

INFORME TÉCNICO FINAL DE PROYECTO

Clave del proyecto GTO-2003-C02-11490 No. De Convenio: 03-69-A-001

Título del proyecto:

PROTECCIÓN DE MONUMENTOS Y PIEZAS HISTÓRICAS DE METAL O PIEDRA CON LA APLICACIÓN POR AEROSOL, BROCHA Y/O PERMEACIÓN ELECTROFORÉTICA DE MATERIALES HÍBRIDOS POLÍMERO-VIDRIO INERTES Y DE GRAN ADAPTABILIDAD

Periodo: 01-03-04 al 28-07-06

Responsable del proyecto o Coordinador General: Dr. José de Jesús Pérez Bueno

Sujeto de Apoyo (Institución o Empresa): CIDETEQ, S.C.-Universidad de Guanajuato

Modalidad: Investigación Aplicada

Índice

	Página
Capítulo I. Introducción	5
I. Trabajo en la Protección de Sustratos Metálicos	
I.1 Protección de Metales por Aerosol, Brocha y/o Electroforesis	6
A. Corrosión en Metales y Protección con Recubrimientos	
b. Electroforesis	7
C. Recubrimientos de TiO ₂	8
I.2 Protección de Sustratos Metálicos con Formulaciones de Alcóxidos Utilizando Agentes de Acople como Promotores de Adherencia de los Recubrimientos.	11
II. Trabajo en la identificación de microorganismos en canteras con biodeterioro	13
III. Consolidación, Hidrofugantes y Protección en Adobes	14
Capítulo II. Productos Entregables	15
I. Nuevo Conocimiento	17
I.1 Cantera y/o Adobe	
I.2 Metal	19
I.2.1 Electroforesis: Formulación de Sistemas Cerámicos Base Sol-Gel con Propiedades Anticorrosivas	
- Seguimiento electroquímico de un depósito electroforético de sílice coloidal por Espectroscopia de Impedancia Electroquímica y Curvas de Polarización	24
I.2.2 Híbridos Poliméricos Orgánico-Inorgánicos	28
II. Metodología	35
III. Publicaciones Nacionales	36
IV. Publicaciones Internacionales	37
V. Estudiantes	39
VI. Redes	41
VII. Innovación	
VIII. Culturales	
ANEXOS	43
Anexo A: Respuesta a Evaluación del Reporte de la Segunda Etapa	44
Anexo B: Análisis de Composición de Canteras por Fluorescencia de Rayos X	48
Anexo C: Manuscrito enviado a la revista Ciencia y Desarrollo en Diciembre de 2005: "Protección de Obras de Legado Histórico... con la Vanguardia del Desarrollo Científico"	49
Anexo D: Póster de Informe Final de Estancia de Verano 2004 de Lidia Morón Vera	52

Anexo E: Reporte Final de Estancia de Verano de Lydia Morón Vera (Julio 2004)	53
Anexo F: Reporte de Actividades del Ayudante de Proyecto José Francisco Torres Salgado: “Aplicación de Formulaciones de Alcóxidos de Silicio en la Conservación de Adobe”	59
Anexo G: Póster “Diseño de Marcadores Moleculares Útiles para la Identificación de Bacterias en Cantera Usando Alineamientos Computacionales” , José Luis González Montoya, Aurelio Álvarez Vargas, Carmen Cano Canchola, Veridiana Reyes Domínguez, Jorge Cervantes Jáuregui, José de Jesús Pérez Bueno. <i>IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, 4 - 7 Abril 2006</i> . Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Michoacán, México.	66
Anexo H: Póster “Identificación Molecular de Microorganismos Presentes en Canteras de la Basílica de Guanajuato y Modelaje Teórico de Biodeterioro” , José Luis González Montoya, Aurelio Álvarez Vargas, Carmen Cano Canchola, Veridiana Reyes Domínguez, Jorge Cervantes Jáuregui, José de Jesús Pérez Bueno. . <i>IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, 4 - 7 Abril 2006</i> . Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Michoacán, México.	67
Anexo I: Reporte de Actividades del Ayudante de Proyecto José Luis González Montoya	68
Anexo J: Anteproyecto de Tesis de Licenciatura del Ayudante de Proyecto: José Luis González Montoya – “Identificación Molecular de los Hongos presentes en las canteras de la Basílica de Guanajuato y modelo teórico sobre Biodeterioro”	70
Anexo K: Reporte Final de Residencia Profesional en CIDETEQ del alumnos del Instituto Tecnológico de Morelia y Ayudante de Proyecto José Luis González Montoya	80

GRUPO DE TRABAJO

Investigadores Directamente involucrados en la Investigación:

Dr. José de Jesús Pérez Bueno (CIDETEQ, S.C.)*,

Dr. Jorge Armando Cervantes Jáuregui (Fac. Química, Universidad de Guanajuato),

Dra. Carmen Cano Canchola (IIBE-FQ, Universidad de Guanajuato)

Colaboradores en el proyecto:

Mtra. Dolores Elena Álvarez Gasca (Fac. Arquitectura, U. de Gto.)

Dr. Yunny Meas Vong (CIDETEQ, S.C.),

* Responsable Técnico

Dr. Luis Arturo Godínez Mora-Tovar, (Responsable Legal)

C.P. Hugo Avendaño Cortes , (Responsable Administrativo)

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

El proyecto trata una temática con gran potencial como lo es la preservación de los inmuebles y objetos considerados patrimonio cultural. Por ello, es comprensible que haya llegado a tener múltiples matices tales como la investigación en protección y caracterización en canteras, adobes y metales, así como el estudio de biodeterioro, centrado en la identificación de microorganismos presentes en cantera. A continuación se presenta la descripción de los trabajos de investigación desarrollados en el proyecto.

I. TRABAJO EN LA PROTECCIÓN DE SUBSTRATOS METÁLICOS

El trabajo en esta área fue motivado por el deseo de tratar la preservación de aquellas piezas hechas de materiales metálicos que puedan considerarse como un legado cultural o piezas con valor histórico y que se encuentran sujetas a deterioro por oxidación y corrosión.

En un principio, se propuso realizar el estudio en bronce, ya que es el material mayoritariamente empleado para las estatuas consideradas parte del patrimonio cultural existente actualmente. Debido a la variabilidad en la composición y condición actual de estas no sería posible, en el ámbito de laboratorio, hacer pruebas y planteamiento de formulaciones idóneas a menos que se centrara en una pieza determinada y con el riesgo de causar algún efecto indeseado durante la experimentación. Por ello, las formulaciones y experimentación se han realizado en aceros al carbón e inoxidables (con pruebas aisladas en cobre y latón), en los cuales también está presente el fenómeno de oxidación y de corrosión, además de ser una aleación que presenta una complejidad que sirve bien de ejemplo y de la cual se pudiese hacer la extrapolación a piezas individuales, de bronce u otra aleación metálica, siempre y cuando se adecue a condición superficial y composición. Las formulaciones planteadas son transparentes e incluyen la posibilidad de aplicarse sobre la patina que se forma de manera natural en la superficie del metal.

Los resultados derivados del estudio, así como las variantes en formulaciones trabajadas, se presentarán en la tesis de Maestría de la alumna del Posgrado del CIDETEQ, ***I.Q. Diana Morales Acosta***, misma que a la fecha de presentación de este informe aún se encuentra en la fase de escritura. Además, los estudios de protección con recubrimientos depositados por la

tecnicas de Electroforesis estan comprendidos en el proyecto de tesis de Doctorado de la alumna del Posgrado del CIDETEQ, ***M. en C. Lluvia Marisol Flores Tandy***, misma que a la fecha de presentación de este informe aún se encuentra en desarrollo y se plantea concluir en el lapso de un año.

I.1 Protección de Metales por Aerosol, Brocha y/o Electroforesis.

Una pieza metálica por exposición al medio ambiente y a diferentes factores oxidantes sufre deterioro, que puede ser gradual mermando su utilidad, dañando su apariencia y en casos extremos inutilizando completamente la pieza. Por otra parte, es común proteger piezas u objetos con ciertos recubrimientos para hacerlos resistentes a la oxidación, pero muchas veces se pierde alguna propiedad mecánica y la apariencia deseada (la textura, brillo, el color, etc.)

Durante muchos años, se ha realizado un extenso estudio en la modificación de superficies como medida de protección contra la corrosión. Dentro de los recubrimientos estudiados, se han hecho pruebas con materiales cerámicos-poliméricos que además de proteger, mejoran algunas propiedades del material original, así como el aspecto de los sustratos sobre los que se aplican. Estos compuestos cerámico-poliméricos e híbridos orgánico-inorgánico son de vital importancia para numerosas aplicaciones de alta tecnología. Una rama muy importante en su estudio es su aplicación como recubrimientos anticorrosivos sobre sustratos metálicos ya que estos materiales actúan como agentes inhibidores de la corrosión además de poseer otras propiedades relevantes como son su resistencia a la abrasión y a las altas temperaturas.

A. Corrosión en Metales y Protección con Recubrimientos.

La corrosión es la pérdida de material debido a la interacción electroquímica con el ambiente y las reacciones que involucran transferencia de electrones; por lo tanto, una de las técnicas más efectivas de control de la corrosión es aislar eléctricamente el ánodo del cátodo. Por ejemplo, la capa pasivante de óxido de cromo formada en la superficie del acero inoxidable, en ambientes oxidantes, es la razón principal para su resistencia a la corrosión y por ello su durabilidad.

Una aproximación más genérica para aumentar la resistencia a la corrosión es aplicar películas protectoras o recubrimientos como pinturas. Tales películas protectoras también permiten la introducción de otras propiedades físicas y químicas, como resistencia mecánica,

hidrofobicidad mediante la modificación de la composición química de los recubrimientos. Se han estudiado muy extensamente varios recubrimientos óxidos obtenidos por el proceso de sol-gel. A pesar de todas las ventajas que ofrece el proceso de sol-gel, sus recubrimientos sufren desventajas como porosidad y baja integridad mecánica, problema que se elimina sinterizando a altas temperaturas hasta obtener una microestructura densa. Esto limita las aplicaciones de los recubrimientos de sol-gel a sustratos sensibles a la temperatura. Es muy importante desarrollar un recubrimiento denso híbrido derivado de sol-gel sin tratamientos térmicos a elevadas temperaturas. Un paso para eliminar este problema es desarrollar un recubrimiento híbrido orgánico-inorgánico. Cuando hay composiciones químicas apropiadas y se aplican las condiciones de proceso adecuadas, se pueden desarrollar recubrimientos resistentes a la corrosión y antiabrasivos.

Materiales tales como el ZrO_2 cuentan excelentes propiedades como alta resistencia mecánica, refractoriedad, resistencia a álcalis y se usa para la protección química de metales contra ataque por ácidos. La impurificación de estos materiales con otros cerámicos les permite tener nuevas propiedades anticorrosivos como es el caso del composito de $Y_2O_3-ZrO_2$ o CeO_2-ZrO_2 , con alta resistencia a la corrosión, buena durabilidad química, resistencia al shock térmico, alta tenacidad mecánica y coeficiente de expansión térmica similar al del acero.

B. Electroforesis

La aplicación de campos eléctricos en la fabricación de recubrimientos crece continuamente. En el campo tradicional de la electrotecnología, con procesos tan conocidos como la electrodeposición, se ha encontrado un gran apoyo al aplicarse a dispersiones coloidales tales como: pinturas, barnices, polvos cerámicos, óxidos vítreos. Esto ha dado origen al electropintado automotriz y la industria de recubrimientos cerámicos por electroforesis, entre otros. Las ventajas de la combinación de campo eléctrico y dispersiones coloidales cerámicas y poliméricas, incluye la ventaja de aplicar un recubrimiento con grosor uniforme en productos con formas complejas, así como una reducción drástica en la pérdida de material, alta velocidad de proceso y adaptabilidad a la automatización, también el uso de sistemas acuosos hace posible tener mejores condiciones de trabajo para resolver gran número de problemas ecológicos.

El estudio de electroforesis de soluciones poliméricas y cerámicas tiene varios años en desarrollo, pero su evolución se ha dado en hacerlo más barato y ecológicamente aceptable, convirtiéndose en una línea de investigación con gran posibilidad de innovación dada la búsqueda de una relación óptima costo-propiedades en estos nuevos recubrimientos.

C. Recubrimientos con TiO_2

Las películas delgadas de dióxido de titanio (TiO_2) han recibido mucha atención debido a su estabilidad química, alto índice de refracción y alta constante dieléctrica, además de sus usos como componente en dispositivos optoelectrónicos y en fotocatalisis [P. Chrysicopoulou et al; *Thin Solid Films*, **323**, 188-193 (1998)]. Existe una gran cantidad de reportes acerca de la fabricación de películas delgadas de dióxido de titanio (TiO_2) por la técnica de sol-gel, usando alcóxidos de titanio como precursores [P. Chrysicopoulou et al; *Thin Solid Films*, **323**, 188-193 (1998)]. Las películas de dióxido de titanio (TiO_2) son capaces de cambiar sus propiedades ópticas de manera reversible aplicando un campo externo. Este fenómeno de electrocromismo se ha estudiado extensamente debido a su aplicación en arquitectura y la industria automotriz [C G Granqvist *Handbook of Inorganic Electrochromic Materials*, Elsevier (1995)].

En el estudio del dióxido de titanio (TiO_2), la transición rutilo-anatasa ha sido muy popular debido a su aplicación en la ciencia y la ingeniería. Los efectos fotocatalíticos del dióxido de titanio (TiO_2) se han aprovechado en esterilización de agua o transporte de antibióticos, se sabe que la fase rutilo o anatasa determina las propiedades fotocatalíticas [Pyung et al; *J. Colloid and Inter. Sci*; **223**, 16-20 (2000)].

Los materiales híbridos y compositos orgánico-inorgánico se han estudiado extensamente porque ofrecen mejora en las propiedades térmicas, biológicas, magnéticas, térmicas, ópticas, electrónicas y opto electrónicas comparadas con las correspondientes propiedades de los materiales orgánicos e inorgánico puros [Pen-in, F. X; *J. L. Polym Int*, **51**, 1013-1022 (2002)].

Los recubrimientos de cromo son excelentes para aumentar las propiedades de las pinturas, pero debido a la toxicidad del Cr^{6+} se han desarrollado alternativas [Hinton BRW, *Metal Finishing* **89**:55 (1991)]. En este contexto, se han desarrollado recubrimientos híbridos y compositos de

materiales orgánico-inorgánico con fuerte adhesión en substratos metálicos desnudos provocando mínimo daño ambiental.

Se han realizado estudios de depósitos adherentes de alta calidad aplicando evaporación al vacío sobre acrílico y vidrio [K. Narasimha Rao, Bull. Mater. Sci., Vol. 26, No. 2, February 2003, pp. 239–245]. Sin embargo, el uso de vacío arriba de 80°C no es recomendable para algunos materiales.

Recubrimientos sobre superficies de acrílico han sido utilizados para mejorar la protección contra la abrasión y la penetración de la humedad que le confieren características antireflejantes. El depósito de cerámicos sobre metales resulta difícil debido a la falta de adhesión y a las diferencias drásticas en coeficientes de expansión térmica, lo que experimenta esfuerzo térmico cuando las muestras experimentan cambio de temperatura. Como consecuencia, los recubrimientos se agrietan, ampollan y delaminan (Allen and Tregunna 1988; Usui *et al* 1995; Baldwin *et al* 1997; Schulz *et al* 1998).

EXPERIMENTAL: Resumen de actividades llevadas a cabo en laboratorio sobre electroforesis y depósitos cerámicos:

-Estudios Realizados

Formulación de soluciones coloidales a partir de matrices poliméricas e híbrido cerámico-poliméricas como partículas cargadas para depositar por electroforesis.

- Formulación de soluciones coloidales de SiO₂, Al₂O₃, TiO₂ y ZrO₂.
- Variación de parámetros del depósito por electroforesis para mejorar su calidad como apariencia, espesor, propiedades anticorrosivas, mecánicas y velocidad del depósito (Control de pH, Corriente y Voltaje aplicado, Potencial Zeta de las partículas, Viscosidad, Concentración, tiempo y velocidad de remoción).
- Preparaciones metalográficas de substratos de aceros y fundición de hierro utilizados a recubrir.
- Combinación de agentes pasivantes y mejora de anclaje a la superficie mediante ataque con ácido y aumento de rugosidad superficial física.
- Tratamientos térmicos a los recubrimientos.

