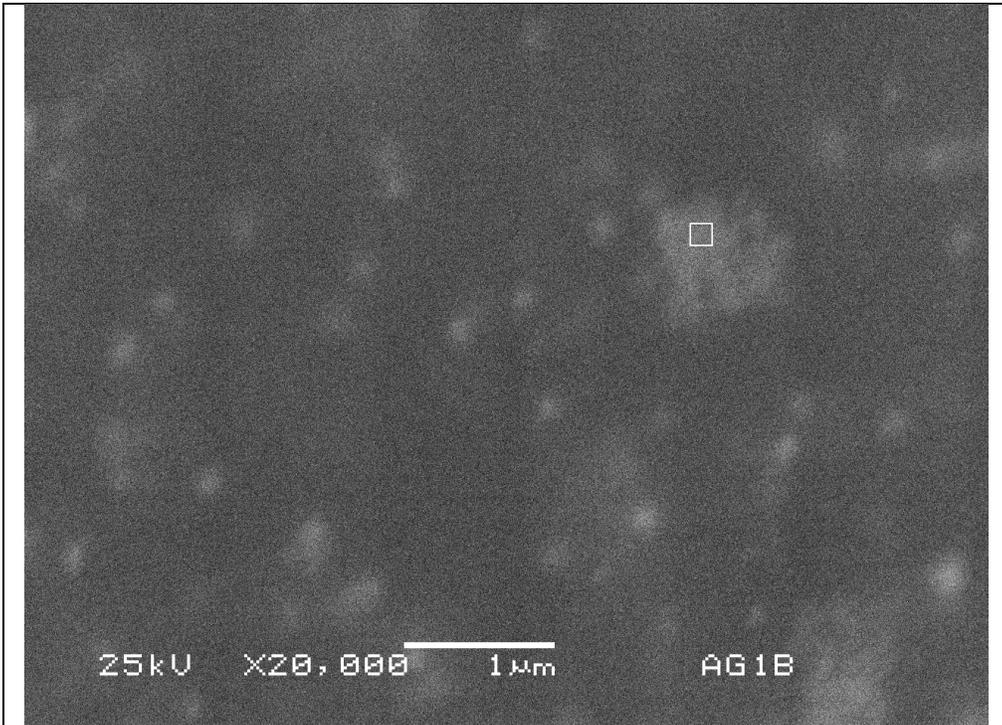


Imagen 107. AG1_B3

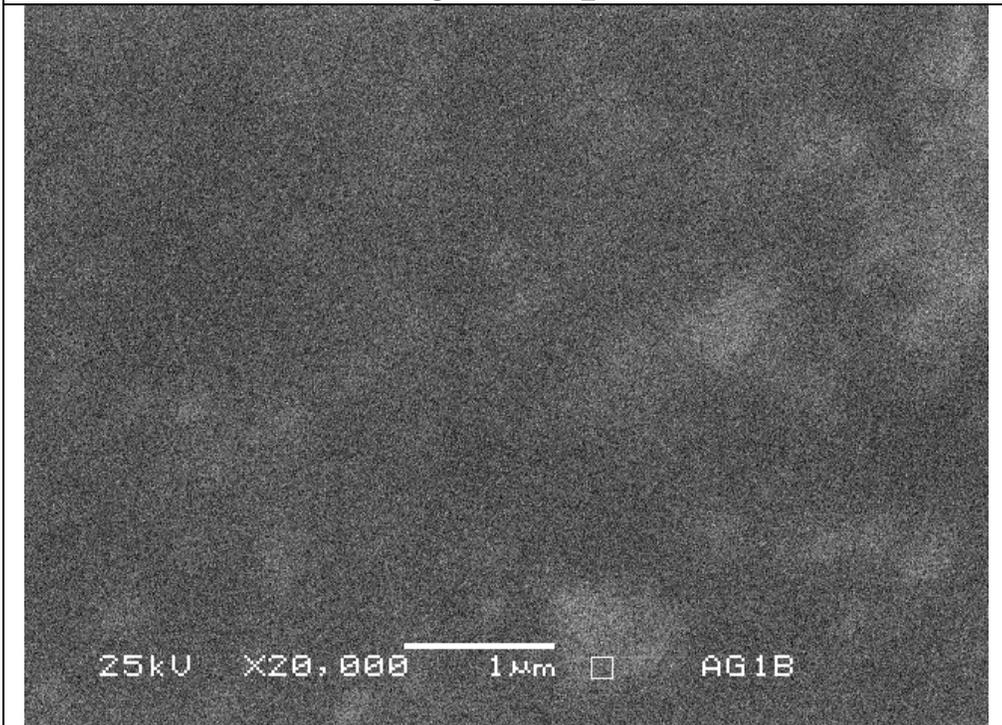


Imagen 108. AG1_B4

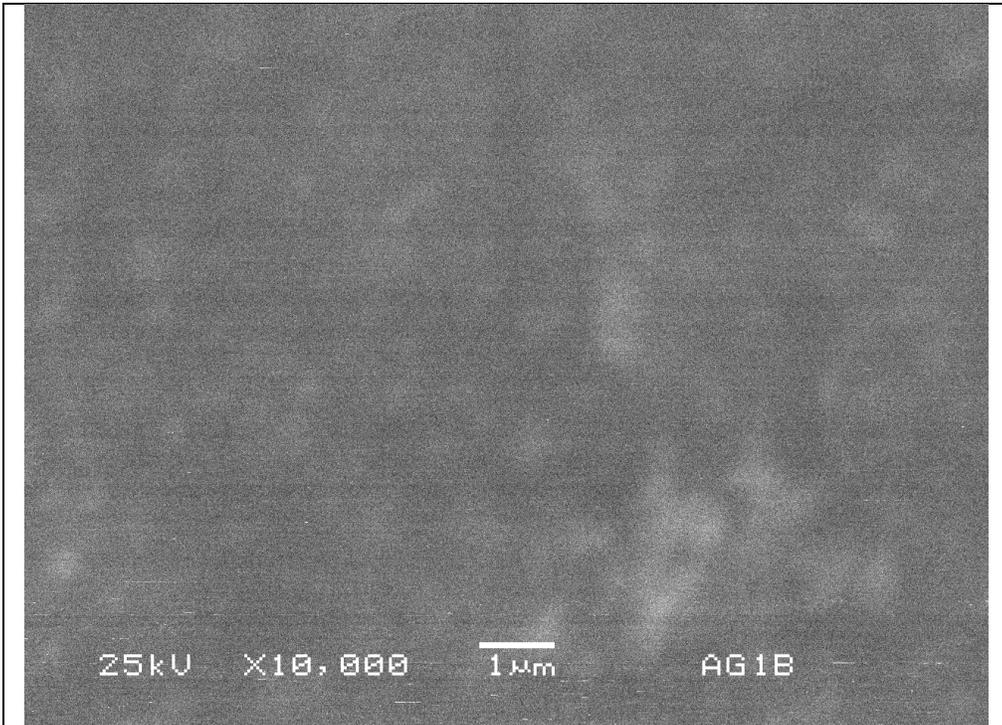


Imagen 109. AG1_B5

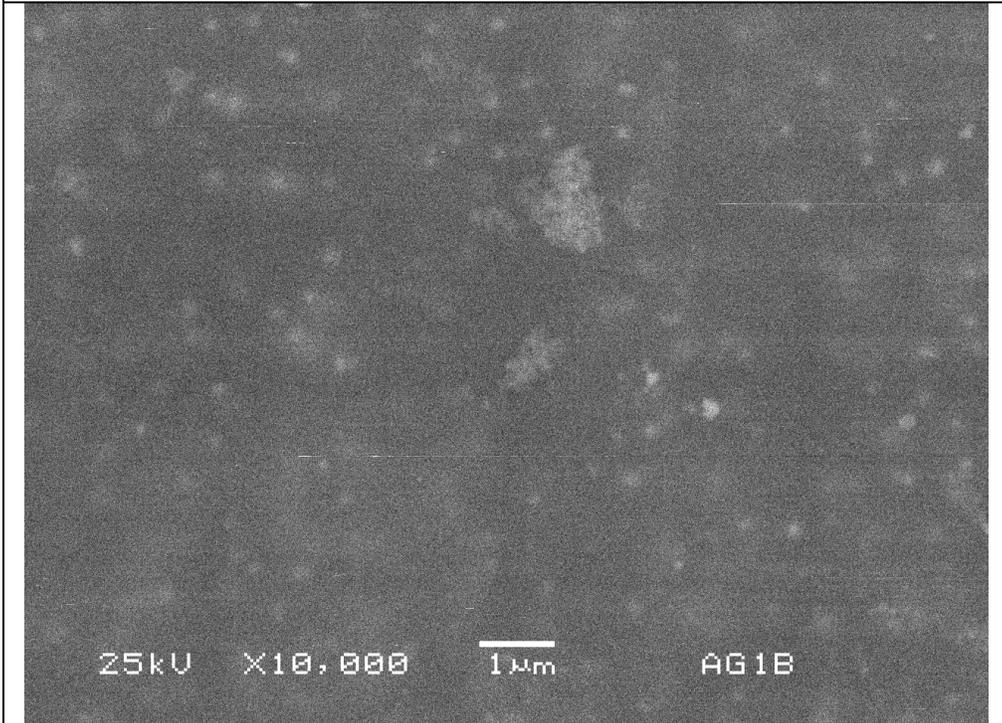


Imagen 110. AG1_B6

