

Evaluación de tratamientos con láser y biocidas para la eliminación de agentes biológicos que inducen biodeterioro

Carmen Ascaso, Jacek Wierzchos y Asunción de los Ríos



Grupo de Ecología Microbiana y Geomicrobiología del Sustrato Lítico, ECOGEO, MNCN-CSIC
Departamento de Biogeoquímica y Ecología Microbiana, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). C/Serrano 115 dpdo., 28006 Madrid



Grupo ECOGEO. MNCN-CSIC. De izquierda a derecha: Asunción de los Ríos, Carmen Ascaso, Jacek Wierzchos, Elena Gutiérrez, María Cristina Casero, Carlos Arroyo

Como ya fue descrito en el número de Sem@ foro de diciembre de 2013, nuestro Grupo de investigación lleva estudiando la alteración de materiales rocosos por acción de líquenes y microorganismos desde sus orígenes y realizando estudios de biodeterioro asociado al Patrimonio Cultural desde el año 1990. Más recientes son las investigaciones sobre el uso de biocidas para frenar el biodeterioro en monumentos, las cuales comenzaron en 2002 con trabajos basados en estudios por microscopía, para luego ser afrontados con la doble aproximación de combinación de técnicas de microscopía y biología molecular. Desde ese momento se han llevado a cabo numerosas investigaciones para evaluar los efectos de la aplicación de biocidas tanto en piedra de cantera (como campo de pruebas) como en edificios emblemáticos. En los últimos años se ha ampliado el espectro de biocidas testados sobre líquenes y microorganismos y se han combinado estos tratamientos químicos con métodos físicos, como las irradiaciones con láser, tanto en experimentos de campo como de laboratorio.

Dentro del programa Geomateriales 2 (S2013/MIT-2914), para conocer la efectividad de los

métodos físicos y químicos en la erradicación de los organismos causantes de biodeterioro, se aplicaron en campo estos dos tipos de tratamientos, bien separadamente, o combinados. En el año 2012 se llevó a cabo el ensayo de un tratamiento con láser portátil y biocidas sobre talos de *Verrucaria nigrescens* presentes en dolomías de la cantera de Redueña. Durante varios años se ha ido evaluando la eficacia tanto de las irradiaciones con el láser como de la aplicación de los biocidas Koretrel y New Des 50. La aplicación de un láser de Nd:YAG pulsado de nanosegundos (ns), operando en modo de conmutación Q (Q-switched), a 1064 nm, (CTS Art Laser) sobre los talos líquénicos, mostró poca efectividad tras la irradiación, observándose sólo daños en las partes de los talos líquénicos que habían recibido directamente el impacto (Álvarez de Buergo *et al.* 2013) deduciéndose que, para inactivar los simbiontes líquénicos, podrían necesitarse mayores densidades superficiales de energía. Sin embargo, este láser mostró una eficacia mayor en la erradicación de pátinas de cianobacterias. El tratamiento biocida más eficaz fue la aplicación de New Des 50, pero los mejores resultados se obtuvieron cuando se aplicó tras irradiación con el láser (de los Ríos *et al.* 2016).

El Grupo ha evaluado, en laboratorio, y en colaboración con el Grupo LANAPAC-IQFR (CSIC), el efecto del láser sobre rocas de la cantera de Redueña colonizadas por *V. nigrescens*, aplicando pulsos ns de un láser Q-switched Nd:YAG a 1064 y 355 nm. Las condiciones óptimas para eliminar los talos sin dañar el sustrato se consiguieron con la irradiación dual secuencial infrarrojo-ultravioleta (Sanz *et al.* 2015). Recientemente, se ha abordado, en colaboración con LANAPAC y PAP-IGEO, un estudio comparativo del efecto del láser sobre diferentes especies líquénicas, identificadas por el Dr. S. Pérez-Ortega (RJB-CSIC; en adelante SPO) en piedras de las canteras de Alpedrete (Madrid) y Valonsadero (Soria), ambas usadas tradicionalmente como fuente de piedra monumental. El uso de un láser Q-Switched Nd:YAG de ns a 1064, 355 y 266 nm y secuencias de pulsos IR-UV indujo daños substanciales en talos de las especies analizadas (Sanz *et al.* 2017).

La estrategia de tratamiento combinado de láser y biocida ha sido más recientemente aplicada también a materiales cerámicos, en colaboración con el grupo CERVITRUM-IH (CCHS-CSIC) y LANAPAC y la participación del IEM-CSIC