- Caracterización de recubrimiento mediante Perfilometría, Microscopía de Barrido y Técnicas Electroquímicas.
- La investigación del presente trabajo se enfocó a realizar una serie de formulaciones base sol-gel para la obtención de titania y su posterior depósito por electroforesis, encontrando las condiciones óptimas de depósito. Con el fin de reforzar sus propiedades mecánicas, se realizó un híbrido de esta formulación de sol-gel de TiO_2 con el polímero PMMA. Se realizó el depósito de esta formulación por inmersión sobre sustratos de acero y acrílico. Se realizó su posterior caracterización.
- Se desarrollaron formulaciones de soluciones cerámico-poliméricas para realizar recubrimientos sobre placas de acero 304 y acrílico.
 1. Formulación sol de titania para su depósito por electroforesis.
 2. Formulación de un recubrimiento de compuesto de PMMA-sol de TiO_2 para la protección del acero industrial y sustratos de acrílico.
 3. Formulación de un recubrimiento de compuesto de PMMA-sol de $\text{TiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3$ para la protección del acero industrial y sustratos de acrílico.
 4. Caracterización del recubrimiento.

Estudios a Realizar

- Combinación de métodos anticorrosivos
- Estudio del efecto de luz UV durante el depósito electroforético de materiales foto-activos como TiO_2 y ZrO_2 .
- Estudio a profundidad de parámetros electrocinéticos y de doble capa de las soluciones coloidales
- Estudio del efecto de campos magnéticos durante la electroforesis sobre la orientación cristalina del recubrimiento.

I.2 Protección de Substratos Metálicos con Formulaciones de Alcóxidos Utilizando Agentes de Acople como Promotores de Adherencia de los Recubrimientos.

La incorporación de moléculas orgánicas en redes inorgánicas o viceversa, da como resultado una mezcla a escala nanométrica comúnmente denominada nanocompuestos híbridos orgánico-inorgánicos. En esta clase de híbridos hay interacciones débiles entre los componentes (fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno o interacciones electrostáticas). Hay otros híbridos en los cuales las partes orgánica e inorgánica están químicamente ligadas mediante enlaces covalentes o iónico-covalentes.

Una de las principales ventajas que presentan este tipo de materiales es que se puede mejorar o modular las propiedades mecánicas, térmicas o adhesión de polímeros u oligómeros, mediante una componente inorgánica al mismo tiempo que se conservan un número de ventajas del polímero orgánico (alta flexibilidad, baja densidad, etc). Sin embargo la falta de adherencia sobre diversos sustratos es una variable importante a controlar; existen diversos compuestos que son utilizados para mejorar la adherencia entre estos materiales y el sustrato, tales como agentes de acople.

Los agentes de acople del tipo silano contienen una molécula de silicio, en la parte central generalmente, la cual contiene un grupo funcional (R) (vinil, amino, cloro, epoxy, mercapto, etc.), con un segundo grupo funcional (X) (metoxi, etoxi, etc.). El grupo funcional (R) es susceptible de enlazarse a una cadena orgánica mientras que el grupo funcional (X) puede enlazarse a una terminación de material inorgánico o sustrato para activar el efecto de acople.

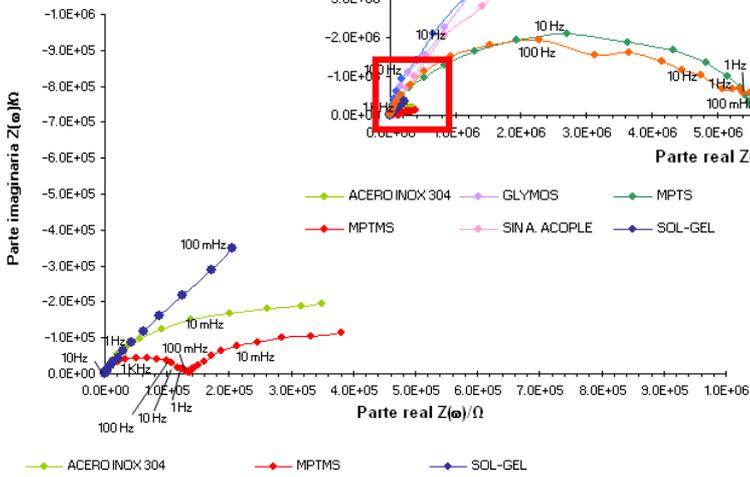
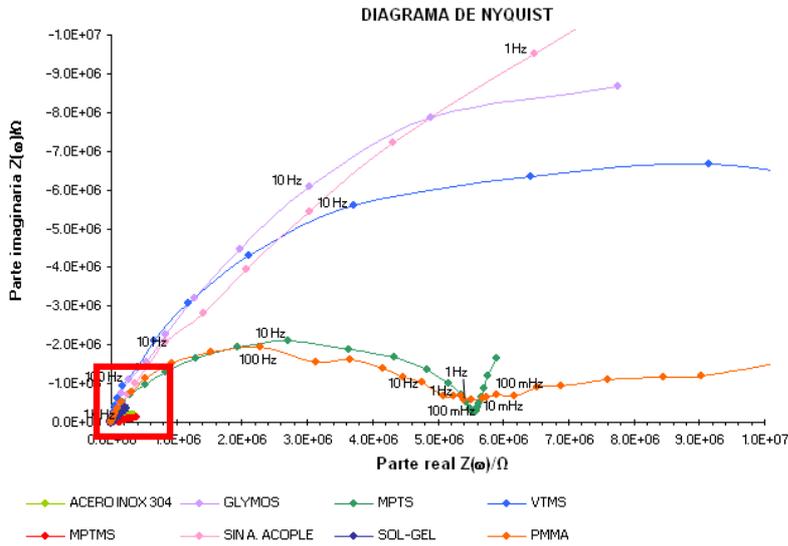
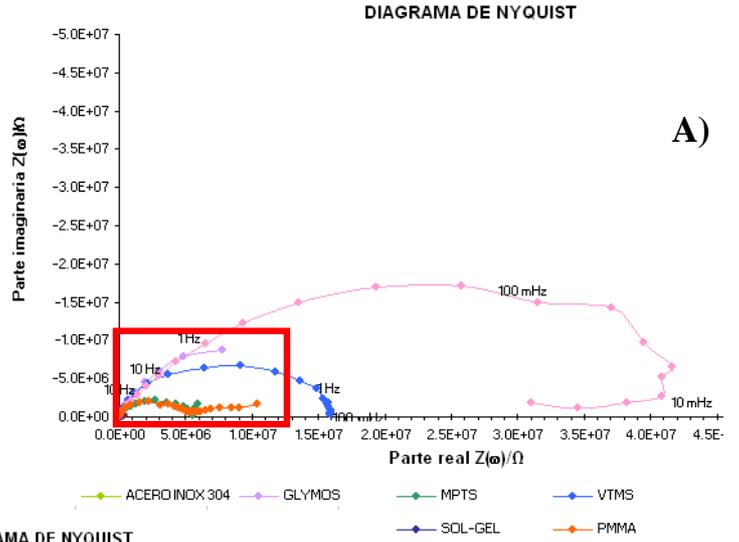
Los agentes de acople del tipo silano son principalmente utilizados como mediadores de enlace entre materiales orgánicos y materiales inorgánicos. Como resultado de estos enlaces incrementan las propiedades mecánicas y eléctricas de los materiales en condiciones de humedad o secas.

Los grupos inorgánicos (X) de las moléculas de silanos se hidrolizan para producir silanoles, los cuales se condensan con grupos hidroxilos de materiales inorgánicos. El grupo orgánico de la molécula de silanos reacciona con el material orgánico para producir un enlace covalente. Como resultado el material orgánico e inorgánico son fuertemente enlazados después del calentamiento.

Para una buena protección de un material base, el recubrimiento no deberá contener oxígeno o agua y deberá tener coeficiente de difusión muy bajo. Otras características que deberán tener buena conductividad electrónica, dureza, buena adherencia al sustrato y cierto grado de

deformación. En términos de costo, el proceso de recubrimiento no deberá ser muy alto para que pueda ser aplicable.

Fig.: Impedancia Electroquímica de recubrimientos híbridos en sustratos de aceros inoxidables.



II. Trabajo en la Identificación de Microorganismos en Canteras con Biodeterioro.

En lo referente al estudio del Biodeterioro en Cantera, a partir de muestras de **la Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guanajuato**, el trabajo ha sido desarrollado por **M. en C. Veridiana Reyes Zamudio** (Estudiante de Doctorado, Asesor Dr. Jorge Cervantes) y **José Luis González Montoya** (Ayudante de Proyecto, Licenciatura), bajo la tutoría de la **Dra. Carmen Cano Canchola**, Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato.

Cabe mencionar que en el ámbito nacional, seguramente son muy pocos los estudios de biodeterioro y sus efectos sobre los recubrimientos aplicados. Es propósito del estudio de la alumna de doctorado en química, M. en C. Veridiana Reyes Zamudio (FQ. Universidad de Guanajuato), poder correlacionar de que manera los recubrimientos basados en compuestos orgánicos de silicio, han sido afectados por la presencia de distintos organismos causantes de biodeterioro. Igualmente, si es posible conocer o proponer un mecanismo relacionado con la secuencia de colonización de estos organismos para derivar en el deterioro del material.

En el estudio de biodeterioro, se generaron bancos de información con marcadores moleculares para la identificación de los principales organismos presentes en cantera y que pudiesen causar su deterioro. En el caso particular, del estudio y muestreo realizado en la Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guanajuato, se destaca la identificación realizada por secuenciación genética específicamente en hongos. Estos estudios se incluirán en la tesis de José Luis González, misma que esta aún en proceso de escritura a la fecha de entrega de este informe. Para mayor información, el tema se desarrolla en los anexos correspondientes a informes del Ayudante de Proyecto José Luis González Montoya.

III. Consolidación, Hidrofugantes y Protección en Adobes.

El trabajo relacionado con hidrofugantes, consolidación y protección en adobes ha sido realizado por José Francisco Torres Salgado (Ayudante de Proyecto), asesorado por el Dr. Jorge Cervantes. Se abordó el tema de adobes respondiendo a una problemática que se presenta en la ciudad de Guanajuato y como una extrapolación del trabajo que se desarrolló en canteras.

El tratamiento de adobes presenta ciertas singularidades, ya que difiere de la cantera particularmente en la porosidad, conformada por granos en vez de interconexiones. Además, por ser una forma tetragonal fabricada a propósito como elemento de construcción y sin ningún elemento cementante, puede incluir entre muchas cosas fibras de refuerzo, ya sea naturales o poliméricas. El hecho de no contener materiales cementantes hace de los adobes muy susceptibles de erosionarse bajo la acción del agua, misma que es fácilmente adsorbida por la arcilla de que están compuestos. Los hidrofugantes de alcóxidos de silicio han demostrado poder convertir la superficie en hidrofóbica, con lo cual el agua no entra al material. Sin embargo, aún el alcance está limitado por la gran cantidad de material hidrofugante requerido para su tratamiento.

Capítulo II

Productos Entregables

Se muestra a continuación en la Tabla I, y de acuerdo al convenio, el cronograma de actividades establecido con las modificaciones autorizadas por el CONCYTEG en las fechas de inicio y termino de las etapas.

Tabla I
Cronograma de Actividades por Etapa según el Convenio
 (se incluyen las modificaciones autorizadas en las fechas)

Etapa	Descripción de la Etapa	Descripción de la Meta	Actividades	Productos	Fecha Inicio	Fecha Termino
1	Se identificarán las especificaciones que deben satisfacer los recubrimientos de piezas consideradas legado cultural, según sean éstas objetos artísticos, metales o construcciones. Se propondrán formulaciones con el mayor potencial para tales fines.	Identificar requerimientos, propuesta de formulaciones de recubrimientos y obtención de los materiales y reactivos de laboratorio necesarios.	Identificar posibles objetos y/o construcciones que se deseen proteger. Adquisición de materiales necesarios para la experimentación. Asignación de algún alumno de Posgrado o Licenciatura al proyecto.	Estudios Preliminares	1-III-04	30-VIII-04
2	Adecuación de formulaciones, según la finalidad. Análisis de recubrimientos y pruebas de durabilidad y protección de materiales.	Obtención de análisis de propiedades y pruebas de durabilidad de las formulaciones para recubrimientos.	Se obtendrán recubrimientos a partir de varias formulaciones que pudiesen cumplir con los requerimientos para la protección de piezas consideradas legado cultural. Los recubrimientos serán sometidos a pruebas que muestren el grado de protección.	Formulaciones de recubrimientos	1-IX-04	28-IV-05
3	Obtención de formulaciones ideales en protección de piezas históricas. Acondicionamiento de métodos de fácil aplicación de recubrimientos para tal finalidad.	Se harán aplicaciones preliminares sobre objetos similares a aquellos a preservar. Se llevaran a cabo los recubrimientos ya con técnicas de fácil uso.	Realizar recubrimientos con las formulaciones desarrolladas y hacer las aplicaciones sobre materiales similares mediante métodos de fácil uso.	Publicaciones Nacionales	29-IV-05	27-II-06
4	Uso de recubrimientos de materiales híbridos con sílice-polímeros para la protección de piezas consideradas legado cultural. Publicación de resultados en revistas internacionales.	Obtención de piezas prototipo que sirvan de modelo de las ventajas que ofrecen este tipo de materiales en la protección contra la deterioración de objetos de relevancia (a cualquier escala y tipo de material).	Obtención de piezas prototipo con recubrimientos que brinden una protección real contra el deterioro de objetos e inmuebles. Divulgación de los resultados a través de congresos y publicaciones nacionales e internacionales.	Publicaciones Internacionales	28-II-06	28-VII-06

Se presenta a continuación la Tabla II con los indicadores para evaluación del proyecto según el convenio que lo constituyo.

Tabla II
Indicadores para Evaluación del Proyecto según el Convenio

Indicador	Valor Inicial	Valor Final	Cantidad	Etapa (s) en que se logrará
Nuevo Conocimiento	Conocimiento actual de limpieza y restauración de piezas históricas	Nuevas formulaciones adaptadas de materiales novedosos inertes y con gran adaptabilidad a requerimientos	Conocimiento adquirido en el proceso del desarrollo de al menos una nueva formulación funcional	I y II
Metodología	Metodologías actuales de limpieza y restauración de piezas históricas	Metodologías adaptadas a la aplicación de las formulaciones desarrolladas para la protección de inmuebles y objetos considerados legado cultural	Al menos 1	III - IV
Publicaciones Nacionales	Publicación de planteamientos y resultados del proyecto	Divulgación a nivel Nacional del trabajo desarrollado y los potenciales alcances en la preservación de piezas de nuestro legado cultural	1	III y IV
Publicaciones Internacionales	Publicación de resultados experimentales en la elaboración de formulaciones para la protección de piezas históricas y los alcances en campo que pudiesen lograrse con la implementación	Retroalimentación Internacional en el avance para la conservación de inmuebles y objetos considerados patrimonio cultural	1 (2 una vez concluido el proyecto)	IV
Estudiantes	Participación de 2 estudiantes de Maestría en el desarrollo del Proyecto	Formación de recursos humanos de alto nivel con el espíritu de aplicar los conocimientos científicos en beneficio de la sociedad	Licenciatura: 1 Maestría: 1	I - IV
Redes	Colaboración multi-institucional para abordar problemas sociales reales	Más metas alcanzadas, con mejores resultados, mediante la participación activa multi-disciplinaria de las instituciones participantes	1	I - IV
Innovación	Uso de materiales comerciales o de uso convencional en restauración	Desarrollo de nuevos materiales para el uso de protección de piezas consideradas patrimonio cultural	Al menos una nueva formulación funcional	IV
Culturales	Edificios, Monumentos o Piezas Históricas que se deterioran por factores ambientales	Protección contra el deterioro de objetos e inmuebles históricos	Prototipo: Al menos 1 estatua y/o edificación	IV

INDICADOR: Unidad de Verificación o Medida del Producto Entregable

Ejemplos de algunos tipos de indicadores:

CIENTÍFICO: (teoría, metodología, nuevo conocimiento, citas, publicaciones, otros)

ACADÉMICOS: (Estudiantes, redes, manuales, etc.)

Con base en lo anterior, se hace una descripción de los productos generados en el proyecto.

I. NUEVO CONOCIMIENTO

La formación de recursos humanos se detalla a continuación:

Indicador: Nuevo Conocimiento.

Valor Inicial: Conocimiento actualizado de limpieza y restauración de piezas históricas.

Valor Final: Nuevas formulaciones adaptadas de materiales novedosos inertes y con gran adaptabilidad a requerimientos.

Cantidad: Conocimiento adquirido en el proceso del desarrollo de al menos una nueva formulación funcional.

A continuación se presenta en las siguientes secciones las formulaciones desarrolladas, para cantera y adobe, además de los resultados para metales.