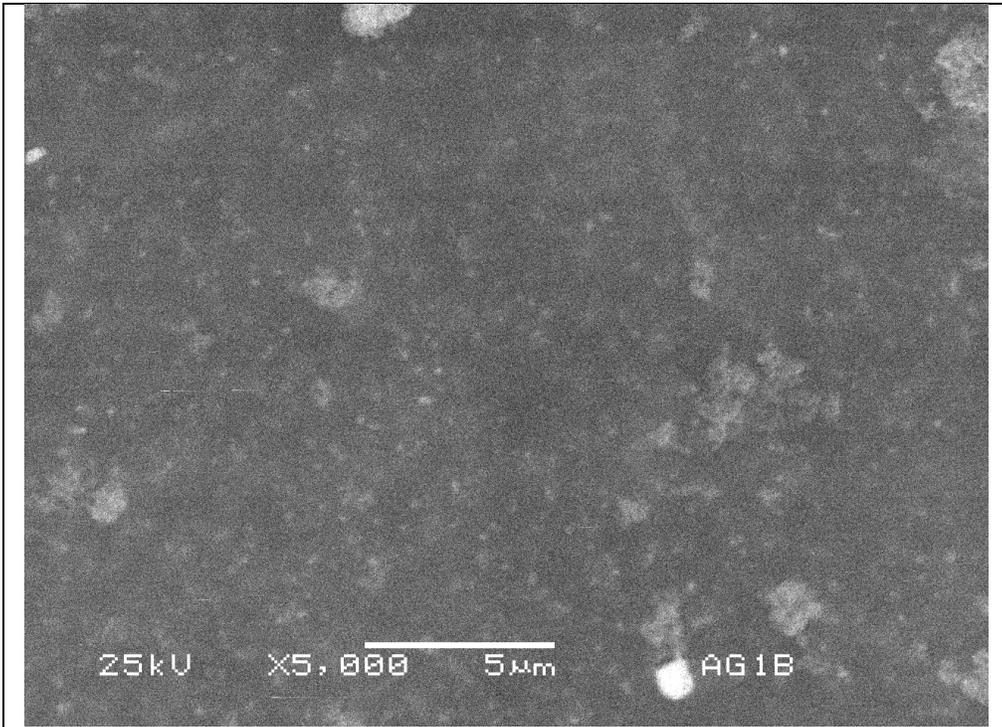


Imagen 111. AG1_B7

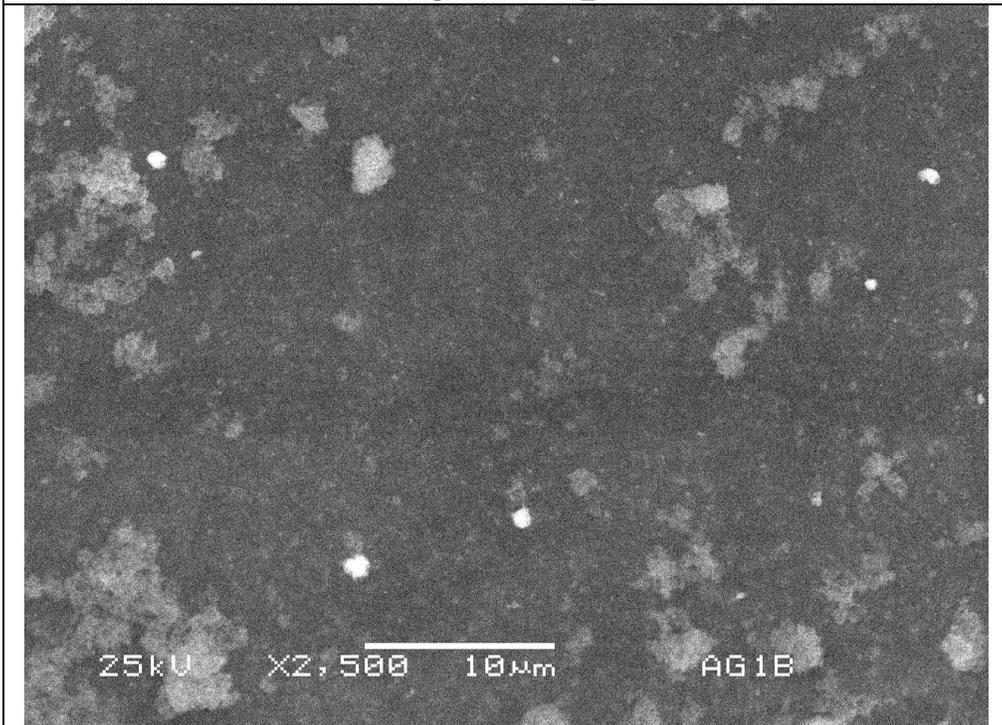


Imagen 112. AG1_B8

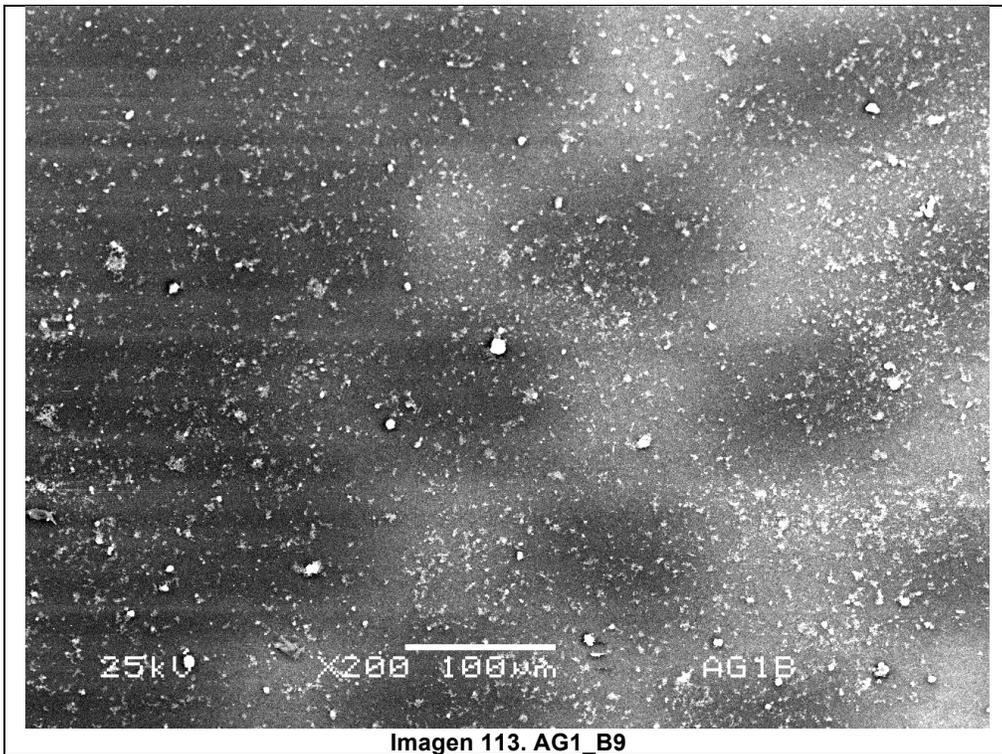


Imagen 113. AG1_B9

Registro de imagen en la muestra 2 posterior a la aplicación del biocida (Citricidal®)