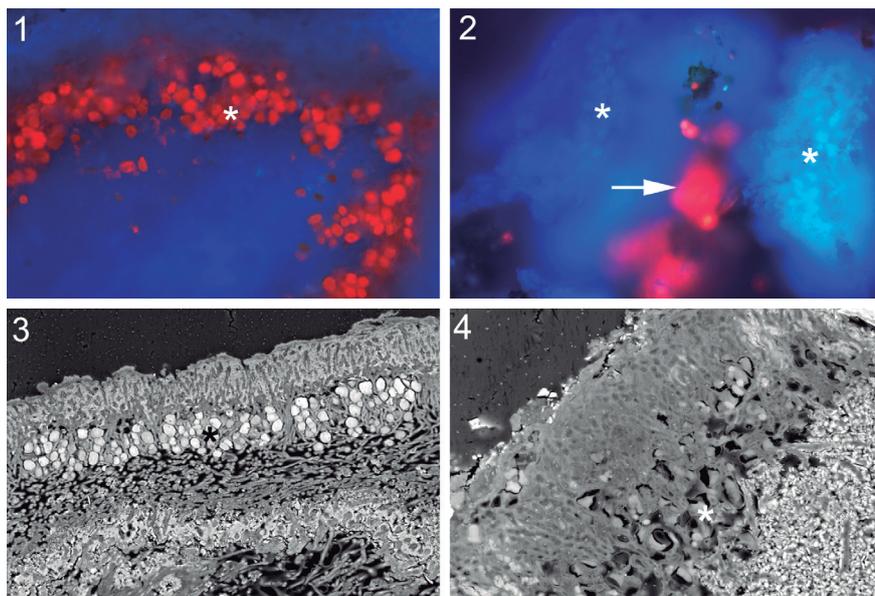


Figura 1. Arriba: Imágenes de microscopía de fluorescencia. (1) Talos líquenicos control con células del fotobionte en buen estado y (2) Talos tratados con biocida Acticide® mostrando células del fotobionte muertas, sin autofluorescencia. Los asteriscos señalan en ambas imágenes células de fotobionte y, la flecha, cianobacterias vivas con autofluorescencia resultado de recolonización. Abajo: Imágenes SEM-BSE. (3) Talo control con células de fotobionte vivas (asterisco) y (4) Talo tratado con Acticide® que muestra células de fotobionte dañadas (asterisco).

y SPO. Tres especies líquénicas presentes en sustratos cerámicos, en los que se había determinado la composición química y mineralógica, se irradiaron con láser a 1064 y 266 nm y, a continuación, se aplicó el biocida Acticide® CF (Thor Especialidades SA). La composición química de los materiales cerámicos se reveló como importante en la colonización biológica del sustrato y la aplicación del láser de forma combinada con el biocida mostró resultados de los que se deduce que se producen daños significativos en ambos simbiontes del líquen (Pena-Poza *et al.* 2018).

En el transcurso de nuestras investigaciones sobre la efectividad a medio plazo del biocida Acticide® CF, nos planteamos evaluar la eficacia de los tratamientos tras dos años de la aplicación. Se trataron talos del líquen *Protopermaliopsis* sp., presentes en dolomías de la cantera de Redueña (Madrid) e identificados por SPO, siguiendo el protocolo de aplicación descrito en Pena-Poza *et al.* (2018). Se establecieron estrategias para diferenciar los efectos del biocida aplicado sin limpieza mecánica previa y aplicándolo con esponja o cepillo. Tras dos años, los talos tratados con biocida aplicado con esponja o cepillo prácticamente habían desaparecido, mientras que, si solo se aplicaba el biocida, los talos se convertían en inviables por el daño total en las células del fotobionte (Fig. 1).

En los últimos años se ha continuado también con el diagnóstico de los procesos de biodete-

riorio en distintos materiales pétreos nacionales e internacionales. En colaboración con los responsables del Parque Arqueológico de Machu Picchu (Perú) se ha continuado con el diagnóstico de los procesos de biodeterioro causados por la colonización líquénica y microbiana en sus paramentos, por combinación de técnicas de microscopía y biología molecular, habiéndose observado que tratamientos previos realizados en el monumento han inducido cambios en la estructura de la comunidad.

También hemos participado en el estudio sobre el posible origen biológico de las alteraciones de la parte vidriada del panel de azulejos llamado *Gran Vista de Lisboa* (Lisboa, Portugal) (Cabo Verde *et al.* 2015).

En colaboración con el Dr. Sohrabi (IROST, Irán), se ha participado en un estudio del biodeterioro de la Tumba de Ciro, Pasargadae (Irán), lugar declarado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO. Se ha demostrado cómo distintas especies líquénicas epilíticas y endolíticas contribuyen al biodeterioro del monumento, ejerciendo una acción física y química directa sobre el sustrato pétreo y favoreciendo, además, la colonización de otros microorganismos litobióticos biodeteriorantes, como cianobacterias (Sohrabi *et al.* 2017).

Dentro de nuestro país, se ha evaluado, en colaboración con el PAP-IGEO, el efecto de la

acción antrópica sobre la colonización líquénica en piedra monumental, con aplicación continuada de bioproducto humano (orina) a talos de *V. nigrescens* en dolomías de Redueña (Cámara *et al.* 2014, 2015). Asimismo, con la Dra. García del Cura, se ha demostrado la participación de los microorganismos en la formación de depósitos de dolomita sobre material pétreo (García del Cura *et al.* 2014). En el marco de nuestros trabajos en común con CERVITRUM, hemos investigado también la biocolonización inducida en vidrios históricos y la respuesta al biocida Acticide® CF, trabajo que será presentado en Technoheritage 2019.