I.1 CANTERA Y/O ADOBE:

1. Formulación para Consolidación.

Elementos: Sílice Coloidal, Metasilicato de Sodio, Hidróxido de Potasio (KOH), Agua.

Metodología: La estabilidad de la sílice coloidal se rompe con el Hidróxido de Potasio y se hace crecer las esferas de sílice con el Metasilicato de Sodio.

La solución aplicada, por su carácter alcalino, en un inicio disuelve internamente algunas partes endebles de sílice, pero adiciona sílice e incorpora la disuelta y al solidificar refuerza la estructura en general.

2. Formulación para Hidrofugantes.

La información se presenta en el Anexo F.

3. Formulación para Recubrimiento (sellado transparente).

Misma formulación que el caso de consolidación pero con una mayor viscosidad, de tal forma que no penetre en la porosidad de la cantera, sino que los cubra externamente.

4. Formulación conjunta Consolidación-Hidrofugante.

Se lleva a cabo en primer término la aplicación de la formulación consolidante y una vez secada esta, la aplicación de la hidrofugante.

Una prueba alterna realizada, es con la aplicación de la formulación consolidante, y antes de que esta seque la aplicación de agua, de tal forma que la superficie al secar se vea inalterada (sin una apariencia mojada permanente). Como una segunda etapa, la aplicación de una resina polimérica comercial base agua y el rociado posterior de agua de tal forma que la apariencia superficial de la cantera no se vea alterada. La cantera preparada de esta forma, no presenta cambio aparente al tacto o visualmente, pero es hidrofóbica con ángulos de contacto para agua líquida superiores a 90 grados y esta reforzada internamente con la estructura de sílice introducida.

La formulación actual resulta de una aplicación sencilla, no contaminante y de bajo costo, que entre sus características tiene: Consolida, deja una superficie hidrofóbica que impide el paso de agua líquida, además aumenta muy notablemente la resistencia al rayado, no es reflejante, ni deja alguna película perceptible en superficie. Sin embargo, si la aplicación no es cuidadosa, deja una apariencia de mojado, lo cual aviva el color y le hace verse más oscuro. Aún cuando esto pudiese, en algunos casos, resultar ventajoso en canteras comerciales, no es permisible en el área de conservación.

En el transcurso del proyecto, se propuso que el proyecto abarcara también el estudiar la protección que se pudiese lograr a construcciones a base de adobe, cuyo deterioro (lo cual incluye la caída de la pintura que se le aplica) representa un gran problema en la ciudad de Guanajuato, ya que implica una labor de restauración bianual. Con la información obtenida del estudio sobre pinturas modificadas para el caso del tabicón, se extendió el estudio a muestras de adobe.

Para mayor información, el tema se desarrolla en el anexo correspondiente al informe del Ayudante de Proyecto José Francisco Torres Salgado.

I.2 Metal

I.2.1 ELECTROFORESIS: Formulación de Sistemas Cerámicos Base Sol-Gel con Propiedades Anticorrosivas.

Formulaciones base sol-gel de SiO₂, TiO₂, Al₂O₃, ZrO₂ (estabilizada al 1% con Y₂O₃ ó CeO₂), y cuyas concentraciones, composiciones y medios de síntesis se variaron para encontrar las siguientes propiedades: adherencia, resistencia a la abrasión y en ciertos casos también con transparencia. Se realizan depósitos por electroforesis de las soluciones base sol-gel con el fin de mejorar la apariencia, adherencia y espesor del recubrimiento.

COMPOSICIÓN DE LA SOLUCIÓN				PARÁM. ELECTROFORETICOS		
		MATRIZ	DISPERSIÓN	VOLTAJE (V)	i (mA)	T (s)
Z	Z1	1.5M	2.5_3.2	0.4	200
I	Z2	1M	4.5_4.9	0.7	200
R	Z3	0.5M	4.5_4.9	0.7	200
C	Z4	Sol-gel ZrO2 al 20%	1.0% CeO2	6_8	0.2	200
O	Z5	Sol-gel ZrO2 al 20%	0.5% TiO2	5.8_7	0.2	200
N	Z6	Sol-gel ZrO2 al 20%	1.0% Y2O3 estab. ZrO2	0.2(-)_5	0.1	200
	Z7	Sol-gel ZrO2 al 20%	0.5% Al2O3	6_7	0.1	200
	T1	Sol-gel TiO2 al 15%	1_3	0.001	200
T	T2	Sol-gel TiO2 al 10%			200
I	T3	Sol-gel TiO2 al 5%			200
T	T4	Sol-gel TiO2 al 15%	4_6	0.055	200
A	T5	Sol-gel TiO2 al 8%	2_2.5	0.004	200
N	T6	Sol-gel TiO2 al 13%	1_2.5	0.005	200
I	T7	Sol-gel TiO2 al 20%	0.5% Y2O3 estab. ZrO2	3_4.6	0.01	200
A	T8	Sol-gel TiO2 al 20%	1.0% Y2O3 estab. ZrO2	1.5_2.7	0.005	200
	T9	Sol-gel TiO2 al 20%	2.0% Y2O3 estab. ZrO2	6.5_7	0.05	200
	T10	Sol-gel TiO2 al 20%	1.0% CeO2	3_3.2	0.01	200
	T11	Sol-gel TiO2 al 20%	2.0% Al2O3	6_7	0.05	200
	T12	Sol-gel TiO2 al 20%	1.0% ZrO2	1.8_3	0.01	200
	AL1	5%	6	77x10-6	200
A	AL2	3%	5	450x10-6	200
L	AL3	Sol-gel Al2O3 al 0.5%	2_3.5	10x10-3	200
U	AL4	Sol-gel Al2O3 al 2.0%	0.5%TiO2	2.2_3	10x10-3	200
M	AL5	Sol-gel Al2O3 al 3.0%	0.5%TiO2	2_3.7	50x10-3	200
I	AL6	Sol-gel Al2O3 al 9.0%	0.5%TiO2	6_8	0.05	200
N	AL7	Sol-gel Al2O3 al 5%	2.0% ZrO2		0.0019	200
A	AL8	Sol-gel Al2O3 al 5%	2.0% CeO2	6_7.3.....2_3	0.001...0.0006	
	AL9	Sol-gel Al2O3 al 5%	2.0% TiO2	2_3	0.0005	200
	AL10	Sol-gel Al2O3 al 5%	2.0% Y2O3 estab. ZrO2	0.5(-)_0.5	0.00001	200

Materiales:

Los materiales iniciales en este trabajo fueron (MMA, 99% sigma), (PMMA, 99% sigma), (dietil oxalato, DO, 99% sigma), agua des-ionizada, alcohol (EtOH, 97% Merck), isopropóxido de titanio (IPT, 99% sigma), isopropanol (IPA, 99% sigma), alúmina (γ -Al₂O₃, buelher).

- Preparación del sol de Titania:

Un problema muy común en la electroforesis es la adherencia del recubrimiento al sustrato, sobre todo en el sol-gel y los polvos, por lo que fue la propiedad buscada en esta ocasión.

Para ello se realizaron una serie de formulaciones en relación H₂O/IPT sub-estequiométrica, probando distintos solventes (etanol e isopropanol) y catalizadores ácidos (ácido nítrico, ácido acético y clorhídrico).

- Preparación de la Resina Acrílica:

Para reforzar esta propiedad, se realizó una mezcla con un polímero (polimetil meta acrilato, PMMA), que es un polímero transparente y ampliamente conocido en el mundo de los recubrimientos.

- Preparación del material compuesto Resina Acrílica / Titania:

Se realizaron distintos grados de hidrólisis del sol gel y distintas proporciones del polímero en esta mezcla para tratar de obtener una mejora de la propiedad. Se probaron estas formulaciones debido a que daban distintas propiedades a las soluciones entre sí.

Muestra	PMMA preparado	Sol-gel de Titania
A1, B1	66.6%	33.3%
A2, B2	50%	50%
A3, B3	33.3%	66.6%

- Preparación del material compuesto Resina Acrílica/Titania/Alúmina:

Este material se preparó mezclándose el sol de titania con el polvo de alúmina al 2% p/v, para posteriormente mezclarse vigorosamente con el PMMA. Las películas de polímero se prepararon por vaciado sobre los sustratos de acero y acrílico. Este es secado a temperatura ambiente por un día.

Caracterización

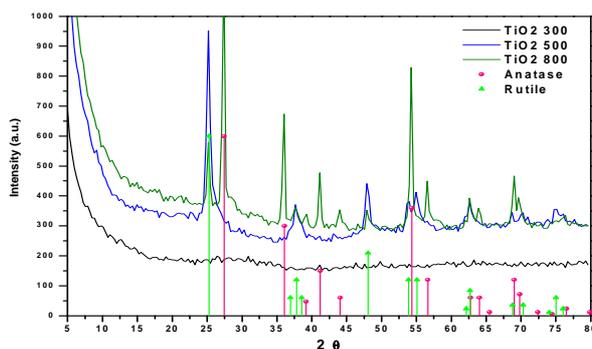
Viscosimetría

Se caracterizó la viscosidad de las soluciones cerámicas en la búsqueda de una correlación. Se realizó lo mismo para las mezclas cerámico poliméricas a 75°C-80°C con un baño recirculatorio debido a que a esta temperatura se fluye mejor la mezcla para hacer el depósito y se midió la evolución de la viscosidad en un tiempo corto porque aumentaba rápidamente.

Muestra	A1	A2	A3
Viscosidad (cp)	330	1500	4500
Temperatura (°C)	75	80	80

Difracción de rayos X

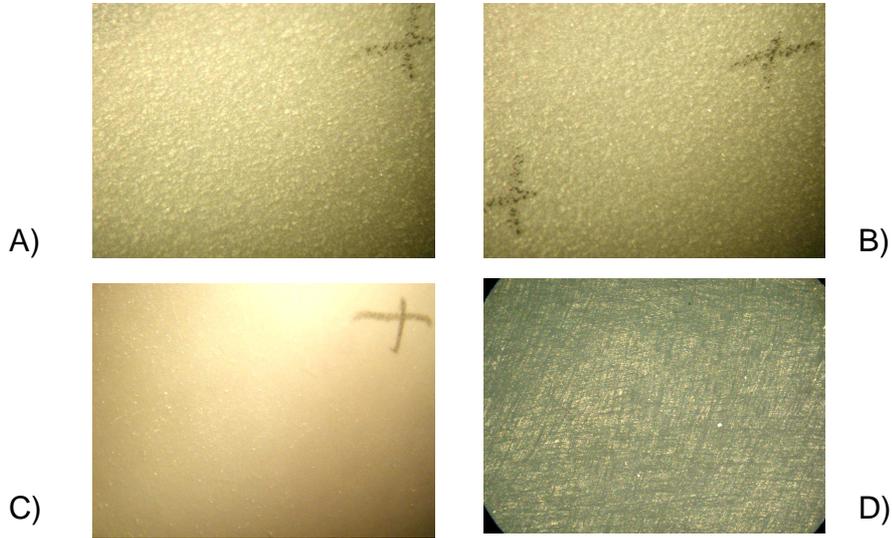
La Figura 1 muestra patrones de rayos X de los polvos de sol de titania calcinado a varias temperaturas por 1 h. se observa como a 300°C no se observa mucha cristalinidad, al aumentar a 500°C, se empieza a mostrar la fase anatasa, a 800°C se empieza a presentar una mezcla entre la fase rutilo y anatasa. Esto significa que la transformación probablemente se da entre 500°C y 800°C, más bajo que en la presencia de otros solventes como agua en exceso.



Pruebas de abrasión (taber)

Se realizaron pruebas de abrasión sin carga para probar el recubrimiento B1 y B1-Al. en las imágenes se muestran las marcas de el abrasivo, se observa claramente que la propiedad antiabrasiva se refuerza con la presencia de alúmina. Se intentó realizar perfilometría para medir la rugosidad después de la abrasión pero no fue detectable por el equipo.

Fotografía por microscopio óptico del recubrimiento $\text{TiO}_2/\text{PMMA}/\text{Al}_2\text{O}_3$ (B1/Al) sobre sustrato de acrílico mostrando el aspecto de la superficie, (a) antes de la prueba de abrasión taber y (b) después de la prueba de abrasión taber.



Fotografía por microscopio óptico del recubrimiento TiO_2/PMMA (B1) sobre sustrato de acrílico mostrando el aspecto de la superficie, (c) antes de la prueba de abrasión taber y (d) después de la prueba de abrasión taber.

Microscopio óptico/Estereoscopio

En las muestras se presenta brillo en el recubrimiento, al intentar realizar su caracterización por microscopía electrónica de barrido se encuentra que estos desaparecen al aplicar vacío en la cámara. Por lo que se caracterizan por esta vía, en la Figura, se observan una serie de crecimientos de cristales que muy probablemente correspondan a titania.



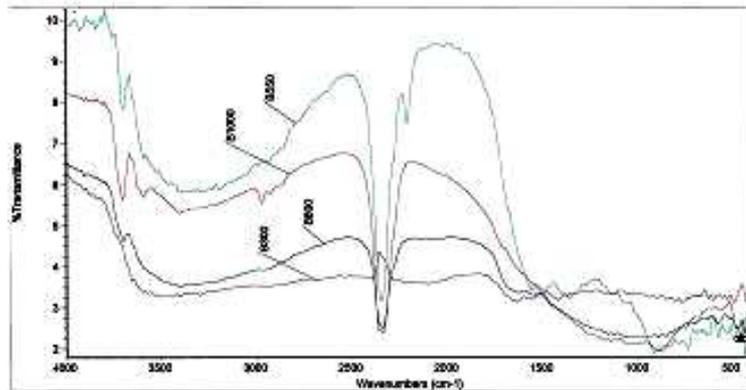
Fig. Micrografía de la muestra B sobre acrílico presentando crecimientos de cristales de titania.

Exposición a luz UV

Se exponen las muestras a la degradación de rayos UV, ($\lambda=340$ nm, 0.77 W/m², 30°C) a 1h, 6 h y 8 h de exposición. Se muestra un oscurecimiento apreciable en todas las muestras, las muestras aparentemente regresan a su color original con ligeras modificaciones.

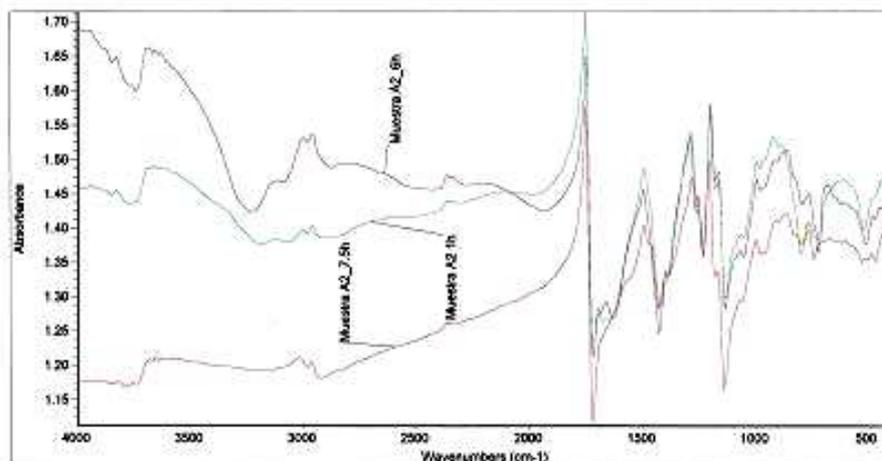
Espectroscopia Infrarrojo

Los espectros IR de los polvos de los soles de titania con tratamientos térmicos a diferentes temperaturas se muestran en la Figura.



Se observan vibraciones de la fase Anatasa a los números de onda de 434 cm^{-1} y 485 cm^{-1} .

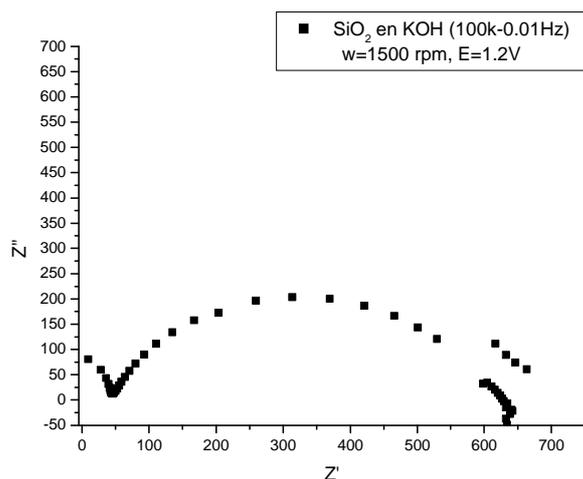
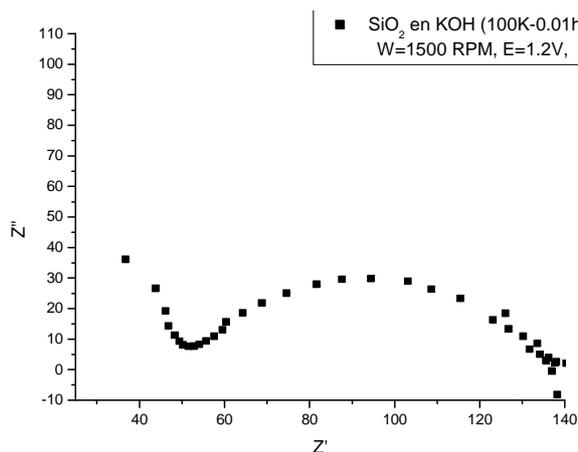
En la figura se observan los espectros IR de las películas de PMMA/TiO₂ se realizó IR para los tiempos de exposición mencionados anteriormente mediante el cual no se observa ningún pico distintos entre sí para las muestras del tipo A cuya diferencia es la cantidad de polímero en solución.