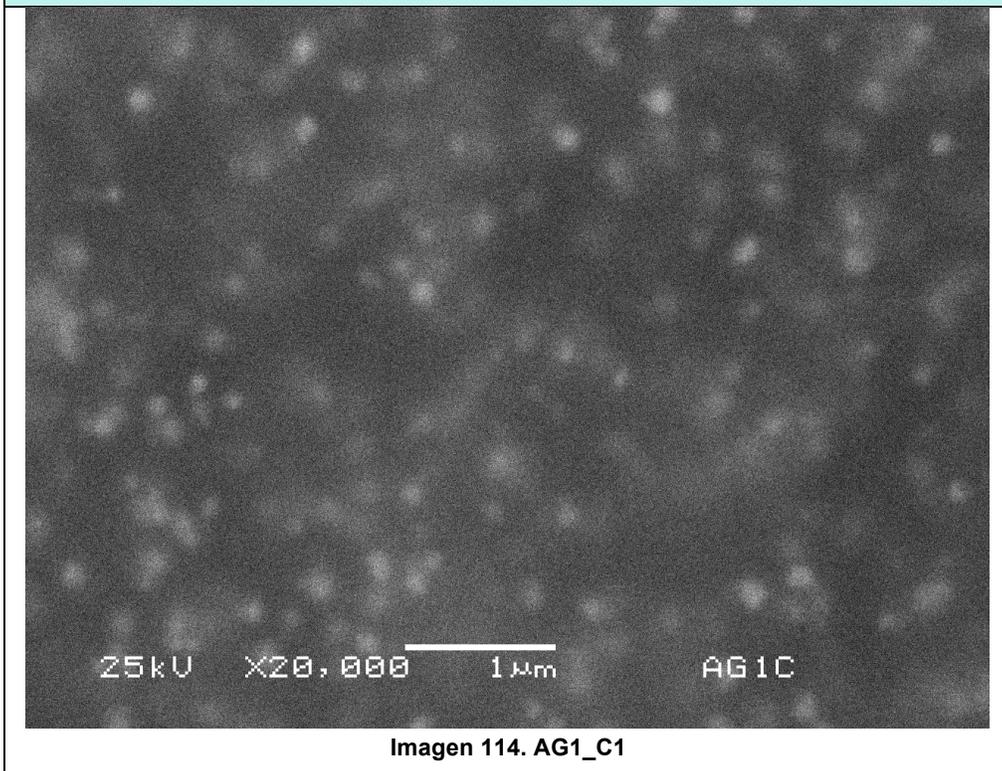


Imagen 114. AG1_C1

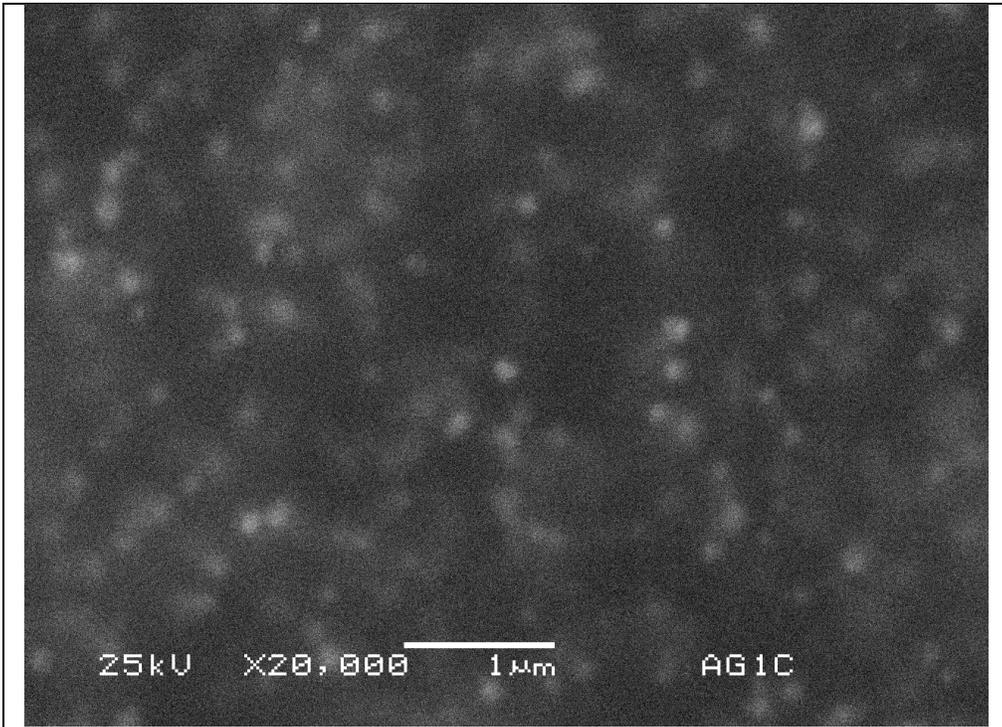


Imagen 115. AG1_C2

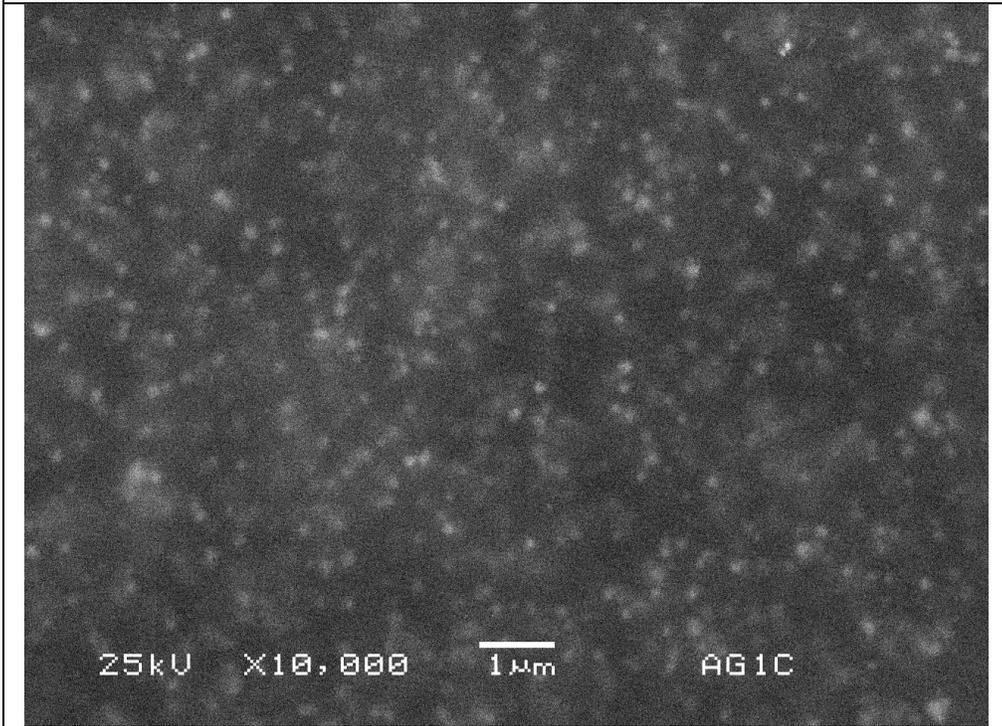


Imagen 116. AG1_C3

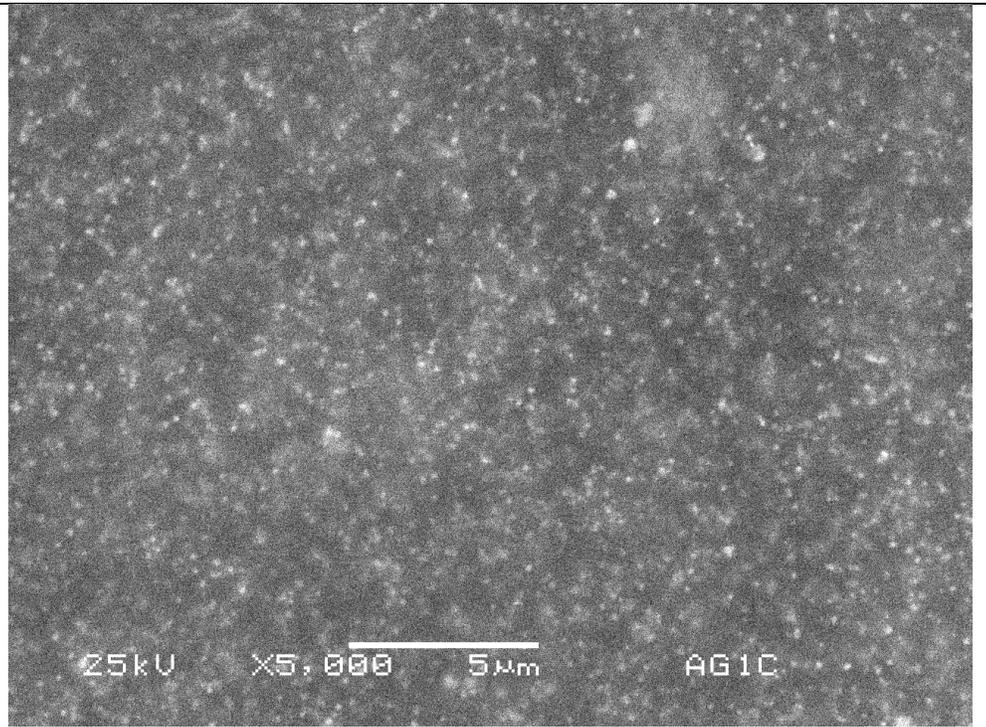


Imagen 117. AG1_C4

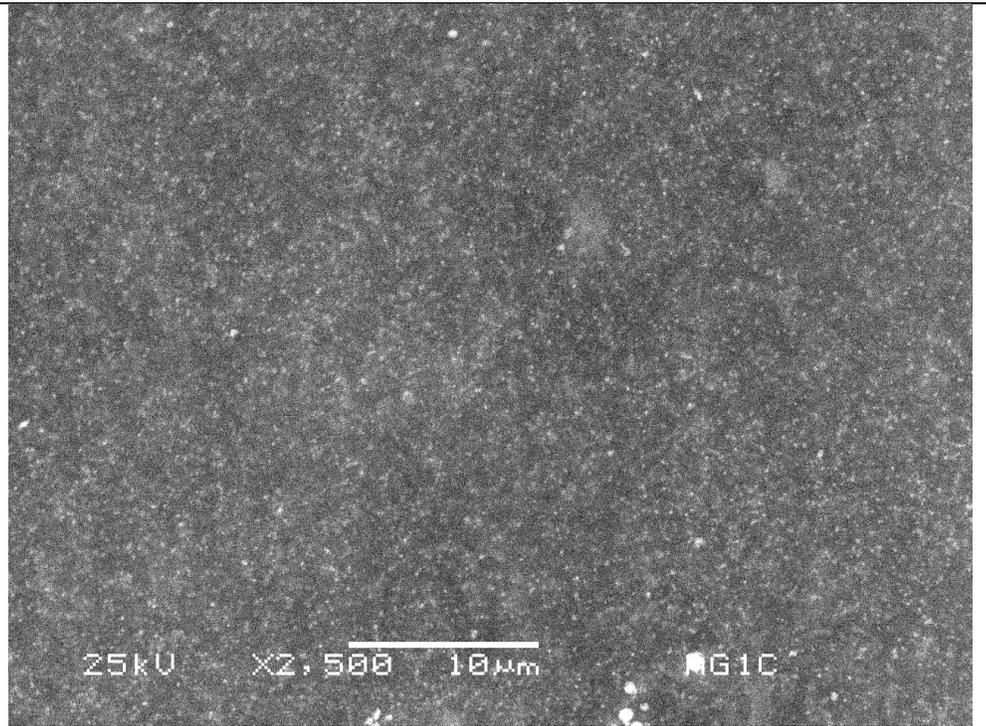


Imagen 118. AG1_C5

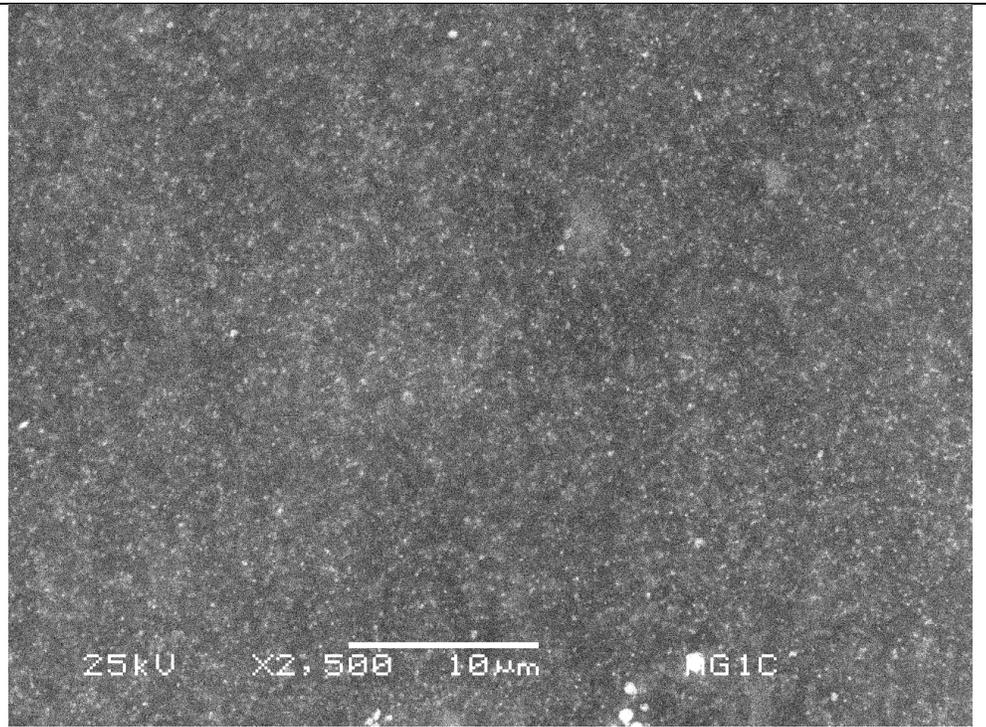


Imagen 119. AG1_C6

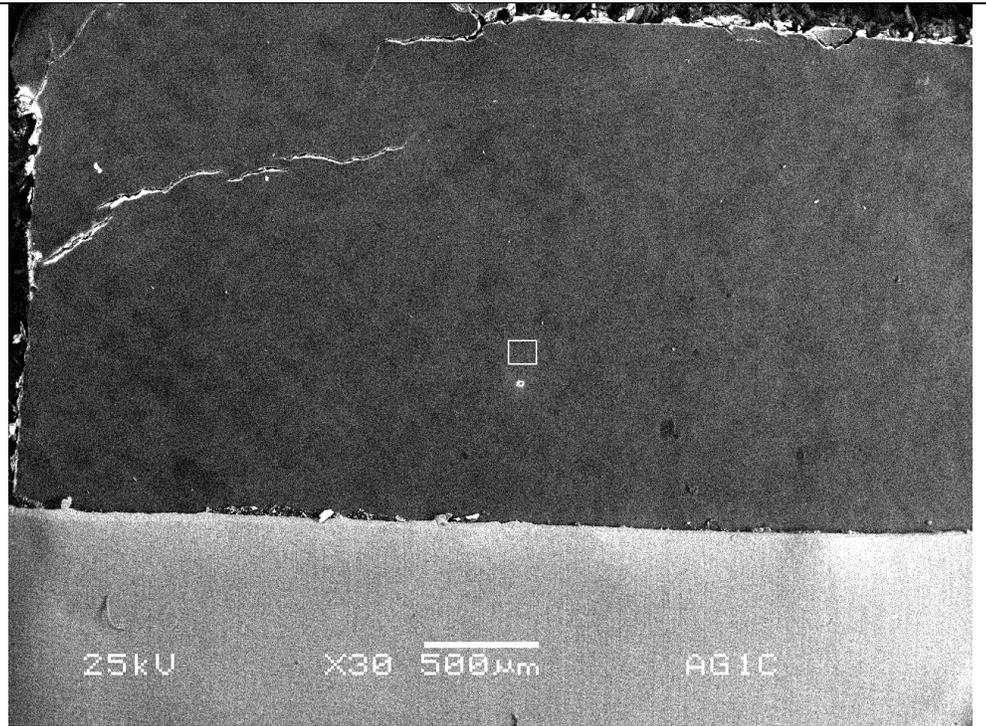


Imagen 120. AG1_C7

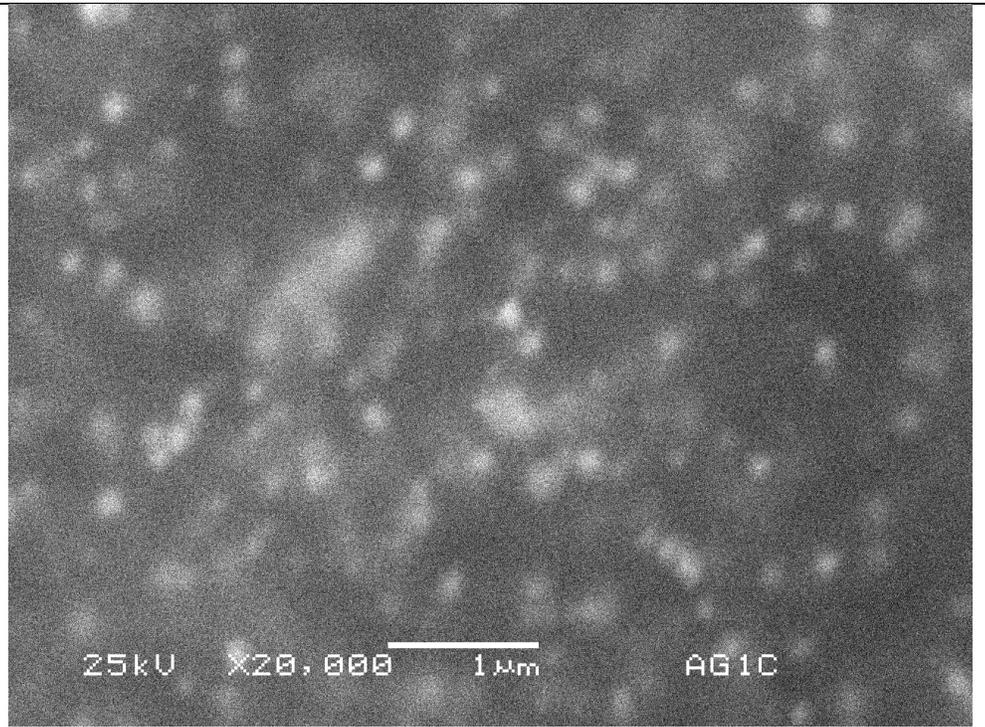


Imagen 121. AG1_C8