AGRADECIMIENTOS

Programa Geomateriales 2 (S2013/MIT-2914) financiado por la Comunidad de Madrid y Fondos estructurales (FSE y FEDER). Agradecimientos a Marta Urizal y Thor Especialidades SA. A Carlos Arroyo por el apoyo técnico.

PUBLICACIONES CITADAS

- Álvarez de Buergo MA, Gómez-Heras M, Fort R, Ascaso C, de los Ríos A, Pérez-Ortega S, Speranza M, Wierzechos J, Sanz M, Oujja M y Castillejo M. (2013) Assessment of laser treatment on dolostones colonized by microorganisms and lichens. In M.A. Rogerio-Candelera, M. Lazzari and E. Cano (eds.) Science and Technology for the Conservation of Cultural Heritage: 173–178. Leyden: CRC Press.
- Cabo-Verde S, Silva T, Corregidor V, Esteves L, Dias MI, Souza-Egipsy V, Ascaso C, Wierzechos J, Santos L y Prudencio MI. (2015). Microbiological and compositional features of green stains in the glaze of the Portuguese "Great View of Lisbon" tile panel. *J Mater Sci.* 50: 6656-6667.
- Cámara B, Álvarez de Buergo M, Fort R, Ascaso C, de los Ríos A y Gómez-Heras M. (2014). Another source of soluble salts in urban environment due to recent social behaviour pattern in historical centres. In *Science technology and Cultural Heritage*. Ed. M.A. Rogerio-Candelera. Taylor & Francis Group: 89-74.
- Cámara B, Álvarez de Buergo M, Fort R, Souza-Egipsy V, Pérez-Ortega S, de los Ríos A, Wierzechos J y Ascaso C. (2015). Anthropogenic effect on the lichen colonization in building stones from cultural heritage. *Periodico di Mineralogia* 84-3A (Special Issue): 539-552.
- De los Ríos A, Pérez-Ortega S, Sanz M, Oujja M, Castillejo M, Wierzechos J, Souza-Egipsy V, Fort R, Álvarez de Buergo M y Ascaso C. (2016). Biocide and laser treatments to slow down biodeterioration processes in stone. International Conference of Biodeterioration & Protection of Cultural Heritage. Loz. Polonia.
- García-del Cura MA, Sanz-Montero ME, de los Ríos A y Ascaso C. (2014). Microbial Dolomite in carbona-

te deposits associated to spring water. *Sedimentology* 61 (1): 41-55

Pena-Poza J, Ascaso C, Sanz M, Pérez-Ortega S, Oujja M, Wierzchos J, Souza-Egipsy V, Cañamares MV, Urizal M, Castillejo M y García-Heras M. (2018). Effect of biological colonization on ceramic roofing tiles by lichens and combined laser and biocide procedure for its removal. *Int Biodeter Biodegrad* 126: 86-94.

Sanz M, Oujja M, Ascaso C, de los Ríos A, Pérez-Ortega S, Souza-Egipsy V, Wierzchos J, Speranza M y Castillejo M. (2015). Infrared and ultraviolet laser removal of crustose lichen crust dolomite heritage stone. *Appl Sur Sci* 346: 248-255.

Sanz M, Oujja M, Ascaso C, Pérez-Ortega S, Souza-Egipsy V, Fort R, de los Ríos A, Wierzchos J, Vega-Cañamares M y Castillejo M.

(2017). Wavelength effects on the laser removal of lichens on heritage stone. *Appl Sur Sci* 399: 758-768

Sohrabi M, Favero-Longo SE, Pérez-Ortega S, Ascaso C, Haghghat Z, Talebian MH, Fadaei H, de los Ríos A. (2017). Lichen colonization and associated deterioration processes in Pasargadae, UNESCO World Heritage Site, Iran. *Int Biodeter Biodegrad* 117: 171-182

Biodegradación de la lignocelulosa: una fuente de biocatalizadores para una industria sostenible

Susana Camarero, Javier Ruiz-Dueñas, Alicia Prieto, María Jesús Martínez y Ángel T. Martínez



Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC.
Ramiro de Maeztu 9, E-28040 Madrid.



Miembros del grupo (de abajo a arriba y de izquierda a derecha): Ángel T. Martínez, María Jesús Martínez, Juan Carro, María Molina, Marta Espada, Zahra Azzouz, Katrin G Kropatsch, Susana Camarero, Alicia Prieto, William D Hahn Schneider, Marta Pérez Boada, Javier Ruiz Dueñas, Jorge Barriuso, Manuel Nieto, Juan A. Mendez, Mario Saparrat, Felipe de Salas, Pablo Aza, Iván Ayuso, David Rodríguez, Gonzalo Molpeceres, Lola Linde, Laura de Eugenio, Rashid Babiker

El grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica (<https://bit.ly/2Fy0ITm>) liderado por los profesores María Jesús Martínez

y Ángel T. Martínez comenzó su andadura en la década de los 80 con el estudio (en colaboración con el Dr Aldo González) de los

hongos saprófitos que producen el llamado "palo podrido" (Fig. 1) en la pluvial silva chilena (Martínez *et al.*, 1995).