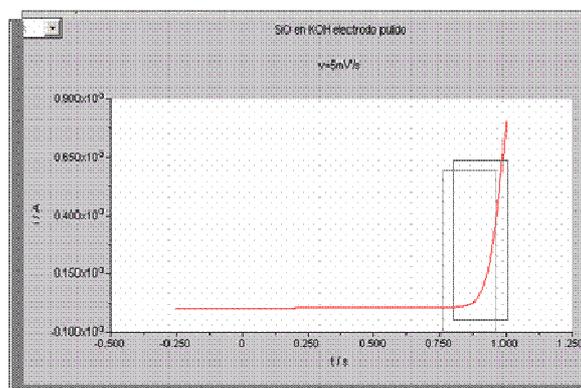
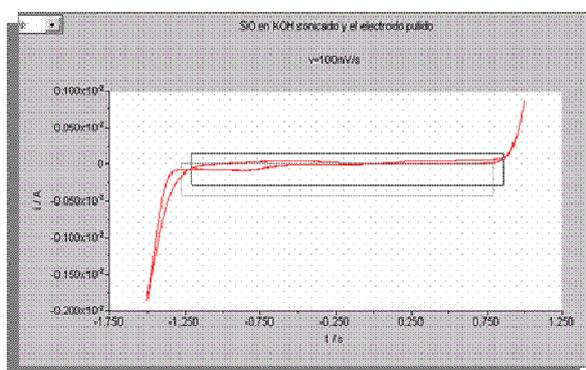
1. Seguimiento electroquímico de un depósito electroforético de sílice coloidal por Espectroscopia de Impedancia Electroquímica y Curvas de Polarización.

Las actividades que se llevaron a cabo en el laboratorio fueron el seguimiento de la sílice coloidal depositada sobre el acero.

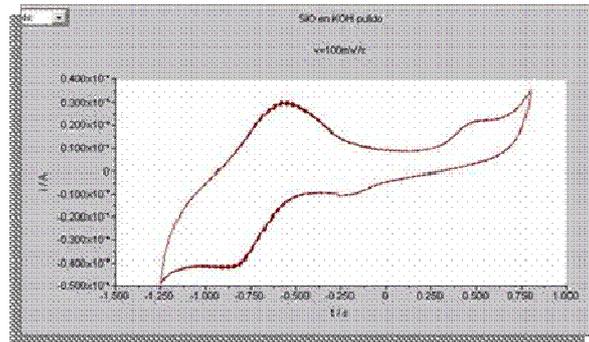
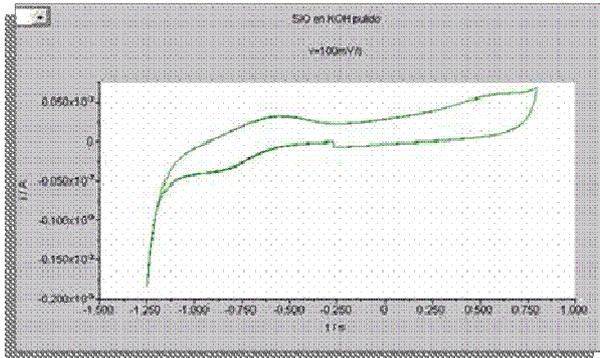
Se realizó un estudio por EIS para poder determinar la cinética de depósito de sílice coloidal con el voltaje que se logra un depósito con el espesor deseado y las propiedades estéticas deseadas.



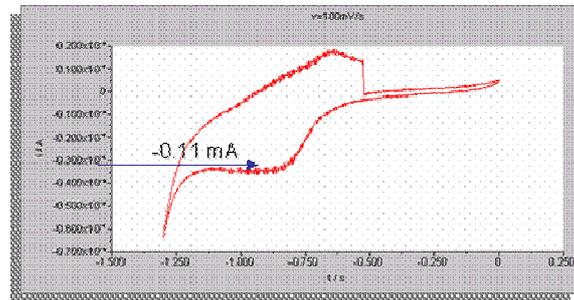
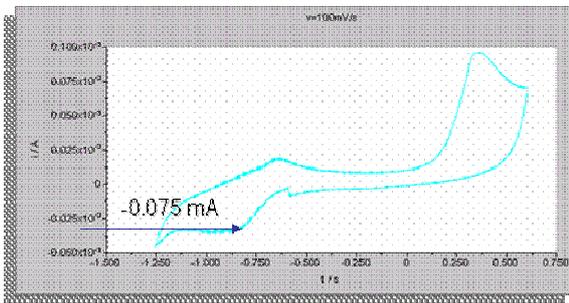
Debido al ruido que se generó en el espectro de impedancia, se realizaron voltamperometrías de la sílice coloidal sobre substratos de acero inoxidable para conocer la ventana de trabajo.



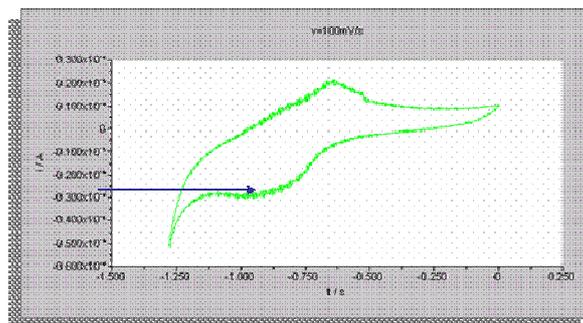
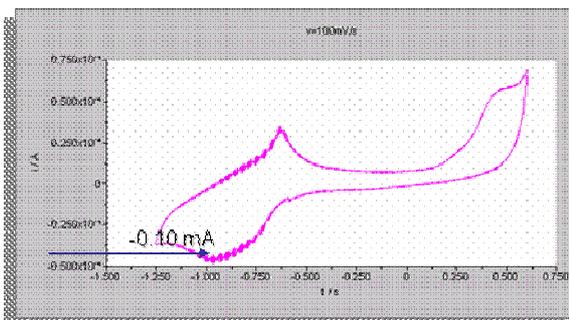
Se trabaja en otra ventana de trabajo para determinar a detalle el proceso de oxido-reducción de la sílice coloidal sobre el acero inoxidable. Se encuentra la formación de dos nuevas especies, se sospecha de la influencia del KOH en el comportamiento del sistema de sílice coloidal.



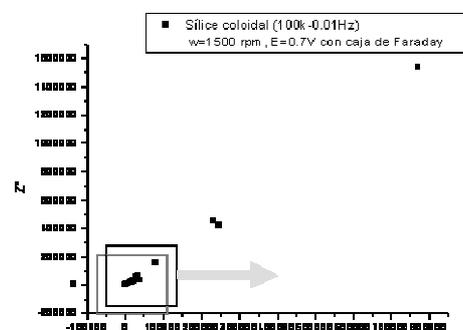
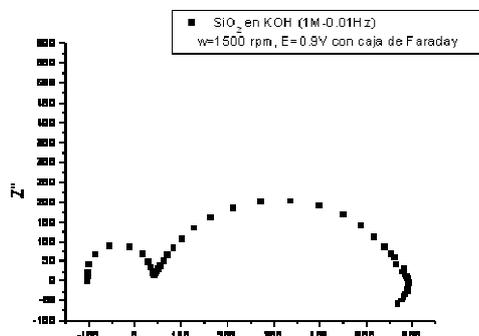
Se realizan voltamperometrías del KOH a la concentración de la solución y se encuentra que ejerce un fuerte efecto en el comportamiento redox.



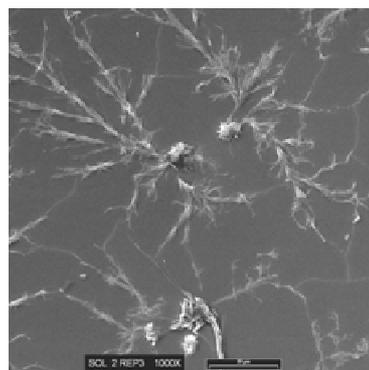
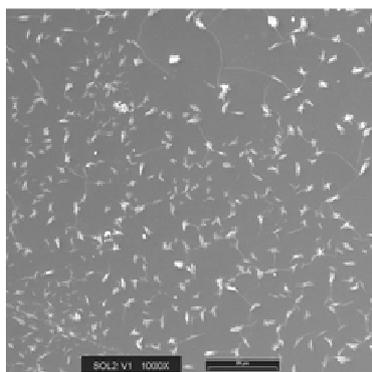
Influencia del medio alcalino en el comportamiento del electrodo



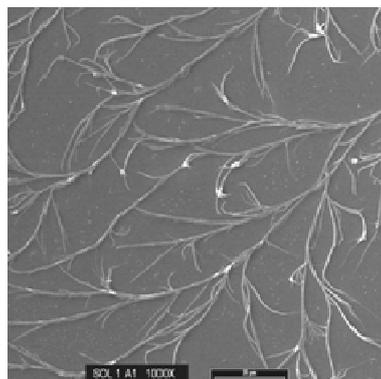
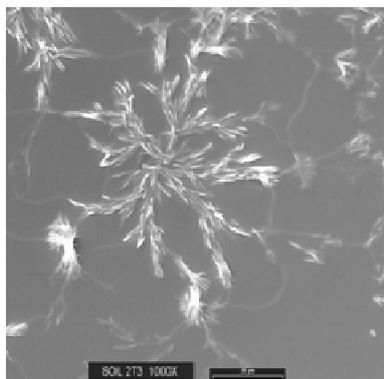
Con estos valores se realizan nuevas EIS y se encuentra que tenemos un sistema muy resistivo



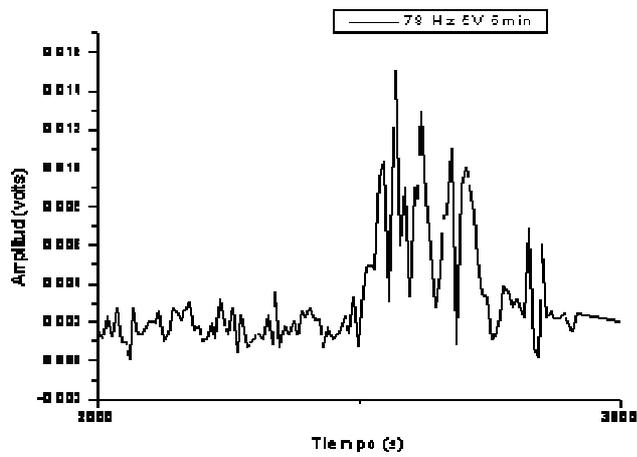
Se realizaron por MEB el estudio de la microestructura de la sílice coloidal, a los voltajes a los que se relizaron los depósitos y se encuentra la formación dendrítica



Influencia del medio alcalino en el depósito



Se realizó el seguimiento del depósito de sílice coloidal sobre acero por espectroscopia fotoacústica



Se encuentra que a 78 Hz tenemos la detección del depósito de sílice coloidal.

I.2.2 Híbridos Poliméricos Orgánico-inorgánicos.

Recubrimientos híbridos y compositos

Formulación de suspensiones coloidales clasificadas de acuerdo a las características fisicoquímicas de la suspensión, microestructura, propiedades mecánicas y químicas del recubrimiento.

Híbridas cerámicas

Cerámicas con agentes dispersantes o adhesivos

Híbridos polímero-cerámico

Compositos cerámico-polimérico

Combinación cerámico-galvánico

Híbridas cerámicas

Sol-gel de los anteriores mezclados con polvos de titania, itria, ceria, zirconia y alúmina. Se realizan formulaciones a partir de combinaciones de sol-gel y partículas cerámicas para reforzar sus propiedades mecánicas y anticorrosivas y se depositan por electroforesis anódica y catódica sobre substratos de acero 1018 y 304.

SOL-GEL	PARTÍCULAS				
	CeO ₂	Y ₂ O ₃	ZrO ₂	Al ₂ O ₃	TiO ₂
ZrO ₂ al 20%	1%	1%		0.5%	0.5%
Al ₂ O ₃ al 4.5%	2%	2%	2%		2%
TiO ₂ al 20%	1%	2%	1%	2%	

Cerámicas con agentes dispersantes o adhesivos

Se realizaron formulaciones con distintas concentraciones de polvos cerámicos de ZrO₂, Al₂O₃, TiO₂, CeO₂ y YSZ en medios polielectrolíticos de PVA, PEG y PEI para cambiar las propiedades de carga superficial de la partícula y su adherencia al sustrato.

Polielectrolito	PARTÍCULAS				
	CeO ₂	Y ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	ZrO ₂	TiO ₂
PVA al 2%					
PEI	10%		5%		
PEG					

Híbridos polímero-cerámico

Se realizaron polymerizaciones del monómero MMA variando las condiciones de la polymerización con partículas cerámicas con y sin agentes de acople para ver las variaciones de las propiedades del recubrimiento.

Agente Acople	PARTICULAS				
	ZrO ₂	Al ₂ O ₃	TiO ₂	CeO ₂	Y ₂ O ₃
MPMS	20%	0.5%	0.5%	1%	1%
VTES	2%	4.5%	2%	2%	2%
APS	1%	2%	20%	1%	2%
GLYMOS					

Compositos cerámico-polimérico

Se realizó la disolución de polímero PMMA en distintos medios solventes para ver el efecto de estos en las propiedades de la solución, su afinidad con el cerámico y las propiedades de adherencia del recubrimiento resultante.

PMMA/ Solvente	SOL-GEL		
	ZrO ₂	Al ₂ O ₃	TiO ₂
HEMA	20%	0.5%	0.5%
MMA	2%	4.5%	2%
DO	1%	2%	20%

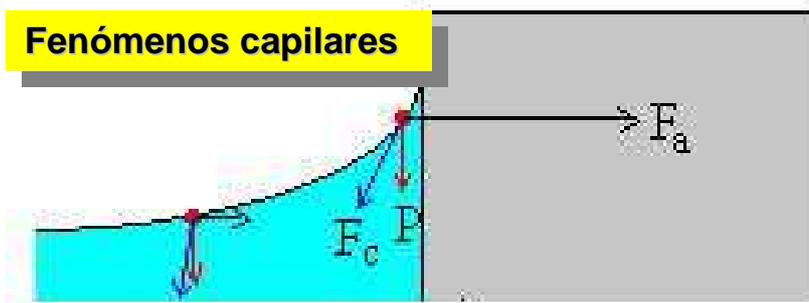
Combinación cerámico-galvánico

Se realizaron depósitos electroforéticos de las matrices cerámicas anteriormente mencionadas y sobre el recubrimiento cerámico sinterizado se hizo posteriormente el depósito de Níquel por medios galvánicos para mejorar el desempeño como barrera y protección contra la corrosión (aún se tiene por evaluar esto).

Determinación del tiempo y corriente necesarios para lograr un espesor determinado de Ni.