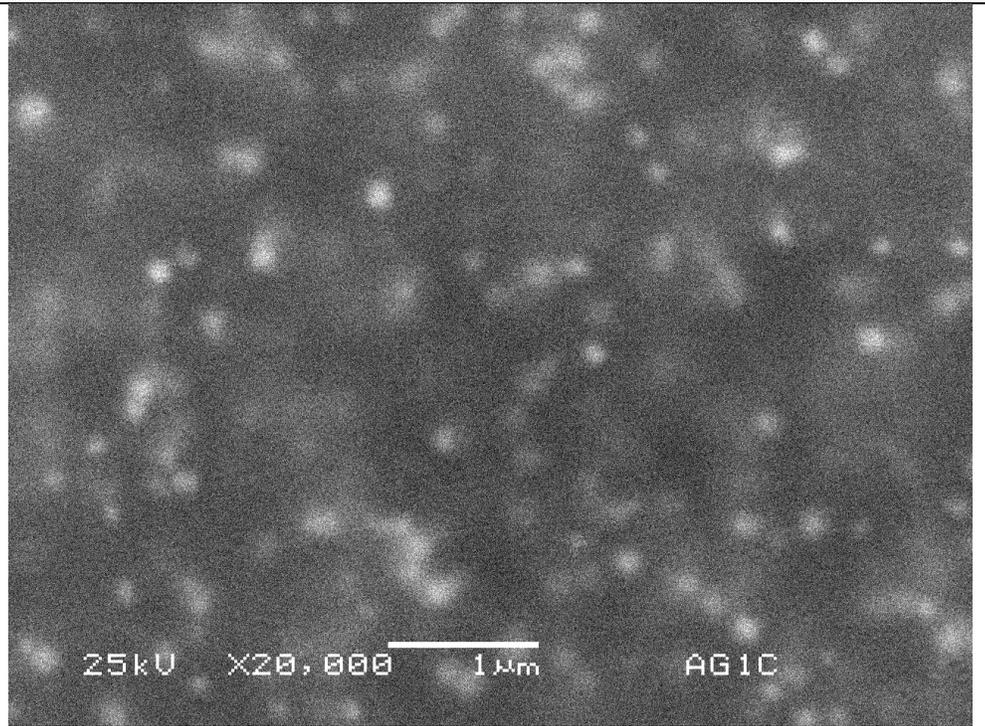


Imagen 122. AG1_C9

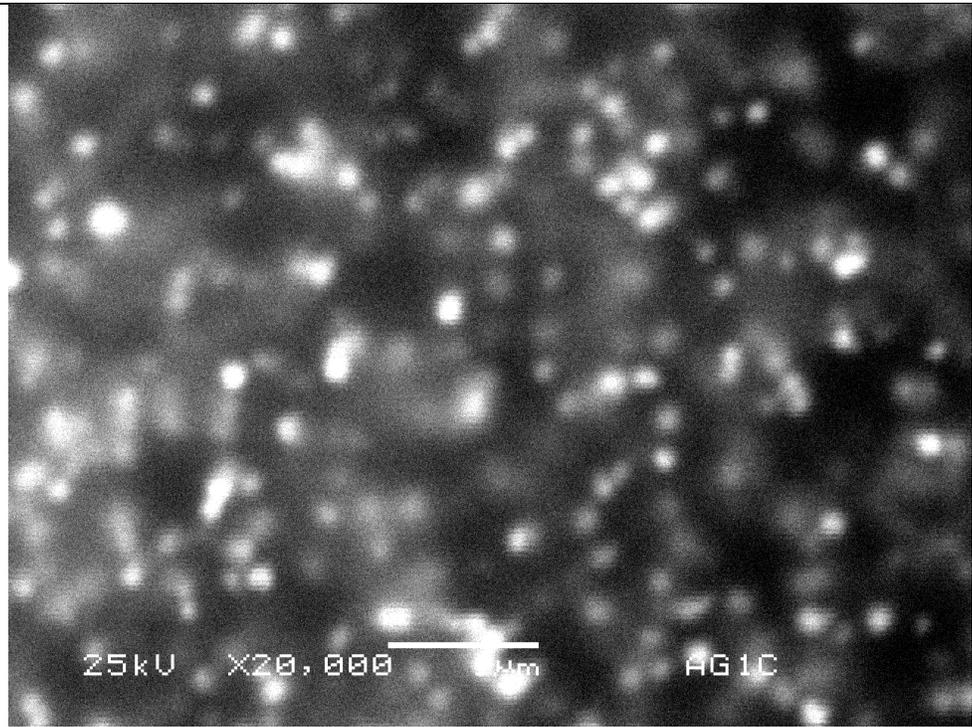


Imagen 123. AG1_C10

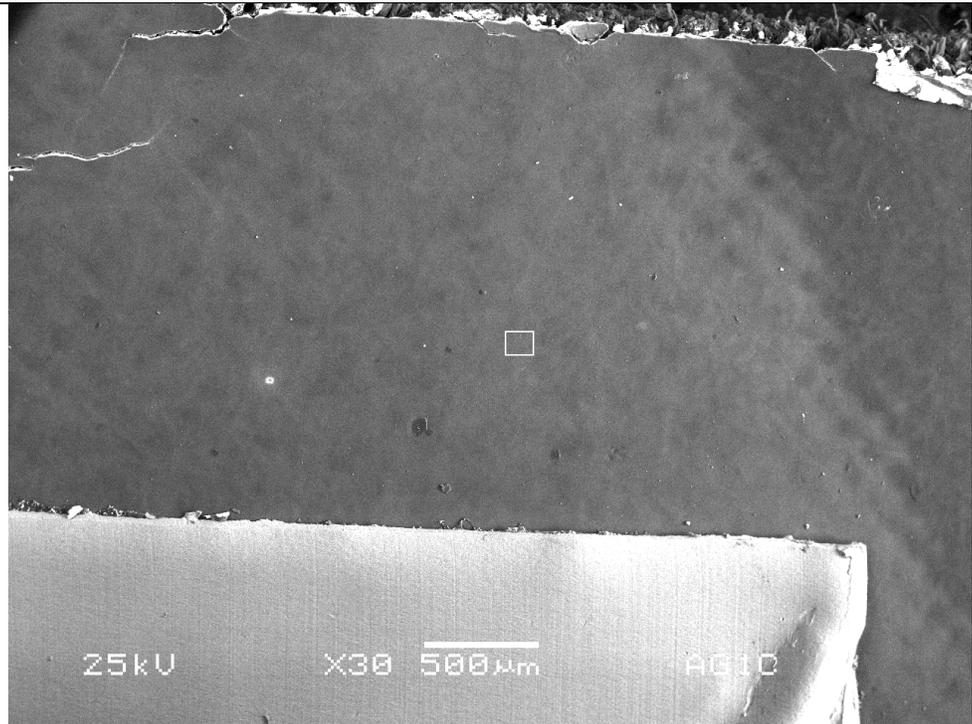


Imagen 124. AG1_C11

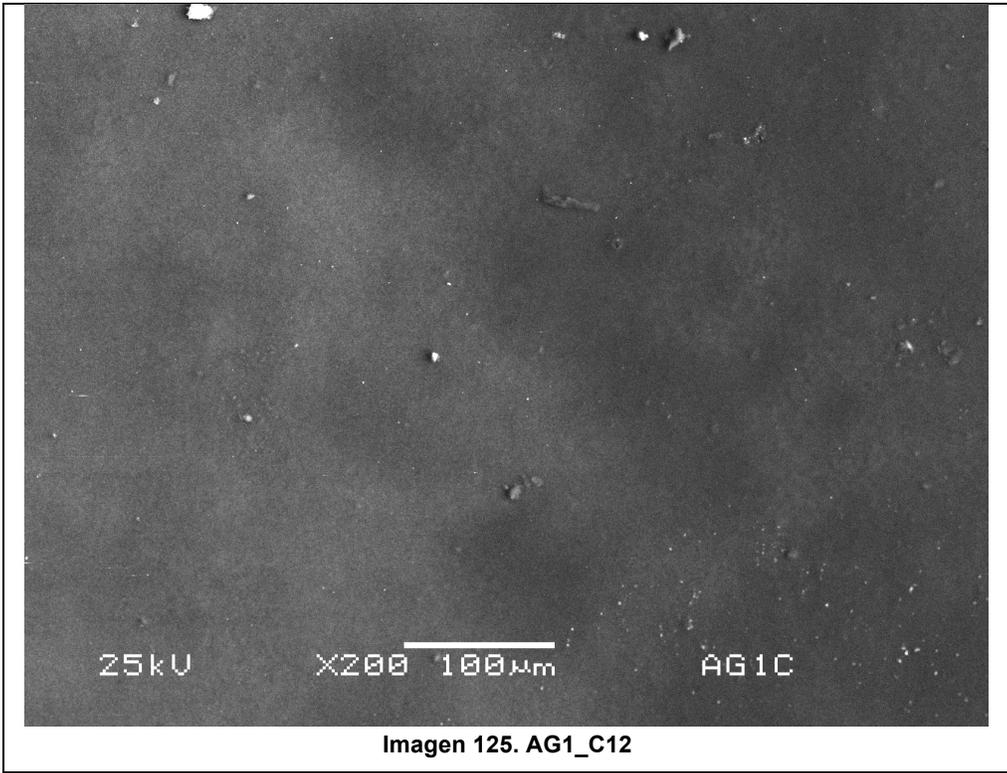


Imagen 125. AG1_C12

Valores iniciales y finales de las tomas colorimétricas

	Grupo rasgos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
1	SCI	92.85	-0.29	1.79	1.82	99.16
1	SCE	90.97	-0.28	1.94	1.96	98.35
2	SCI	37.9	-0.51	4	4.03	97.26
2	SCE	31.06	-0.8	4.85	4.91	99.34
3	SCI	56.65	-0.72	3.93	4	100.45
3	SCE	52.74	-0.87	4.33	4.42	101.41
4	SCI	92.69	-0.24	2.12	2.13	96.44
4	SCE	91.01	-0.24	2.25	2.27	96.06
5	SCI	37.12	-0.44	3.7	3.73	96.83
5	SCE	27.64	-0.68	6.49	6.53	95.98
6	SCI	54.79	-0.75	4.59	4.65	99.32
6	SCE	50.57	-0.89	5.26	5.33	99.61

Tabla 24. Valores iniciales de la fotografía tratada con agua y con etanol. 1 a 3 corresponden a la impresión posteriormente tratada con agua y 4 a 5 a la impresión posteriormente tratada con etanol.