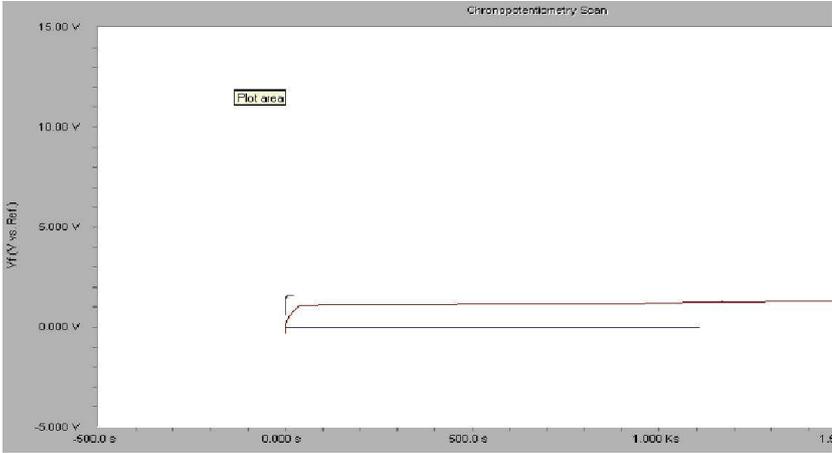
Area a recubrir (cm ²) =	1.5
Espesor en micras =	2
Volumen (cm ³)=	0.0003
masa (grs)=	0.00267
Tiempo (min)=	3.36523138
Corriente (A)=	0.045

Fenómenos capilares



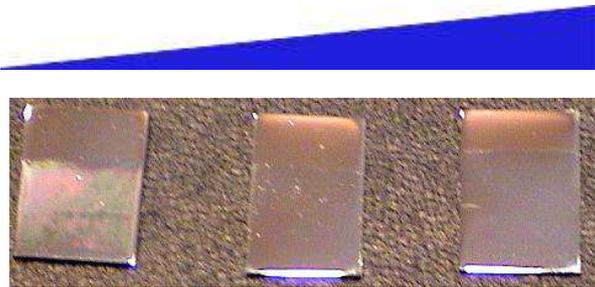
RESULTADOS

Tiempo de inmersión con corriente aplicada

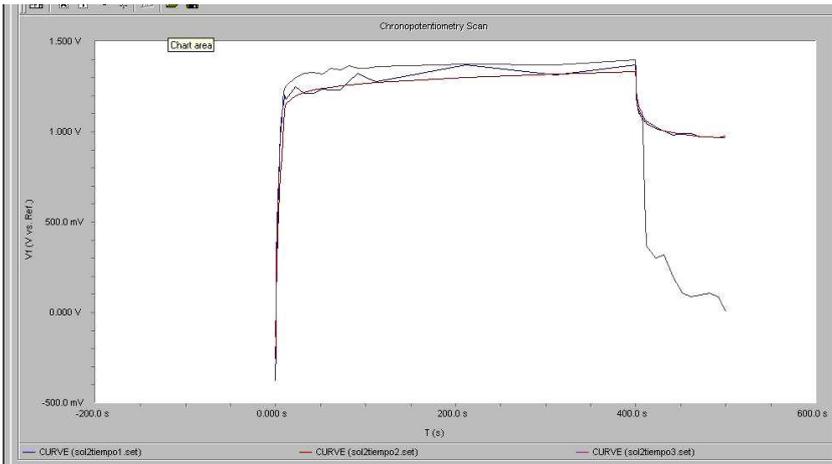


$$I = \frac{NQ^2E}{6\pi\eta r}$$

$$u_e = \frac{\xi\varepsilon}{1.5\eta} f(\chi r_p)$$

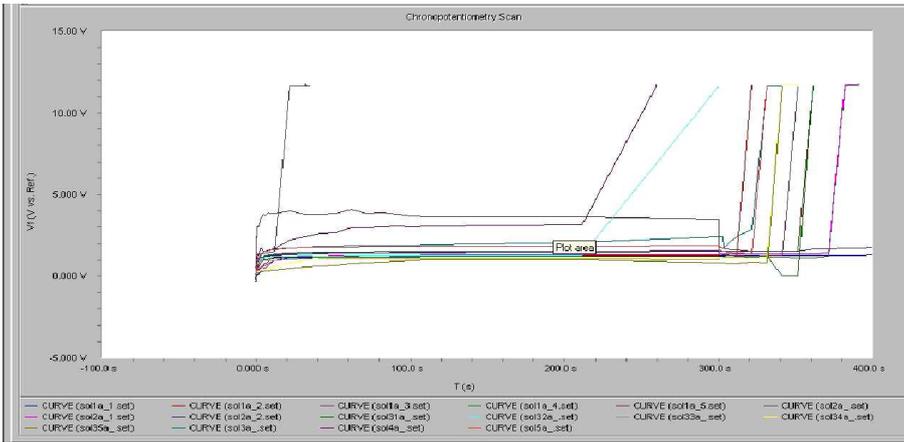


Velocidad de remoción

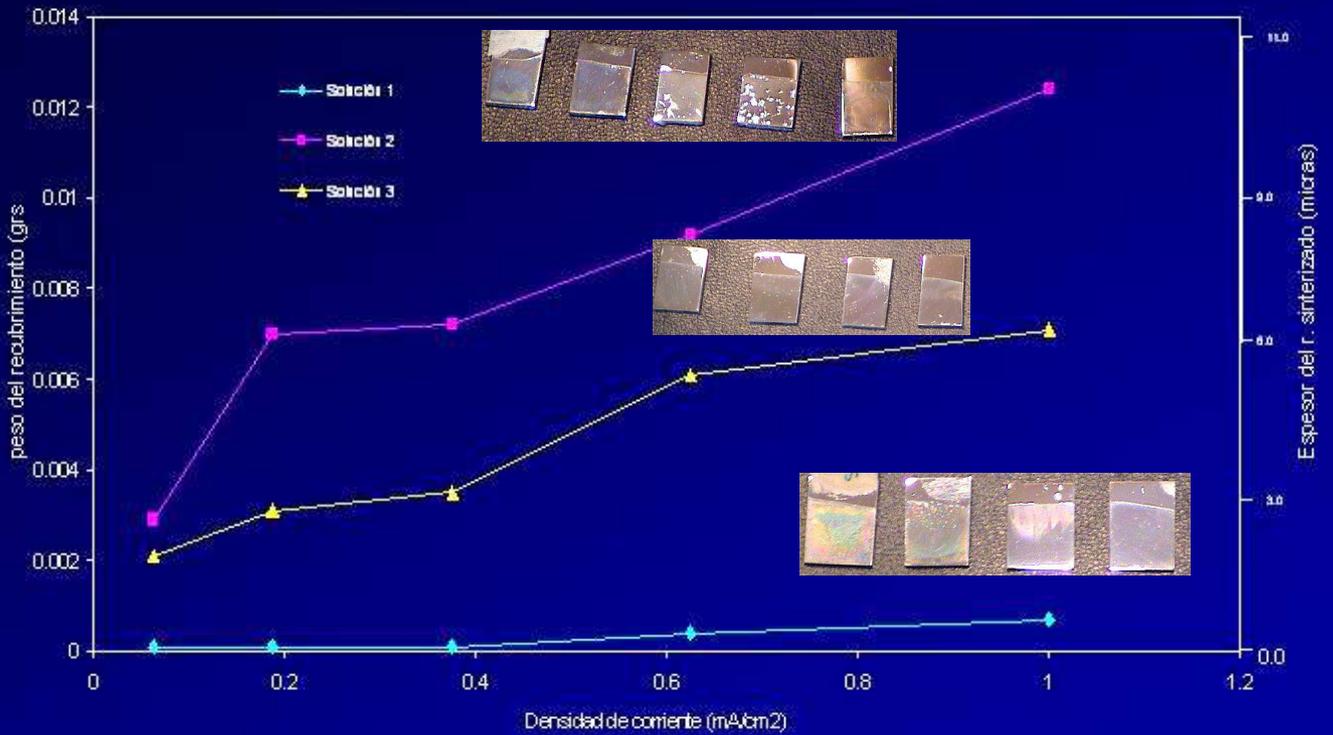


Fenómenos de interferencia

Remoción con corriente aplicada

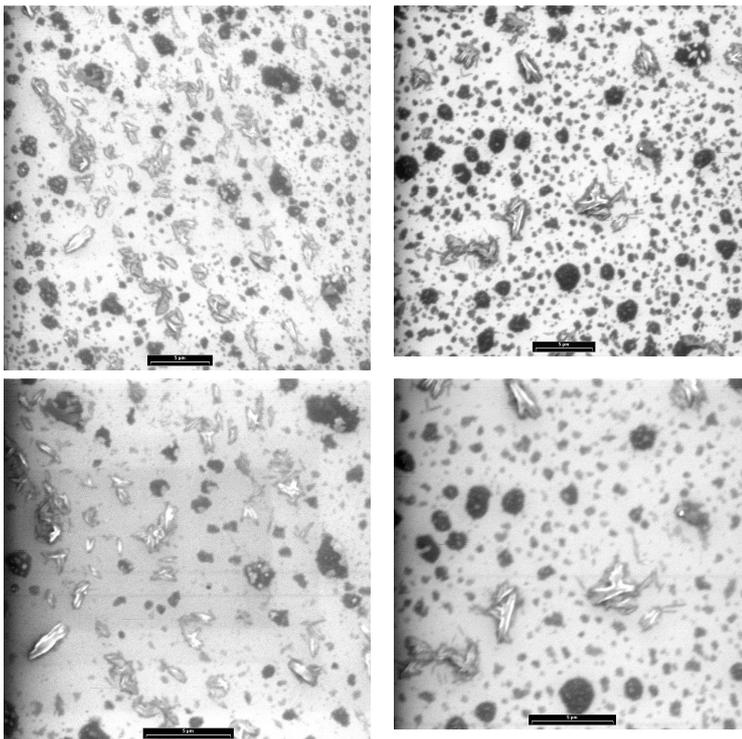


CAMBIO DE PESO DE RECUBRIMIENTO VS DENSIDAD DE CORRIENTE

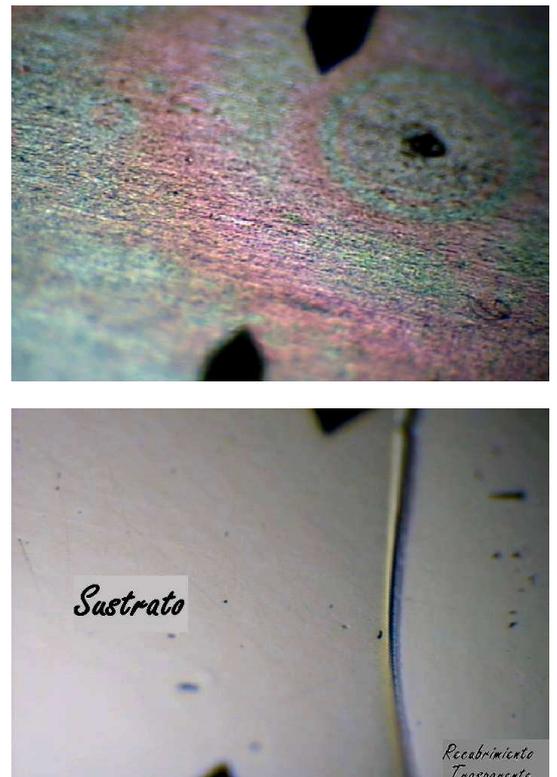


Evolución de la masa por área del material obtenido por deposición electroforética como función de la densidad de corriente

•SEM



•Perfilometría



Corrosión

Curvas de polarización del acero 304 , con y sin recubrimiento de 6 micras de espesor, probado en una solución al 3.5% de NaCl.

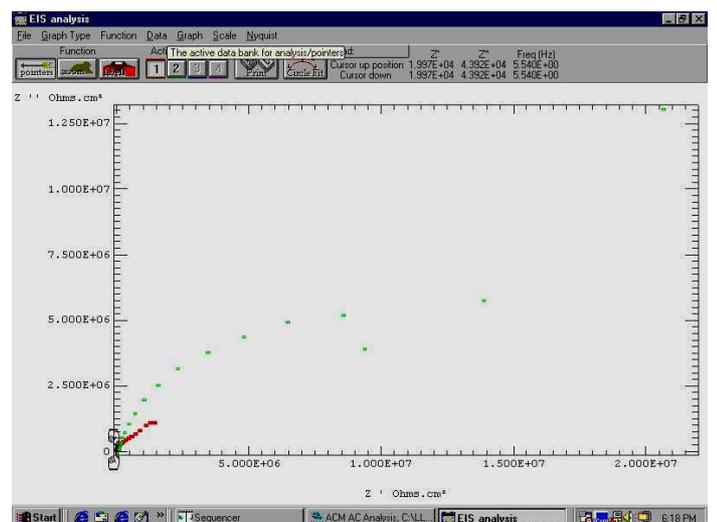
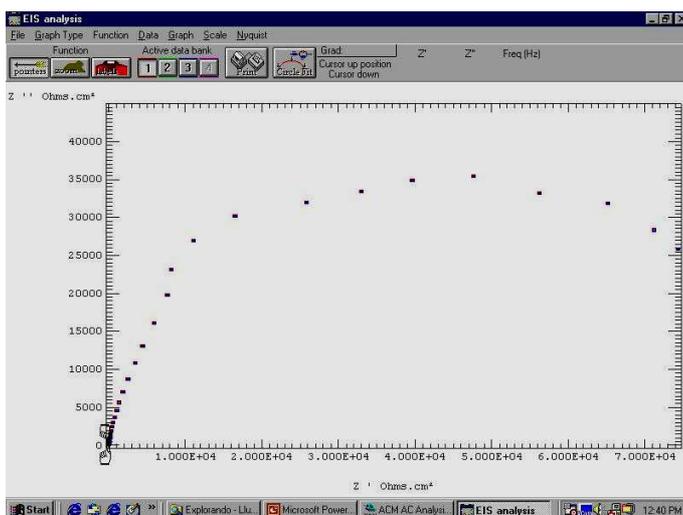
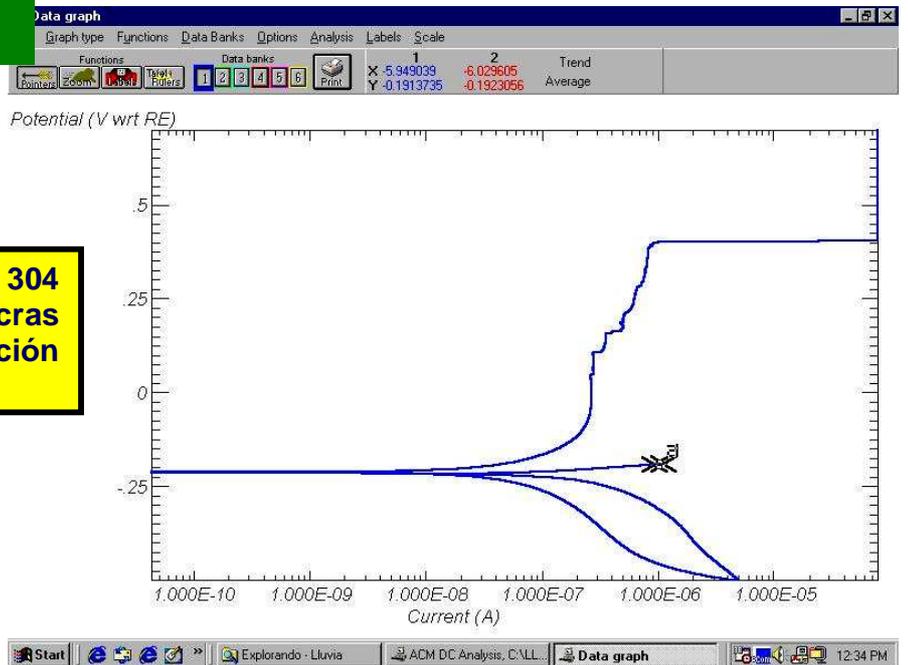
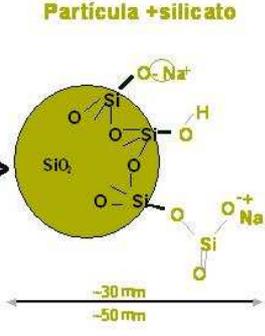
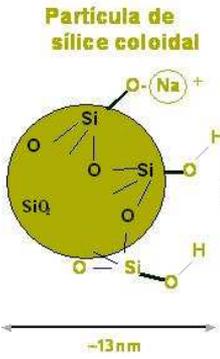
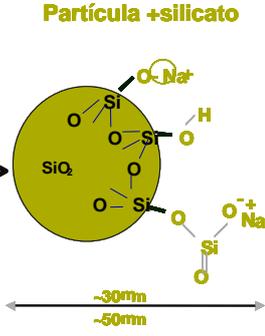
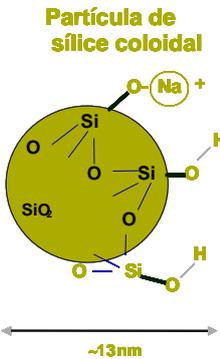
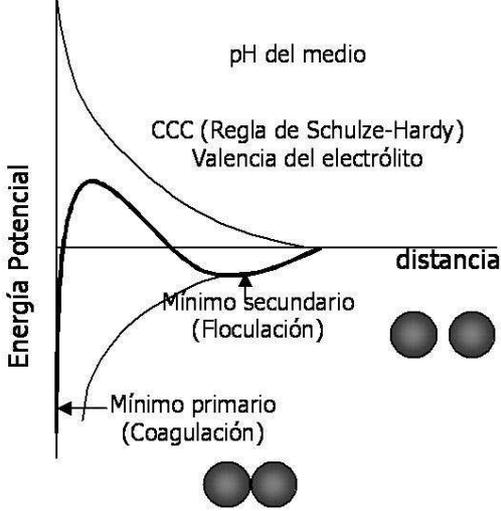
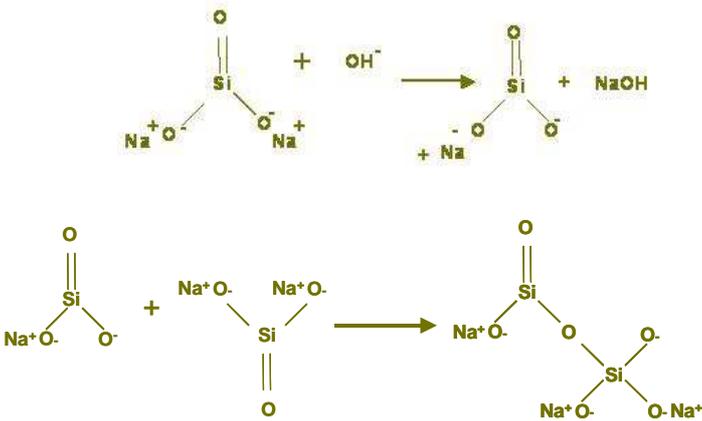
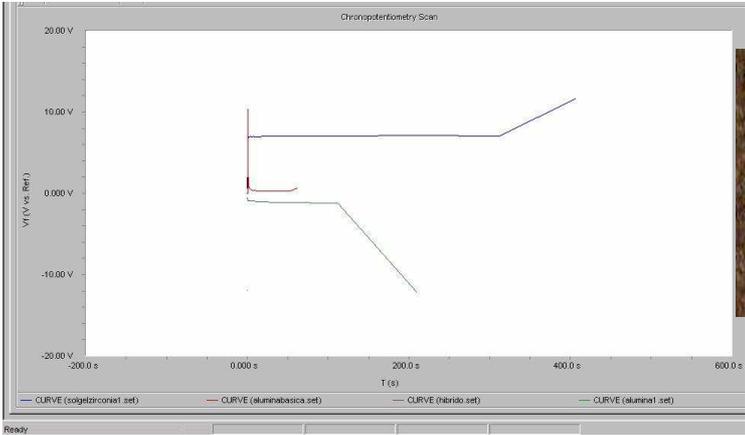