	Grupo rasgos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
13	SCI	92.68	-0.25	1.99	2.01	97.24
13	SCE	90.71	-0.26	2.22	2.23	96.81
14	SCI	92.67	-0.25	1.99	2.01	97.24
14	SCE	90.69	-0.25	2.21	2.22	96.42
15	SCI	38.34	-0.57	3.49	3.54	99.24
15	SCE	28.64	-0.86	6.79	6.85	97.2
16	SCI	38.3	-0.58	3.5	3.54	99.39
16	SCE	28.59	-0.94	6.88	6.94	97.77
17	SCI	56.97	-0.82	3.7	3.79	102.51
17	SCE	52.34	-0.93	4.6	4.7	101.44
18	SCI	56.84	-0.83	3.69	3.78	102.63
18	SCE	52.19	-0.97	4.6	4.7	101.86
19	SCI	92.63	-0.25	2.3	2.32	96.09
19	SCE	90.72	-0.25	2.51	2.53	95.59
20	SCI	92.62	-0.26	2.32	2.34	96.38
20	SCE	90.72	-0.26	2.53	2.55	95.88
21	SCI	37.23	-0.52	3.45	3.49	98.49
21	SCE	26.7	-0.79	7.3	7.35	96.18
22	SCI	37.23	-0.52	3.45	3.49	98.55
22	SCE	26.72	-0.8	7.36	7.41	96.22
23	SCI	54.72	-0.86	4.32	4.4	101.27
23	SCE	49.84	-1.01	5.35	5.44	100.69
24	SCI	54.73	-0.86	4.33	4.41	101.24
24	SCE	49.89	-1.01	5.33	5.43	100.72

Tabla 25. Valores obtenidos en la fotografía después de la aplicación de agua destilada y etanol. 13 a 18 fueron mediciones en la fotografía tratada con agua y 18 a 24 en la fotografía tratada con etanol.

	Grupo rasgos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
1	SCI	92.92	-0.33	1.92	1.95	99.71
1	SCE	91.19	-0.34	1.99	2.02	99.8
2	SCI	92.57	-0.31	2.11	2.13	98.44
2	SCE	90.76	-0.32	2.28	2.3	98.12
3	SCI	58.91	-0.93	2.75	2.91	108.72
3	SCE	55.37	-1.1	2.89	3.09	110.91
4	SCI	61.28	-0.91	2.92	3.06	107.3
4	SCE	58.35	-1.06	2.94	3.13	109.81
5	SCI	36.06	-0.63	2.78	2.85	102.71
5	SCE	27.58	-1.11	4.15	4.3	104.98
6	SCI	35.88	-0.59	2.63	2.69	102.56
6	SCE	26.82	-1	4.3	4.41	103.04
7	SCI	92.52	-0.31	2.48	2.49	97.06
7	SCE	90.99	-0.31	2.54	2.56	96.97
8	SCI	92.44	-0.35	2.27	2.3	98.69
8	SCE	90.77	-0.36	2.39	2.41	98.53
9	SCI	55.7	-1.05	3	3.18	109.38
9	SCE	51.68	-1.25	3.35	3.57	110.41
10	SCI	54.49	-1.07	2.75	2.95	111.23
10	SCE	49.97	-1.26	3.29	3.52	110.93
11	SCI	34.56	-0.47	2.16	2.21	102.31
11	SCE	23.44	-0.84	4.96	5.04	99.6
12	SCI	34.86	-0.5	2.17	2.23	102.94
12	SCE	23.95	-0.9	5.14	5.22	99.95

Tabla 26. Mediciones iniciales de las impresiones tratadas con Éviter y Citricidal. Mediciones 1 a 6 corresponden a la imagen posteriormente tratada con Éviter® y 7 a 12 a la posteriormente tratada con Citricidal® al 2% en agua destilada.

	Grupo rasg	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
1	SCI	92.18	-0.13	2.68	2.69	92.69
1	SCE	90.61	-0.12	2.85	2.85	92.5
2	SCI	92.05	-0.11	2.71	2.71	92.43
2	SCE	90.44	-0.11	2.88	2.88	92.2
3	SCI	36.85	0.01	2.4	2.4	89.84
3	SCE	28.94	-0.12	3.37	3.37	92.02
4	SCI	36.79	-0.01	2.41	2.41	90.35
4	SCE	28.84	-0.11	3.45	3.45	91.79
5	SCI	55.55	-0.43	2.36	2.4	100.41
5	SCE	52.56	-0.49	2.7	2.74	100.22
6	SCI	55.52	-0.44	2.34	2.38	100.62
6	SCE	52.53	-0.5	2.68	2.73	100.49
7	SCI	90.86	-0.28	7.04	7.05	92.32
7	SCE	89.1	-0.27	7.39	7.39	92.1
8	SCI	90.68	-0.26	7.38	7.38	92
8	SCE	88.96	-0.23	7.71	7.72	91.72
9	SCI	34.51	-0.54	2.88	2.93	100.69
9	SCE	24.21	-0.91	4.59	4.68	101.24
10	SCI	34.58	-0.54	2.88	2.93	100.61
10	SCE	24.31	-0.91	4.59	4.68	101.26
11	SCI	53.85	-1.03	3.39	3.55	106.81
11	SCE	48.71	-1.2	4.27	4.44	105.73
12	SCI	53.78	-1.03	3.35	3.5	107.03
12	SCE	48.62	-1.19	4.25	4.41	105.66

Tabla 27. Mediciones después de la aplicación de los productos. Las mediciones 1 a 6 corresponden a la impresión tratada con Éviter® y 7 a 12 a las tratadas con Citricidal® al 2% en agua destilada.

Hoja técnica de la gelatina Talas® usada para las probetas



AGC A DIVISION OF HEALTH PROCESSES INC.
AMERICAN GELATIN COMPANY
P.O. Box 286 Binghamton, NY 13903
(800) 206-6555 * (607) 296-3813 * (607) 296-3816 Fax
americangelatin@gmail.com

SAFETY DATA SHEET – Gelatin

SECTION I – PRODUCT INFORMATION

PRODUCT / MATERIAL	Gelatin
MANUFACTURER'S NAME	American Gelatin Company Div. of Health Processes, Inc.
ADDRESS	PO Box 286 Binghamton, NY 13903
PHONE NUMBER	607-296-3813
EMERGENCY PHONE NUMBER	607-296-3813, Secondary: 800-206-6555
RECOMMENDED USE	Food, Pharmaceutical, Nutraceutical, Dietary Supplement.
RESTRICTIONS ON USE	N/A – Non-Hazardous, GRAS Status

SECTION II – HAZARDOUS INGREDIENTS

NOT APPLICABLE This product does not contain any reportable hazardous components as defined in 29 CFR 1910.1200

SECTION III – PHYSICAL DATA

INGREDIENTS	100% Gelatin
PROPERTIES	≥ 86% Protein
	≤ 12% Moisture
	≤ 2% Ash

SECTION IV – FIRST AID MEASURES

EYES	May cause eye irritation. Warm water rinse.
SKIN	May cause skin irritation
INGESTION	Not Toxic
INHALATION	Dust
MEDICAL CONDITIONS GENERALLY AGGRAVATED BY EXPOSURE	N/A

SECTION V – FIRE AND EXPLOSION HAZARD DATA

FLASH POINT	N/A
FLAMMABLE LIMITS	N/A
EXTINGUISHING MEDIA	Water, Foam, CO, & ABC Powder Extinguisher
UNUSUAL FIRE OR EXPLOSION HAZARDS	None
SPECIAL FIRE FIGHTING PROCEDURES	Treat as typical combustible product fire
AUTO-IGNITION TEMPERATURE	N/A
HAZARDOUS COMBUSTION PRODUCT	Can decompose at high temperatures forming toxic gasses.

SECTION VI – ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

METHODS FOR CLEAN-UP This material is non-hazardous waste as specified in 40 CFR 261. Handle as a biodegradable powder.

SECTION VII – HANDLING AND STORAGE

HANDLING	N/A
STORAGE	Store in cool, dry area. Temperatures in excess of 113°F and 60% humidity can lead to protein degradation and encourage microbial proliferation.

SINCE AMERICAN GELATIN CO. HAS NO CONTROL OVER HOW THE PURCHASER STORES, HANDLES, OR USES THESE PRODUCTS, NO WARRANTY IS MADE EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, WITH RESPECT TO THESE PRODUCTS, THEIR MERCHANTABILITY, THEIR FITNESS FOR ANY PURPOSE OR FOR RESULTS TO BE OBTAINED FROM THEIR USE. NO REPRESENTATIVE OF AMERICAN GELATIN CO. HAS AUTHORITY TO WAIVE OR CHANGE THIS PROVISION, WHICH APPLIES TO ALL SALES AND SAMPLES.

www.talasonline.com

330 Morgan Ave Brooklyn, NY 11211 | 212-219-0770 | info@talasonline.com



AGC A DIVISION OF HEALTH PROCESSES INC.
AMERICAN GELATIN COMPANY

P.O. Box 286 Binghamton, NY 13903
(800) 206-6555 * (607) 296-3813 * (607) 296-3816 Fax
americangelatin@gmail.com

SECTION VIII – EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

RESPIRATORY PROTECTION N/A
VENTILATION RECOMMENDED Local Exhaust, usual / Mechanical (General), usual
EYE PROTECTION Safety Glasses

SECTION IX – PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

VAPOR PRESSURE N/A
VAPOR DENSITY N/A
SOLUBILITY IN WATER Complete in hot water
SPECIFIC GRAVITY >1
PERCENT VOLATILE PER WEIGHT 0%
EVAPORATION RATE N/A
APPEARANCE AND ODOR Granulated white to amber colored powder, no odor
pH (6.67%) 3.8-6.8
BOILING POINT N/A
FREEZING POINT / MELTING POINT N/A
VISCOSITY (6.67% @60°C) 20-80 mps

SECTION X – REACTIVITY DATA

STABILITY FACTOR Product is Stable
INCOMPATIBILITY N/A
HAZARDOUS DECOMPOSITION PRODUCTS N/A
CONDITIONS TO AVOID None
POSSIBLE HAZARDOUS REACTIONS None

SECTION XI – TOXICOLOGICAL INFORMATION HEALTH HAZARD DATA

THRESHOLD LIMIT VALUE Not established. All ingredients Food Grade.
EFFECTS OF OVEREXPOSURE Unknown. May be irritating to skin and eyes.
DERMAL IRRITATION Mild Irritant
OCULAR IRRITATION Suspect Irritant
ORAL TOXICITY Not Toxic

SECTION XII – ECOLOGICAL INFORMATION

ECOTOXICITY Not established
PERSISTENCE AND DEGRADABILITY Not established
BIOACCUMULATIVE POTENTIAL Not established
MOBILITY IN SOIL Not established

SECTION XIII – DISPOSAL CONSIDERATION

WASTE DISPOSAL METHOD Can be incinerated in an approved combustion disposal or disposed of in an approved landfill according to applicable regulations.