Diagrama de impedancia del acero 304 con y sin recubrimiento después de 5.5 hrs en solución de NaCl al 3.5%

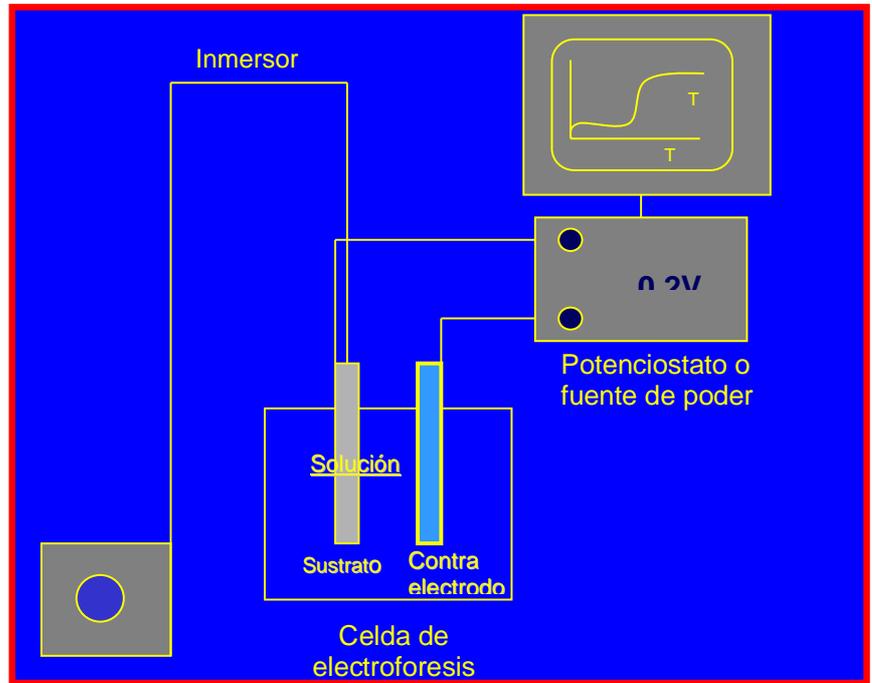
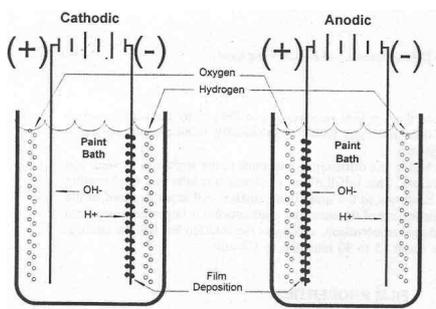
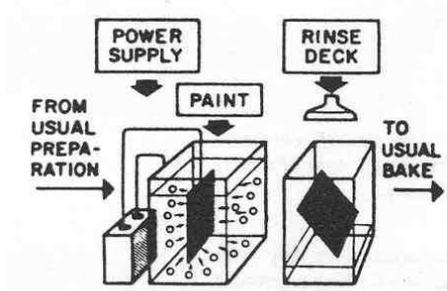
Otros sistemas

•TiO₂, ZrO₂ y Al₂O₃





ELECTROCOATING TRADICIONAL



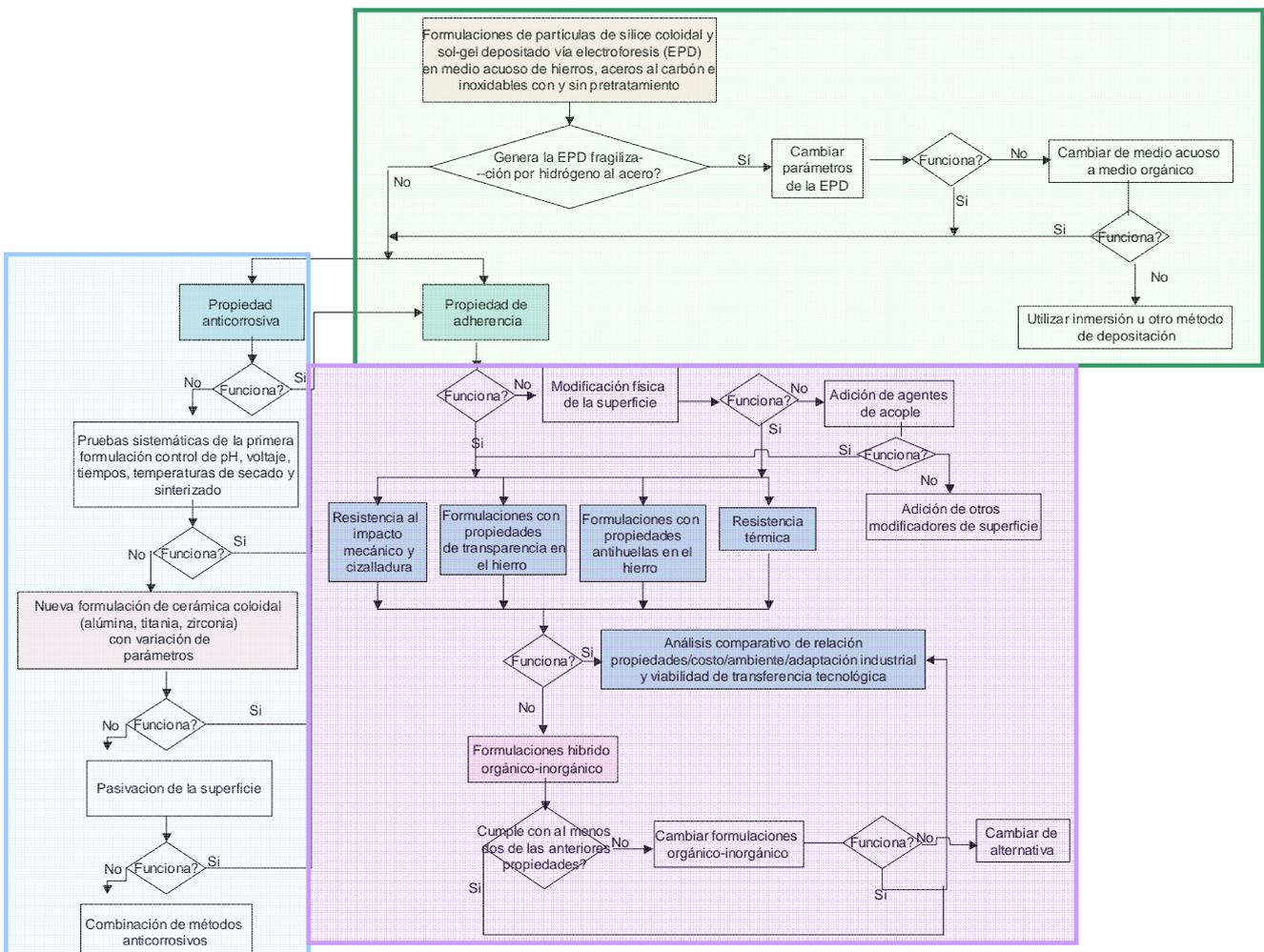
II. METODOLOGÍA

La metodología de aplicación de las formulaciones descritas anteriormente, se ha señalado también en esa misma sección.

En cuanto a la metodología experimental seguida en laboratorio, se llevo a cabo de acuerdo al diseño de experimentos en cada una de las temáticas abordadas ya descritas.

La metodología en la toma de muestras en la Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guanajuato, se realizo conforme a un esquema de la misma tomando en cuenta que esta constituida por un mosaico de canteras colocadas en diferentes periodos y con diferentes grados de deterioro, no solo directamente relacionado a su antigüedad sino a diversos otros factores como: ambientales, humanos, fuente de las canteras, etc.

La metodología en el estudio de formulaciones y depositos para la protección de metales se ilustra en el diagrama siguiente:



III. PUBLICACIONES NACIONALES

En Diciembre de 2005 se hizo el envío de un artículo de difusión a la revista Ciencia (CONACyT) para su consideración, mismo que se incluye en este informe en los anexos.

A continuación se mencionan los trabajos presentados en congresos nacionales, por parte de los participantes del proyecto y relacionados con éste:

1. **Estudio y Caracterización de Recubrimientos Híbridos PMMA-SiO₂ en Sustratos Metálicos de Cobre y Acero**, Diana Morales Acosta, José de Jesús Pérez Bueno, XX Congreso de la Sociedad Mexicana de Electroquímica, V Congreso de la Sociedad Mexicana de Hidrógeno, Temixco, Morelos del 22 al 27 de Mayo de 2005.
2. **“Estudios de Biodeterioro de Materiales Pétreos del Templo de la Basílica Colegiata de la Ciudad de Guanajuato”**, Ing. Veridiana Reyes Zamudio, Dra. Carmen Cano Canchola, Dr. Jorge Cervantes Jáuregui, José Luis González M., Dr. José de Jesús Pérez Bueno. XL Congreso Mexicano de Química, Sociedad Química de México, A.C., Morelia, Mich., 25-29 de Septiembre de 2005.
3. **“Silane Coupling Agents effect in hybrid PMMA-SiO₂ coatings on metallic substrates”**, D. Morales-Acosta, J.J. Pérez-Bueno, XXV Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Materiales (SMCTSM), Zacatecas, Zac., México, del 26 al 30 de Septiembre de 2005.
4. **“Diseño de Marcadores Moleculares Útiles para la Identificación de Bacterias en Cantera Usando Alineamientos Computacionales”**, José Luis González Montoya, Aurelio Álvarez Vargas, Carmen Cano Canchola, Veridiana Reyes Domínguez, Jorge Cervantes Jáuregui, José de Jesús Pérez Bueno. *IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, 4 - 7 Abril 2006*. Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Michoacán, México.
5. **“Identificación Molecular de Microorganismos Presentes en Canteras de la Basílica de Guanajuato y Modelaje Teórico de Biodeterioro”**, José Luis González Montoya, Aurelio Álvarez Vargas, Carmen Cano Canchola, Veridiana Reyes Domínguez, Jorge Cervantes Jáuregui, José de Jesús Pérez Bueno. *IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, 4 - 7 Abril 2006*. Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Michoacán, México.

IV. PUBLICACIONES INTERNACIONALES

Al momento de presentación de este informe, entre los integrantes del grupo de colaboradores participantes en el proyecto, se tiene contemplado estar redactando un manuscrito relacionado con Biodeterioro para someterlo a su revisión en la revista *Journal of Cultural Heritage*, particularmente con la identificación de especies de hongos presentes en cantera con señales evidentes de biodeterioro pertenecientes a la Basílica de Guanajuato.

Es necesario hacer la aclaración, que el tema abordado y el carácter multidisciplinario con el cual se trató el proyecto, enriqueció el trabajo. Sin embargo, a la vez hizo más compleja y requirió que se revisara con mayor detenimiento la posible publicación de resultados. Por ello, aún cuando los participantes individualmente han realizado otras publicaciones en el periodo del proyecto relacionado o no con el tema, el grupo de colaboración esta aún en proceso de afinación de la publicación conjunta de resultados.

En el presente informe, no se puede presentar una publicación como entregable, pero se indica estar en proceso de hacerla y se muestran resultados que avalan esta posibilidad.

A continuación se mencionan los trabajos presentados en congresos internacionales, por parte de los participantes del proyecto y relacionados con éste:

Sesión Oral:

“Coating with Silica Composite Materials: Organic-Inorganic Composites with incorporation of metallic oxides”, J.J. Pérez-Bueno, M.L. Mendoza-López, L.I.M. Flores-Tandy, J.F. Pérez-Robles, The 14th International Symposium on Organosilicon Chemistry (ISOSXIV), 3rd European Organosilicon Days, Würzburg, Germany, July 31 – August 5, 2005.

Sesión Poster:

“Silane Coupling Agents effect in hybrid PMMA-SiO₂ coatings on metallic substrates”, D. Morales-Acosta, J.J. Pérez-Bueno, The 14th International Symposium on Organosilicon Chemistry (ISOSXIV), 3rd European Organosilicon Days, Würzburg, Germany, July 31 – August 5, 2005.

“Silica Nanoparticles as Fillers in Formulations for Materials Consolidation”, C. Salazar-Hernández, S. Suggita, J. Cervantes, The 14th International Symposium on Organosilicon Chemistry (ISOSXIV), 3rd European Organosilicon Days, Würzburg, Germany, July 31 – August 5, 2005.

V. ESTUDIANTES

La formación de recursos humanos se detalla a continuación:

Ayudantes de Proyecto:

1. JOSÉ LUIS GONZÁLEZ MONTOYA

Procedencia: Instituto Tecnológico de Morelia.

Periodo de Participación: Febrero 2005 – Febrero 2006.

Asesores: Dr. José de Jesús Pérez Bueno y Dra. Carmen Cano Canchola.

Producto o Entregable: Tesis de Licenciatura. Esta aún esta en proceso de escritura al momento de entrega del presente informe, razón por la cual se anexa el protocolo de tesis aprobado por su institución de procedencia.

Descripción: Su participación consistió en el estudio del biodeterioro en cantera. En su trabajo de Residencia Profesional y de Tesis de Licenciatura en CIDETEQ, sus objetivos incluyen la identificación mediante decodificación genética de microorganismos presentes en áreas con biodeterioro en la Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guanajuato, actualmente centrándonos en el caso de los hongos.

2. JOSÉ FRANCISCO TORRES SALGADO

Procedencia: Facultad de Química, Universidad de Guanajuato.

Periodo de Participación: Julio 2005 – Julio 2006.

Asesor: Dr. Jorge Armando Cervantes Jáuregui.

Producto o Entregable: Tesis de Licenciatura: “Aplicación de mezclas de alcóxidos de silicio en la conservación de adobes y canteras”. Esta aún esta en proceso de escritura al momento de entrega del presente informe.

Descripción: Su trabajo como Ayudante de Proyecto ha consistido en aplicar hidrofugantes a canteras y adobes para su protección contra la permeación de agua líquida, la cual causa el deterioro de estos.

Participación de otros Estudiantes

Estudiante de Licenciatura (Estancia de Verano):

1. LIDIA EUGENIA MORÓN VERA

Procedencia: Facultad de Química, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Periodo de Participación: 09 Junio 2004 – Agosto 2004

Investigador Anfitrión (6º Verano de la Regio Bajío): Dr. José de Jesús Pérez Bueno.