SECTION XIV – TRANSPORTATION INFORMATION

DOT Not considered hazardous
IATA Not considered hazardous

SECTION XV – REGULATORY INFORMATION

Not applicable

SECTION XVI – OTHER INFORMATION

DATE OF PREPARATION March 12, 2015

SINCE AMERICAN GELATIN CO. HAS NO CONTROL OVER HOW THE PURCHASER STORES, HANDLES, OR USES THESE PRODUCTS, NO WARRANTY IS MADE EITHER EXPRESSED OR IMPLIED, WITH RESPECT TO THESE PRODUCTS, THEIR MERCHANTABILITY, THEIR FITNESS FOR ANY PURPOSE OR FOR RESULTS TO BE OBTAINED FROM THEIR USE. NO REPRESENTATIVE OF AMERICAN GELATIN CO. HAS AUTHORITY TO WAIVE OR CHANGE THIS PROVISION, WHICH APPLIES TO ALL SALES AND SAMPLES.

Ficha técnica del Citricidal®



CITRICIDAL

Extracto de la semilla y pulpa de Toronja

Amplio Espectro Antimicrobiano

Antibacteriano
Antiparasitario
Antimicótico
Antiviral

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Descripción del Producto

CITRICIDAL es un antimicrobiano de amplio espectro extraído de la semilla y pulpa de la toronja.

Aplicación

CITRICIDAL es un bactericida, fungicida, antiviral y antiparasitario de amplio espectro extremadamente potente y efectivo.

CITRICIDAL es ambientalmente seguro, con una baja toxicidad para el ser humano y animales.

Modo de Acción

Los estudios indican que la actividad antimicrobiana de **CITRICIDAL** se efectúa en la membrana citoplásmica donde se evita la absorción de aminoácidos.

Biodegradabilidad

CITRICIDAL es biodegradable acorde al "Método de Prueba estándar para la determinación del potencial de biodegradación anaeróbica de los químicos orgánicos", ASTM standards, sección 11, Agua y Tecnología ambiental, procedimiento E 1196-2, pp. 879-901, 1993.

Usos

Agricultura: Bactericida y fungicida en el tratamiento de la pre y post cosecha.
Rango: 50 a 250 ppm.

Peces y aves: Desinfectante para pescado fresco y aves, conservador para pescado y aves procesadas: Rango: 100 a 1000 ppm.

Alimento para animales: Inhibidor de moho y antiparasitario.
Rango: 50 a 250 ppm.

Comida: Conservador y antioxidante. Rango: 10 a 250 ppm.

Cosméticos: Conservador y antimicrobiano. Rango: 1000 a 10000 ppm.

Tratamiento de Agua: Desinfectante para agua contaminada.
Rango: 50 a 250 ppm.

Terapéutica: Rango: 50 a 200 mg/dosis.

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México

Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com

Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Propiedades Físicas

Descripción Química: Difenol Hidroxibenceno.
Apariencia (líquido): Líquido, viscoso.
Color: 2, Amarillo Limón.
Olor: Moderadamente cítrico.
Gravedad Específica (d25°C): 1.110
Densidad (lbs. /gal.): 9.5
pH (d25°C): 2.0 – 3.0
Punto de Ignición: 300°F
Viscosidad: 134.91
Peso Molecular: 565
Solubilidad: Agua, alcohol y solventes orgánicos.
Vida de Anaquel: 6 años (a partir de la fecha de producción)

Fórmula Química

CITRICIDAL (Extracto Líquido)
Extracto de Toronja 56-60%
Glicerina Vegetal USP 35-39%
Ácido Ascórbico 2-4%

Toxicidad

Toxicidad oral aguda: LD50 sobre 5000 mg/kg de peso corporal vivo.

Toxicidad crónica (aguda oral con alimentación continua y estudios de reproducción por 24 meses): LD50 sobre 2500 mg/kg de peso corporal vivo (ratas y conejillos de indias).

Toxicidad oral aguda (estudio de alimentación continua con harina de pescado por 12 meses): LD50 sobre 5000 mg/kg de peso corporal vivo (ratas adultas 12 meses).
LD50 sobre 400 mg/kg de peso corporal vivo (ratas recién nacidas).

Toxicidad Dérmica: No es irritante ni corrosiva a la piel primaria.

Carcinogenicidad: Pruebas durante 12 meses en ratones no mostraron efecto cancerígeno.

Estudio de inhalación prolongada: Exposición de 8 horas diarias en una cámara cerrada, 5 días a la semana durante 90 días, no causaron ningún efecto en aire con 100 -150 mg/m³.

Toxicidad Dérmica (carcinogenicidad): 2 años de estudios con ratas y ratones no mostraron efectos cancerígenos, ni sistémicos.

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>

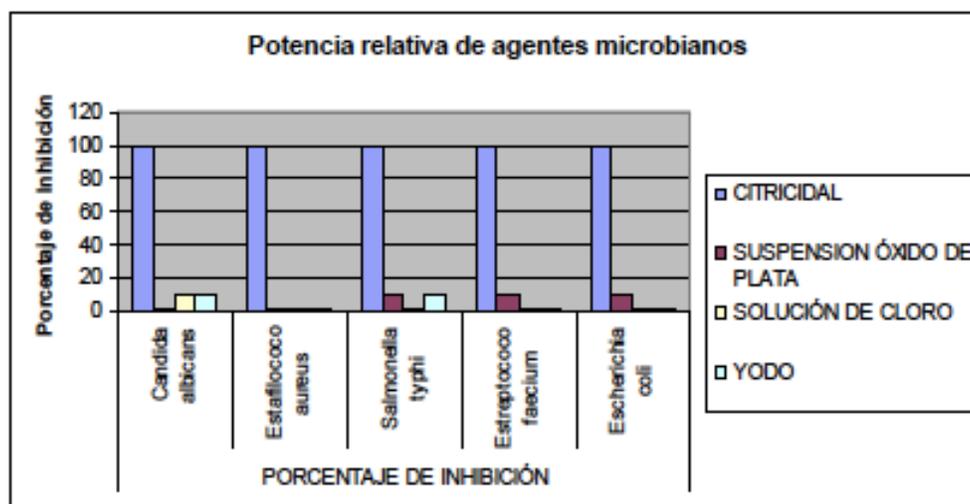


Irritación en ojos: En forma directa causa severa irritación con ligero daño en iris. Concentraciones del 0.5%, 1% y 2% producen irritación y eritema moderado.

Los siguientes análisis muestran que **CITRICIDAL** puede ser utilizado en una amplia gama de aplicaciones, ofreciendo un desempeño superior comparado con los agentes microbianos comúnmente usados.

Potencia Relativa de Agentes Antimicrobianos.

El estudio de concentración inhibitorio mínimo es un ensayo empleado para evaluar la potencia relativa de **CITRICIDAL** comparado con otros agentes antimicrobianos. Este estudio demostró que **CITRICIDAL** es 10 o 100 veces más efectivo que otros agentes contra los organismos usados en este estudio.

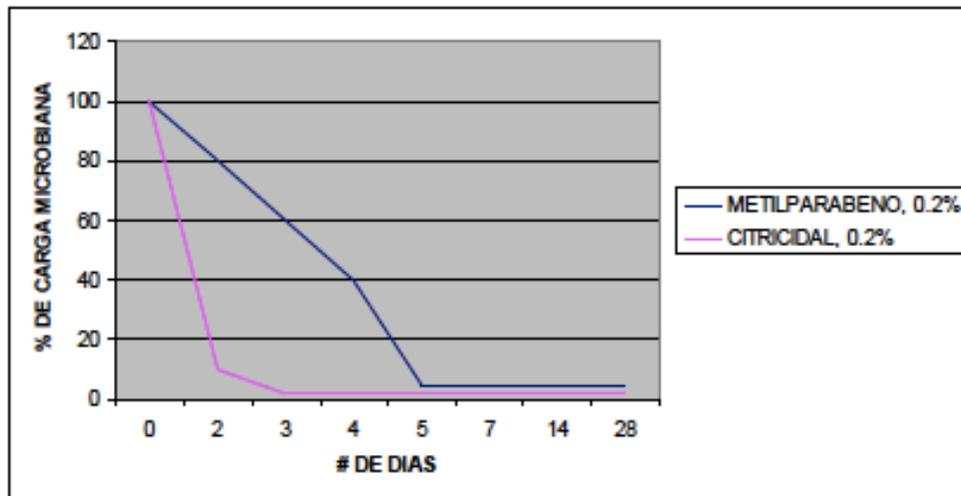


Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Prueba de Conservadores USP.