Producto o Entregable: Informe y Poster.

Descripción: Su participación consistió en el estudio de formulaciones para la preservación de cantera y la caracterización de la misma

Estudiante de Maestría:

2. I.Q. **DIANA MORALES ACOSTA**

Procedencia: Maestría en Electroquímica, CIDETEQ, S.C.

Periodo de Participación: Junio 2004 – Julio 2006.

Director de Tesis: Dr. José de Jesús Pérez Bueno.

Producto o Entregable: Tesis de Maestría. Esta aún esta en proceso de escritura al momento de entrega del presente informe.

Descripción: Su participación consistió en el desarrollo de formulaciones con Alcoxilanos, materiales híbridos y agentes de acople para la preservación de metales contra la oxidación y corrosión, y el estudio electroquímico de la protección brindada a dichos sustratos.

Estudiantes de Doctorado:

3. **M. en C. VERIDIANA REYES ZAMUDIO**

Procedencia: Facultad de Química, Universidad de Guanajuato.

Periodo de Participación: Marzo 2004 – Julio 2006.

Director de Tesis: Dr. Jorge Armando Cervantes Jáuregui.

Producto o Entregable: Tesis de Doctorado. Ella aún se encuentra cursando el Doctorado al momento de entrega del presente informe.

Descripción: Su actividad en el proyecto se centró en aislar e identificar microorganismos heterótrofos de material pétreo del Templo de la Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guanajuato.

Justificación: La participación de los microorganismos en los procesos de deterioro de materiales pétreos de monumentos con valor histórico está claramente establecido en la literatura, sin embargo, en nuestro Estado, no se han realizado investigaciones que estudien las comunidades microbianas presentes en estos materiales, pese a contar con una gran cantidad de monumentos construidos con dichos materiales.

4. **M. en C. LLUVIA MARISOL FLORES TANDY**

Procedencia: Doctorado en Electroquímica, CIDETEQ, S.C.

Periodo de Participación: Marzo 2004 – Julio 2006.

Director de Tesis: Dr. Yunny Meas Vong.

Co- Asesor de Tesis: Dr. José de Jesús Pérez Bueno.

Producto o Entregable: Tesis de Doctorado. Ella aún se encuentra cursando el Doctorado al momento de entrega del presente informe.

Descripción: El objetivo de su trabajo es el desarrollo de formulaciones de cerámicos transparentes y no-transparentes para el depósito mediante Electroforesis y la protección de metales de la oxidación y corrosión.

VI. REDES

ACCIONES REALIZADAS CON LOS SECTORES USUARIOS:

Una iniciativa del **Dr. Jorge Cervantes**, Co-responsable del Proyecto, es establecer una red nacional con la participación de aquellos cuya actividad está relacionada con la Preservación de Piedra, ya sea *arenisca* o *caliza*, para lo cual se efectuó una reunión con la distinguida participación del Dr. George Wheeler quien labora actualmente en el Museo Metropolitano de Nueva York, experto en el área de preservación de piedra, especialmente con el uso de alcoxisilanos, autor del libro: ***Alkoxysilanes and the Consolidation of Stone (Research in Conservation Technical Report Series)***, Getty Trust Publications: Getty Conservation Institute (June 1, 2005), ISBN: 0892368152. A esta reunión también asistieron personas que en el ámbito nacional laboran en aspectos relacionados con la preservación de piedra, incluidos miembros del INAH local de Guanajuato. La iniciativa del Dr. Jorge Cervantes, resulta una excelente vía para que se cumplan varias de las observaciones hechas (por lo cual se mencionará en lo sucesivo, cuando se juzgue pertinente).

VII. INNOVACIÓN

Se ha desarrollado nuevos materiales con la finalidad de uso en la protección de piezas consideradas patrimonio cultural, con las formulaciones que se han indicado previamente. Su grado de innovación radica en el ajuste realizado para la aplicación en particular y su fácil aplicación. Además, se hace una aportación al conocimiento en el estudio de biodeterioro, lo cual llevó a la generación de una base de datos que permita la identificación de microorganismos en canteras, con un análisis por bloques en la secuenciación genética.

VIII. CULTURALES

En el proyecto, no se realizó pruebas de campo en la protección contra el deterioro de objetos e inmuebles históricos empleando las formulaciones desarrolladas. Se siguieron de cerca trabajos de restauración en algunas obras en la Ciudad de Guanajuato, por parte del grupo dirigido por el Dr. Jorge Cervantes.

Aún cuando la investigación realizada nos permite tener elementos para llevar a cabo la preservación de una obra del patrimonio cultural, los requisitos planteados en los anexos de este informe, además de factores como autorización por parte del INAH, infraestructura y personal calificado para tal tarea, han limitado esta actividad.

La información en el presente informe, aunado a la experiencia ganada por los integrantes del grupo multidisciplinario, permiten tener elementos que pueden ser de utilidad en las actividades que realiza el INAH, en el ámbito de la preservación de obras del patrimonio cultural tanto en cantera, adobe como de metal.

ANEXOS

Anexo A

I. Respuesta a Evaluación del Reporte de la Segunda Etapa.

Se vuelve a presentan a continuación la respuesta a las recomendaciones hechas por evaluadores del informe del proyecto correspondiente a la segunda etapa, ya presentada en el informe de la tercer etapa.

Observaciones Realizadas:

ANEXO
FOMIX D-03

Fecha: 17 de junio de 2005

Nombre del Proyecto: Protección de monumentos de metal o piedra con la aplicación de aerosol, brocha y/o permeación electroforética de materiales híbridos polímero-vidrio inertes y de gran adaptabilidad.

CLAVE: GTO-2003-C02-11490 (CIDETEQ)

Etapas: PRIMERA

INFORME TECNICO:

DICTAMEN:
CON RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES DE LA COMISIÓN DE EVALUACIÓN:

- El proyecto se puede considerar con una especial importancia con respecto al tema de salvación de los monumentos nacionales. Sin embargo los líderes del proyecto necesitan urgentemente contactar a los usuarios y presentar los resultados obtenidos en cada una de las etapas concluidas hasta ahora y discutir la posible dirección de colaboración en lo futuro.
- Es recomendable incluir a más estudiantes en el proyecto por ser atractivo y la necesidad de expertos en la preservación de los monumentos y tesoros culturales a nivel nacional.
- Este proyecto necesita demostrar, así como también el grupo interdisciplinario, que puede resolver el problema a nivel nacional.
- Se recomienda consolidar la colaboración interinstitucional para lograr avances mucho más significativos.
- No se especifica técnicamente en que consistió el trabajo desarrollado por lo que se solicita que en el siguiente informe se precise cuales son las formulaciones.

VóBo. Responsable del seguimiento técnico.

+

A. Contactar a los usuarios, presentar los resultados y discutir dirección de colaboración.

Siendo los potenciales usuarios todos y cada uno de aquellos que poseen o tienen bajo su resguardo un patrimonio cultural, edificación u objeto colonial, nos es difícil aproximarnos al usuario particular de forma significativa. La vía de encausar el desarrollo sería a través del **INAH**, tanto en Guanajuato como su extensión a nivel Nacional. Obviamente, el tratar con la preservación (con previa restauración del mismo) de este tipo de obra requiere el cumplimiento satisfactorio y probado de los requerimientos mencionados en el primer informe de este proyecto (Principalmente: Reversibilidad, similitud en los coeficientes de dilatación, no cambiar las condiciones estéticas, conservar las condiciones de permeabilidad del material, resistencia a la intemperie, Costos bajos).

El grupo del Dr. Jorge Cervantes y la Maestra Dolores Álvarez, ha estado trabajando de cerca con el INAH en Guanajuato, aún cuando no se han llevado a uso en sitio del trabajo realizado, por las implicaciones ya mencionadas.

B. Incluir a más Estudiantes y Expertos en preservación de monumentos y tesoros culturales a nivel nacional.

- Actualmente trabajan en líneas relacionadas con el proyecto:

Alumno	Asesor	Grado a Obtener	Tema
Veridiana Reyes Zamudio	Dr. Jorge Cervantes Jauregui	Doctorado	Alcoxidos para protección y estudio Biodeterioro de Materiales Pétreos
José Luis González Montoya	Dra. Carmen Cano Canchola Dr. José de Jesús Pérez Bueno	Licenciatura	Secuenciación Genética para identificación de Microorganismos en Biodeterioro
José Francisco Torres Salgado	Dr. Jorge Cervantes Jauregui	Licenciatura	Estudios de Alcoxidos en Adobes
Diana Morales Acosta	Dr. José de Jesús Pérez Bueno	Maestría	Alcoxisilanos, materiales híbridos y agentes de acople en la protección de metales
Lluvia Marisol Flores Tandy	Dr. José de Jesús Pérez Bueno	Doctorado	Alcoxidos y cerámicos en la protección de metales vía electroforesis

Probablemente faltaría incluir un estudiante dirigido por la Maestra Dolores Álvarez, participante del proyecto, quien tiene centrada su experiencia en el ámbito de restauración.

- **Incluir expertos en preservación de monumentos y tesoros culturales.**

Una iniciativa del **Dr. Jorge Cervantes**, Co-responsable del Proyecto, es establecer una red nacional con la participación de aquellos cuya actividad esta relacionada con la Preservación de Piedra, *ya sea arenisca o caliza*, para lo cual se efectuó una reunión con la distinguida participación del Dr. George Wheeler quien labora actualmente el Museo Metropolitano de Nueva York, experto en el área de preservación de piedra, especialmente con el uso de alcoxisilanos, autor del libro: ***Alkoxysilanes and the Consolidation of Stone (Research in Conservation Technical Report Series)***, Getty Trust Publications: Getty Conservation Institute (June 1, 2005), ISBN: 0892368152. A esta reunión también asistieron personas que en el ámbito nacional laboran en aspectos relacionados con la preservación de piedra, incluidos miembros del INAH local de Guanajuato.

La iniciativa del Dr. Jorge Cervantes, resulta una excelente vía para que se cumplan varias de las observaciones hechas (por lo cual se mencionara en lo sucesivo, cuando se juzgue pertinente).

C. Demostrar que se puede resolver el problema a nivel nacional (tanto por parte del Proyecto, como del grupo multidisciplinario).

La puesta en contacto con las instancias realmente pertinentes, el financiamiento, así como el cumplimiento con los requerimientos para preservación del Patrimonio Cultural constituyen elementos que hacen la brecha generalmente infranqueable en la transferencia de los desarrollos tecnológicos en el área.

Existen antecedentes de productos comerciales en uso actualmente, de la compañía alemana Degussa (<http://www.protectosil.com/chemtrete/en/info/technical.html>), con materiales químicos de la misma familia que los usados en la presente investigación, pero con fines de protección de edificaciones actuales, cuyo desempeño constata la viabilidad de obtener con esta línea de investigación la protección buscada en obra de interés histórico.

D. Consolidar la colaboración interinstitucional para lograr avances mucho más significativos.

El consolidar la colaboración en nuestro actual grupo de trabajo, una vez concluido el proyecto, y haciendo extensiva la invitación de colaboración con aquellos involucrados en la conservación de piedra, se vería favorecida con la puesta en marcha de un mecanismo como el de una Red Nacional de Preservación de Piedra en el Patrimonio Cultural (iniciativa actual del Dr. Jorge Cervantes).

E. Especificar técnicamente en que consistió el trabajo desarrollado (Precisar en este informe cuales son las formulaciones).

Una reporte detallado de las formulaciones, para la protección de superficies metálicas, podría constituirlo la tesis de Maestría de la I.Q. Diana Morales Acosta (CIDETEQ, .S.C.), a presentarse antes de la conclusión del proyecto.

Cabe mencionar que las formulaciones aplicables en rocas areniscas o con un gran contenido de Sílice (SiO_2), no constituyen una solución universal para piedra, ya que por el uso de alcoxisilanos no serían útiles en rocas calizas, a lo cual pudiese aplicarse el trabajo con Malonatos del Dr. Juan Méndez Vivar, Director de la Facultad de Química de la UAM-Iztapalapa.

Entre otras, los resultados mencionados en el reporte anterior¹, se refiere al uso combinado de Sílice Coloidal (~ 15 nm), con Metasilicato de Sodio, utilizado en parte como fuente de sílice y promotor en el crecimiento y coalescencia de partículas de la solución coloidal, catalizado con hidróxido de potasio en baja proporción. Esta solución acuosa transparente de sílice ha sido empleada como consolidante, es decir, para reforzar la estructura interna del material a proteger. Sin embargo, por un lado adverso ello no vuelve hidrofóbica (impedir la entrada de agua líquida) a la superficie pero por el otro lado tampoco impide al materia que “respire”, que tenga un intercambio de vapor de agua con el ambiente, aspecto necesario que constituye uno de los requisitos para el uso en conservación, estos materiales son llamados hidrofugantes.

Se ha buscado proveer del carácter hidrofóbico al material, pero las varias opciones conllevan dificultades que lo hacen no viable.

En pruebas hechas en laboratorio, con diferentes muestras de cantera, el hacer una segunda aplicación con una resina también base agua, ha resultado satisfactorio en algunos aspectos aunque se anticipa que habrían carencias en lo que debe cumplir el tratamiento hecho, como por ejemplo, resistencia a UV y el aspecto hidrofugante de permitir la entrada al vapor de agua y bloquear el paso a agua líquida.

Por otro lado, los materiales actualmente empleado en los productos comerciales mencionados de la compañía Degussa, son: Alkyltrialkoxysilane, Octyltriethoxysilane, isobutyltrialkoxysilane. Estos en principio proveerían el aspecto hidrofugante y, mediante el uso de un aditivo oleofóbico (e.g., dynasilan® BH-N Plus), se evitaría que la superficie se ensucie con grasa o incluso de pintura, como ocurre en el caso de graffiti (e.g.,), con la ventaja de no ser una pintura en si, sino un tratamiento que deja el aspecto externo sin alteración alguna.

¹ Reporte 2ª Etapa: “De acuerdo a los entregables de esta etapa, se tiene una formulación para la aplicación en cantera. La formulación actual consolida, deja una superficie hidrofóbica que impide el paso de agua líquida, además aumenta muy notablemente la resistencia al rayado, no deja alguna película perceptible en superficie, ni es reflejante. Lamentablemente, la aplicación deja una apariencia de mojado, lo cual aviva el color y le hace verse más oscuro. Aún cuando esto pudiese en algunos caso resultar ventajoso en canteras comerciales, no es permisible en el área de conservación.

Una formulación alternativa que no cambia la apariencia superficial de la cantera, resulta solo semi-impermeable, lo cual se explorará en combinación con otras formulaciones. En este caso, también habría que explorar la estabilidad a UV de la aplicación hecha, ya que a mayor hidrofobicidad en la formulación mayor contenido orgánico. Se probará en la siguiente etapa también incluir elementos que sean antibacteriales.”

Anexo B

Análisis de Composición de Canteras por Fluorescencia de Rayos X

LFRX13205P



INSTITUTO DE GEOLOGIA
APARTADO PO-3AL 70-295 CIDAD UNIVERSITARIA
CASO MEXICO, D.F.

Departamento de Geoquímica
Noviembre 4, 2005.

Dr. José de Jesús Pérez Bueno
Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S. C.
Departamento: Electroquímica
Presente.

Me permito presentar los resultados del análisis químico por FRX de elementos mayores de las siguientes muestras:

	SiO ₂	TiO ₂	Al ₂ O ₃	F ₂ O ₃	MnO	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅	SO ₃	PxC	Suma
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Cantera gris	70.97	0.43	13.83	3.71	0.04	0.45	1.61	4.53	3.44	0.10	ND	0.45	99.56
Cantera rosa	77.22	0.07	11.83	1.34	0.04	0.26	0.37	2.09	4.73	0.02	ND	1.86	99.83
Cantera negra	60.59	1.04	16.30	6.81	0.09	1.64	4.21	4.07	3.04	0.38	ND	1.72	99.89
Cantera verde	75.66	0.18	13.44	2.25	0.04	0.27	0.26	4.15	1.84	0.03	ND	2.10	100.22

ND= No detectado

Procedimiento: La muestra molida es secada en la estufa a 110°C. Se pesan 0.5g de muestra y se funden con 10 g de metaborato de litio y tetraborato de litio en relación 1:1, para obtener una perla, la cuál es analizada en un sistema secuencial de FRX Siemens SRS 3000, utilizando un programa cuantitativo para la determinación de elementos mayores. La pérdida por calcinación (P X C) se determina pesando 1g de muestra y calcinando a 950°C por 1 hora.