La prueba de conservadores USP evalúa la capacidad de un producto para resistir un ataque microbiano. Es diseñada para determinar si el producto está protegido contra microorganismos, los cuales pudieran alterar la calidad e integridad de la formulación final. Este estudio demuestra que **CITRICIDAL** es tan efectivo como el metilparabeno en dar cumplimiento con lo establecido para pruebas de conservadores USP eficaces. También se demostró que **CITRICIDAL** actúa más rápidamente en reducir la concentración de organismos viables.



100% concentración de organismos viables:
Ps.aeruginosa
E. coli
S. aureus
C. albicans
A. niger

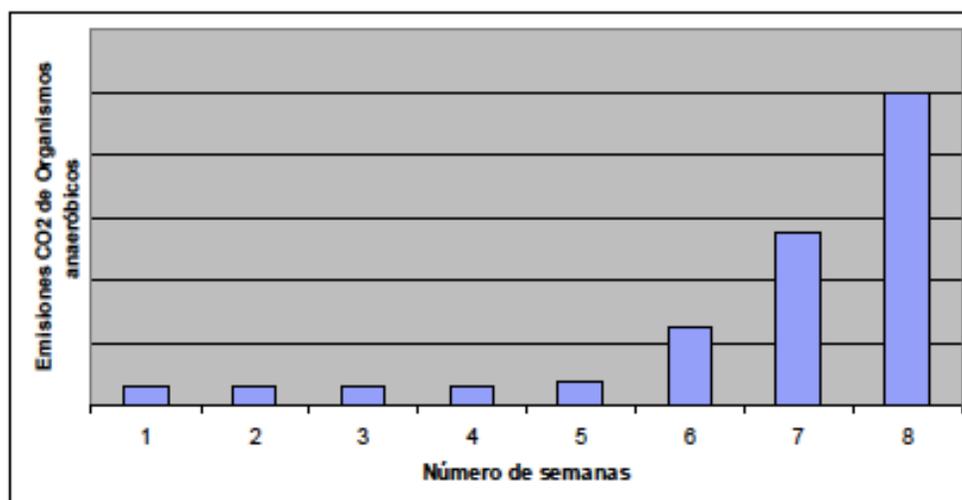
Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Evaluación de Biodegradabilidad de CITRICIDAL

La biodegradabilidad de CITRICIDAL es establecida por el "método de prueba estándar para la determinación del potencial de biodegradación anaeróbica de químicos orgánicos", ASTM Standars, Sección II, Agua y Tecnología ambiental, Procedimiento E 1196-2, pp 879-901, 1993.

CITRICIDAL tiene un efecto inhibitorio sobre la producción de dióxido de carbón en un sistema de digestión anaeróbica en las primeras cuatro semanas. Al término de ocho semanas, la producción de gas alcanzada es el máximo teórico demostrando que CITRICIDAL es biodegradable usando los procedimientos de prueba aceptados.



Especificaciones de Embalaje

Extracto Líquido: Bidones de plástico de 5, 10 y 20 kilogramos.

Extracto en Polvo: Bolsa de plástico de 1, 10 y 20 kilogramos.

CITRICIDAL (como un extracto natural) es citado como "Generalmente Reconocido como Seguro" GRAS por sus siglas en inglés (Generally Recognized as Safe) en el Código de Regulaciones Federales 21 CFR 182.20.

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México

Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com

Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



CITRICIDAL ha sido evaluado comprobando su seguridad para el ser humano y animales, incluyendo el medio ambiente. **CITRICIDAL** es considerado No Tóxico y No Irritante en diluciones arriba del 2%. **CITRICIDAL** es también considerado como No Corrosivo.

CAS No. 90045-43-5

CTFA: Extracto de Toronja

Nota.-**CITRICIDAL** debe ser manejado con cuidado. Evite contacto con los ojos y evite respirar los vapores por tiempo prolongado. Cualquier contacto con la piel debe enjuagarse vigorosamente con agua.

CITRICIDAL Concentración mínima inhibitoria IN-VITRO (MIC)

Bacteria Gram-negativa	Origen y cepa No.	MIC (ppm)
Aerobacter aerogenes	CITM 413	20
Alcaligenes faecalis	A	2000
Brucella intermedia	A	2
Brucella abortus	NCTC 8226	2
Brucella melitensis	A	2
Brucella suis	A	2
Cloaca cloacae	NCTC 8155	6
Escherichia coli	NCTC 86	2
Escherichia coli	ATCC 9663	6
Escherichia coli	NCTC 9001	6
Haemophilus influenzae	A	660
Klebsiella edwardsii	NCTC 7242	6
Klebsiella aerogenes	NCTC 8172	6
Klebsiella pneumoniae	ATCC 4352	6
Legionella pneumoniae	aislado	200
Loefflerella mallei	NCTC 9674	6
Loefflerella pseudomallei	NCIB 10230	20
Moraxella duplex	A	2
Moraxella glucidolytica	A	6
Neisseria catarrhalis	NCTC 3622	660
Pseudomonas capacia	C-175	5000
Pasteurella septica	NCTC 948	2
Pasteurella pseudotuberculosis	C.-G.	200
Proteus vulgaris	NCTC 8313	2
Proteus mirabilis	A	6
Pseudomonas aeruginosa	NCTC 1999	2000
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 12055	20000
Pseudomonas fluorescens	NTCC 4755	2000
Salmonella choleraesuis		50
Salmonella enteritidis	A	6
Salmonella gallinarum		50
Salmonella typhimurium	NCTC 5710	6
Salmonella typhi	NCTC 8384	6
Salmonella paratyphi A	NCTC 5322	6
Salmonella paratyphi B	NCTC 3176	6
Salmonella pullorum	ATCC 9120	6
Serratia marcescens	A	2000
Shigella flexneri	NCTC 8192	6
Shigella sonnei	NCTC 7240	3
Shigella dysenteriae	NCTC 2249	2
Vibrio cholerae	A	200
Vibrio eltor	NCTC 8457	200

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México

Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com

Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Bacteria Gram-positiva	Origen y cepa No.	MIC (ppm)
Bacillus subtilis	NCTC 8236	2
Bacillus megatherium	A	60
Bacillus cereus	A	60
Bacillus cereus var. mycoides	A	60
Clostridium botulinum	NCTC 3805	60
Clostridium tetani	NCTC 9571	60
Corynebacterium acnes	ATCC 6919	60
Corynebacterium diphtheriae	ATCC 6917	60
Corynebacterium diphtheriae	NTCC 3984	60
Corynebacterium diphtheriae	A	60
Corynebacterium minutissimum	ATCC 6501	100
Diplococcus pneumoniae	NCTC 7465	60
Lactobacillus arabinosus	CITM 707	66

Bacteria Gram-positiva	Origen y cepa No.	MIC (ppm)
Lactobacillus arabinosus	ATCC 8014	66
Lactobacillus casei	CITM 707	100
Listeria monocytogenes	ATCC 15313	20
Mycobacterium tuberculosis	A	2000
Mycobacterium smegmatis	NCTC 8152	20
Mycobacterium phlei	A	6
Sarcina lutea	NCTC 196	60
Sarcina ureae	ATCC 6473	2
Staphylococcus aureus	NCTC 7447	2
Staphylococcus aureus	NCTC 4163	2
Staphylococcus aureus	NCTC 6571	6
Staphylococcus aureus	NCTC 6966	2
Staphylococcus aureus	ATCC 13709	2
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	2
Staphylococcus albus	NCTC 7292	2
Staphylococcus albus	C.-G.	6
Streptococcus agalactiae	NCTC 8181	60
Streptococcus haemolyticus A	A	20
Streptococcus faecalis	NCTC 8619	200
Streptococcus faecalis	ATCC 10541	60
Streptococcus pyogenes	NCTC 8322	60
Streptococcus viridans		20

Hongos y Levaduras	Origen y cepa No.	MIC (ppm)
Aspergillus niger	ATCC 6275	600
Aspergillus fumigatus	ATCC 9197	200
Candida albicans	A	60
Candida albicans	ATCC 10259	60
Epidermophyton floccosum	ATCC 10227	200
Keratinomyces ajelloi	A	200
Monilia albicans		10
Saccharomyces cerevisiae		60
Trichophyton mentagrophytes	ATCC 9533	20
Trichophyton rubrum	A	200
Trichophyton tonsurans	A	200

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>



Organismos Adicionales

Giardia lamblia
Entamoeba histolytica
Chlamydia trachomatis
Herpes simplex virus tipo 1
Influenza A2 virus
Helicobacter pylori
Campylobacter jejuni

Los datos presentados están basados en experimentos e información considerada como confiable y precisa. No hay garantía ya sea expresa o implícita en cuanto a esta información. No se asume responsabilidad por los resultados en procesos y aplicaciones en los cuales Regenesis Inc. no tiene control.

Grosellas No. 21 Lomas de San Mateo, Naucalpan, 53200 Edo. de México
Tel. 5562-7212 e-mail: ventas@distribuidora-hidalgo.com
Sitio web <http://www.distribuidora-hidalgo.com>