La muestra de Ceniza B fue analizada también en el programa Semicuantitativo y además de los elementos mayores reportados se determinó la presencia de SO₃

Sin más por el momento, quedo de usted,

A t e n t a m e n t e

Quím. Patricia Girón García
Laboratorio de Fluorescencia de Rayos X

Ccp Ing. Enrique González Torres. Secretario Técnico del IGLUNAM
Dr. Peter Schaff. Jefe del Departamento de Geoquímica

Anexo C

Protección de Obras de Legado Histórico

... con la Vanguardia del Desarrollo Científico²

Dr. José de Jesús Pérez Bueno*, Dr. Jorge Cervantes Jauregui†

Las edificaciones y monumentos así como piezas de arte, todos son originalmente hechos con fines de funcionalidad o estéticas, pero aquellos realizados en determinado periodo histórico conforman hoy en día un legado cultural. La preservación de estas obras por su valor histórico es relativamente reciente y es hasta ahora regulado de tal forma que deben cumplirse una serie de requerimientos para la viabilidad de un proyecto de preservación (en México a cargo del INAH). Algunos de ellos son el que no se altere el aspecto general de la obra (no cambiar las condiciones estéticas), es deseable que haya reversibilidad en los tratamientos utilizados (aún cuando en los tratamientos actuales difícilmente se cumple tal condición), que los coeficientes de dilatación sean similares entre el material de protección y material original, conservación de los factores de permeabilidad, resistencia a factores ambientales y costos relativamente bajos. La finalidad es evitar hasta donde sea posible su deterioro con la menor alteración del estado actual de la obra.

Generalmente dichas obras sufren inexorablemente de deterioro por los factores ambientales, biológicos y humanos. Es para todos evidente un notable estado de abandono en el que se encuentran las obras que están en nuestro entorno cotidiano, ante el gran número de piezas e infraestructura que puede catalogarse como Patrimonio Cultural y la carencia de los recursos tanto humanos, económicos y de infraestructura, así como el conocimiento de la vanguardia de nuevos procedimientos y materiales para lograr la preservación. Además, es innegable que las condiciones que propician el deterioro se han visto incrementadas en las pasadas décadas conforme nuevos factores aceleran el deterioro, como por ejemplo, climas extremos, contaminación, fricción por contacto humano, lluvia ácida, etc. Incluyendo un fenómeno social como el graffiti, que viene a ser un factor más que considerar si deseamos poder dar a las siguientes generaciones el rico legado que actualmente posemos.

Uno de los principales fines en el tratamiento de inmuebles, incluidas las nuevas construcciones de edificios, carreteras de concreto y puentes, es hacer a la superficie de estas repelentes al agua. Actualmente hay en el mundo más de 200 empresas que venden repelentes de agua siendo muchos de

² Proyecto de Fondo Mixto CONACYT-Gobierno del Estado de Guanajuato GTO-2003-C02-11490: **Protección de monumentos y piezas históricas de metal o piedra con la aplicación por aerosol, brocha y/o permeación electroforética de materiales híbridos polímero-vidrio inertes y de gran adaptabilidad.**

* Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ), S.C.

† Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato.

estos productos similares. Un repelente de agua claro, por definición, es aquel que no cambia la apariencia de material original, pero algunos de ellos dejan un lustre o brillo. Los elementos activos de un repelente de agua pudiesen clasificarse burdamente en aquellos que forman una película o capa y aquellos que penetran la estructura, y estos últimos a su vez, en los hidrofugantes (que permiten el paso de vapor de agua) y los que consolidan. Dentro de los primeros se encuentran las **resinas de silicio** (silicon) que han sido usadas ya por más de 50 años y que consisten de ramificaciones con polidimetilsiloxano (PDMS) pero a las cuales se les ha culpado – en ocasiones sin fundamento – de reducir la transmisión de vapor de agua, amarillamiento, atrapar suciedad y oscurecer la estructura³. Los **acrílicos**, el principal tipo de formadores de recubrimientos usados en repelentes de agua, son fabricados por la polimerización de ácido acrílico, ácido metacrílico o acrilonitrilo y posteriormente esterificados⁴. En estos, el tipo de alcohol usado en la esterificación determina las propiedades físicas de la resina acrílica, por ejemplo, al usar metanol se obtienen un recubrimiento de resina duro. Otro tipo, son los **estearatos** como, por ejemplo, las sales de aluminio o calcio de ácidos pesados y a los cuales se les suele llamar jabones metálicos. Estos son insolubles en agua e imparten la repelencia al agua por la reacción con sales libres en los materiales de construcción y forman un recubrimiento llenando los poros del material.

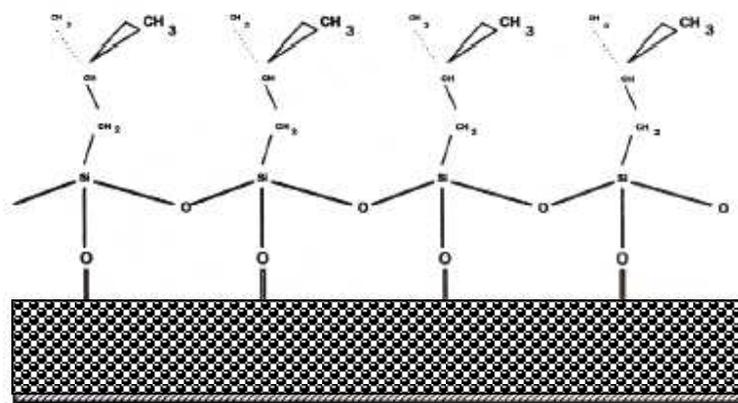


Figura: Enlaces de silano o siloxano con la superficie del sustrato.

Los materiales de protección que son penetrantes (**silicatos**, **siliconatos**, **silanos** y **siloxanos**), llamados así aún cuando usualmente no van más allá de 2.5 mm, entran a la estructura porosa del material y se depositan en las paredes de los poros, en los mismos poros o en ambos. Los silicatos y siliconatos son poco eficientes como repelentes de agua⁵, pero son solubles en agua y sin compuestos orgánicos volátiles

³ C.T. Grimm, "Clear Consequences", The Construction Specifier, (Alexandria, Virginia: Construction Specification Institute, May 1993), 143-152.

⁴ G.E. Weismantel, Paint Handbook (New York: McGraw-Hill Book Company, 1981), 3-20.

⁵ J. Raeber, Clear Water-Repellent Treatments for Concrete Masonry (Concrete Masonry Association of California and Nevada, 1993); (916) 722-1700.

(VOC). Los materiales penetrantes siliconatos, silanos y siloxanos⁶ no obstruyen los poros, estos tienen tanto un grupo funcional (alquil) que provee propiedades de repelencia al agua como un grupo funcional de silicio que controla el enlace con el sustrato. La forma de actuar de estos es reduciendo la tensión superficial de material a proteger, disminuyendo así la succión capilar de los poros, y ya que el vapor de agua no tiene una tensión superficial por contacto con la superficie protegida, este puede penetrar en la estructura. Cuando una presión externa, como por ejemplo el viento, se ejerce sobre una superficie mojada protegida por un grupo alquil bajo (de menor a mayor: metil, etil, propil, n-octil, i butil) en poros relativamente grandes es fuerza “anti-capilar” del material protegido puede vencerse y sería evidente que el agua líquida podría entrar.

Si además del factor de impermeabilidad al agua líquida, se considera por ejemplo *fricción*, la protección de una capa externa como la de los recubrimientos acrílicos será pobre en comparación a un silano o siloxano que han penetrado en la estructura. El factor *anti-graffiti* requiere que el material además de ser hidrofóbico (repelencia al agua), sea oliofóbico (repelente a aceite o grasa). La ventaja de estos materiales penetrantes respecto a las pinturas anti-graffiti del mercado nuevamente es que debido a que se encuentran dentro del material, no están directamente sometidas a la luz solar (UV), a climas extremos y sobretodo a la fricción, lo cual finalmente causará la falla de pinturas y recubrimientos.

⁶ S.J. Clarson y J.A. Semlyen, Siloxane Polymers (Englewood Cliffs, New Jersey: PTR Prentice may, 1993), 348-353.

PROTECCIÓN DE MONUMENTOS Y PIEZAS HISTÓRICAS DE METAL O PIEDRA CON LA APLICACIÓN POR AEROSOL, BROCHA Y/O PERMEACIÓN ELECTROFORÉTICA DE MATERIALES HÍBRIDOS POLÍMERO-VIDRIO INERTES Y DE GRAN ADAPTABILIDAD.

Morón Vera L. E^a; Pérez Bueno J. J.^b

^a Universidad Autónoma de San Luis Potosí

^b Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C. (CIDETEQ)

INTRODUCCIÓN

La conservación del legado histórico, a la vez que brinda identidad y conocimiento de nuestro pasado, muestra en forma palpable la cultura y carácter de nuestro pueblo y sus raíces. Los objetos e inmuebles de carácter histórico son en sí mismos, parte dinámica de la vida económica presente al fomentar y atraer el turismo. El conservar las piezas claves que han sobrevivido hasta el presente, es un deber tanto para con nuestros semejantes como para con las generaciones por venir.

La aplicación de este tipo de materiales es un desarrollo de vanguardia que podría salvar aquellas piezas más susceptibles de perderse, ya sea por factores ambientales, uso cotidiano, negligencia o vandalismo. Se puede proteger contra agentes corrosivos, desgaste por abrasión, graffiti, etc.

La propuesta que se presenta busca desarrollar formulaciones, de recubrimientos de protección, adecuadas a la aplicación específica en objetos o inmuebles de valor histórico.

OBJETIVO

Desarrollar formulaciones de materiales híbridos orgánico-inorgánico (polímero-vidrio), para la protección de monumentos y piezas de relevancia histórica que se encuentren propensas a deteriorarse por cuestiones ambientales y de uso cotidiano.

MATERIALES A TRABAJAR

Se protegerá específicamente "Cantearas" y "Bronces" del tipo utilizados en construcciones y estatuas de Guanajuato.

Los materiales para la protección serán formulaciones de sílice (partiendo ya sea de partículas coloidales o precursores de alcóxidos)

EXPERIMENTACIÓN

Se preparó una solución coloidal de partículas de sílice, con la cual se hicieron aplicaciones sobre diferentes tipos de canteras para observar el grado de protección a la permeación de agua y mejora de propiedades mecánicas superficiales.

Se realizaron pruebas para caracterizar los diferentes tipos de canteras, con y sin tratamiento. Se cortaron muestras de diferentes tipos de canteras (cantera rosa, gris y negra)

La solución acuosa de SiO₂, consiste en una mezcla de sílice coloidal, agua, hidróxido de potasio y metasilicato de sodio.

El Hidróxido de Potasio actúa como agente catalizador, para acelerar la reacción.

El Metasilicato de Sodio actúa como fuente de sílice y como modificador de partículas.



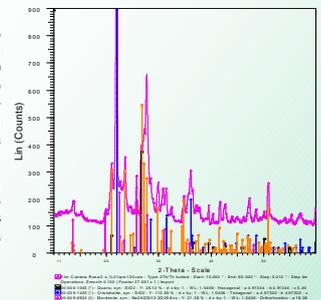
PRUEBA DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

El análisis por difracción de rayos X nos da información sobre la estructura y composición de una muestra cristalina, en este caso la cantera.

Para esta prueba se utilizó el equipo D8 ADVANCE marca BRUKER AXS, el cual tiene + 0.0001° de reproducibilidad, 2000 KVA de Potencia del tubo generador de Rayos X, sus límites de rango angular son - 110° < 2 Teta < 168° y su detector es Si (Li). El equipo se calibro con una muestra de alumina.

A partir del difractograma obtenido, podemos identificar algunos componentes de las canteras, comparando los difractogramas de cada cantera analizada con difractogramas patrones.

La fig. 2 Muestra el difractograma obtenido para la cantera rosa. En este mismo se encuentran los picos de compuestos que están presentes en la muestra.



La tabla 1 muestra los resultados de esta prueba para las canteras analizadas.

Tipo de cantera	Compuestos encontrados				
cantera gris	cuarzo	-----	sanidina	tridimita	mordenita
cantera rosa	cuarzo	cristobalita	sanidina	tridimita	-----
cantera negra	cuarzo	cristobalita	sanidina	-----	-----

RESULTADOS

Se observó que la solución aplicada penetra en la cantera y, una vez que solidifica, forma una capa de sílice que reduce la porosidad en esa área.

Sin embargo, generalmente esta capa únicamente retarda la absorción de agua, misma que encuentra vías para penetrar en el material. Esto puede explicarse en el sentido de que el mismo proceso de solidificación de la sílice crea una micro-porosidad, además de ser en sí de naturaleza hidrofílica.

El caso en que la solución formó una capa que bloqueó por completo la permeación de agua, fue únicamente aquel en el cual la viscosidad se encontraba por sobre el límite de absorción capilar, formando una capa gruesa sobre la cantera, misma que posteriormente solidificó teniendo una apariencia vítrea final. También se observó que con una aplicación posterior de acetato de butilo, la penetración del agua es bloqueada, ya que hace hidrofóbica la superficie de la cantera.

CONCLUSIONES

Con las pruebas de absorción se comprobó que la aplicación de la solución de sílice forma una capa protectora sobre la cantera, la cual da resistencia a la cantera a la absorción de agua. Según las observaciones realizadas es necesaria la aplicación de una solución tal que, como en el caso del acetato de butilo, haga hidrofóbica la superficie de la cantera pero que de forma definitiva impida el paso de agua líquida a través de la superficie tratada.

Con los resultados de la prueba de absorción capilar, observamos que la cantera gris es la más porosa y a partir de la prueba de resistividad, podemos decir que las canteras presentan alta resistividad.

La prueba de difracción de rayos X nos muestra que las canteras contienen cuarzo, cristobalita, tridimita, mordenita y sanidina en su composición.



PRUEBA DE ABSORCIÓN CAPILAR

Esta prueba nos indica la cantidad de agua por unidad de área que puede ser absorbida en los capilares cuando la cantera se encuentra en contacto con el agua., en otras palabras, es la porosidad efectiva o accesible al agua.

En esta prueba se sometieron las muestras a un pre-acondicionamiento en la mufla, hasta llegar a peso constante. Después de ser enfiadas en desecador, se pesaron y se registraron los pesos.

Se colocaron las muestras sobre una esponja dentro de un recipiente plano con agua hasta tapan 3mm de la muestra. Después de un tiempo (1/12, 1/6, 1/4, 1/2, 1, 2, 3, 5, 24 y 48 hrs) se sacaban las muestras, se pesaban y se tomaba el peso y la altura que el agua había alcanzado sobre las paredes de la cantera.

A partir de esta prueba podemos decir que la cantera gris es la más porosa.

También se hicieron pruebas de absorción de agua sobre muestras tratadas con la solución de sílice, tomando el tiempo que tardaban en absorber el agua. Esta prueba se realizó sobre canteras con una y dos aplicaciones de la solución sílice, y sobre canteras con una aplicación de la solución más una aplicación de acetato de butilo, el cual hace hidrofóbica la superficie de la cantera.

Con los tiempos de absorción obtenidos, se observó que con aplicaciones de la solución sílice, la cantera adquiere cierta resistencia a la absorción de agua, pero con la aplicación de acetato de butilo la absorción de agua es aún menor.

PRUEBA DE RESISTIVIDAD ELECTRICA

La resistividad es una propiedad de cada material (recíproca de su conductividad), la cual depende del tamaño de poro, del grado de saturación de los poros de la cantera y de la presencia de sales disueltas en la fase acuosa.

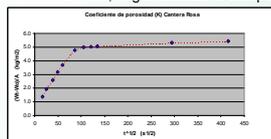
Para esta prueba se monto un sistema con una fuente de poder, la cual estaba unida a dos brocas que se utilizaron como electrodos y a dos multimetros, en uno se tomaban las lecturas de resistencia y voltaje, y el otro tomaba las lecturas de amperaje. Los electrodos se colocaron en la cantera a una distancia de 1.5 cm entre ellos y a una profundidad de 1.0cm.

Esta prueba demostró que las canteras tienen una resistividad alta. Las observaciones realizadas indicaron una dependencia predominante del arreglo experimental, por lo cual no se logró establecer una diferencia perceptible entre los diferentes sistemas.

Para obtener el coeficiente de absorción capilar (K) se utilizó la siguiente ecuación:

$$K = \frac{(W_1 - W_0)/A}{t^{1/2}} \quad (\text{kg/m}^2\text{s}^{1/2})$$

La fig.1 Muestra como aumenta el peso de la cantera rosa, según avanza el tiempo.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

G.C. Borgia, M. Camaiti, F. Cerri, P. Fantazzini and F. Piacenti, "Study of water penetration in rock materials by Nuclear Magnetic Resonance Tomography: hydrophobic treatment affects" Journal of Cultural Heritage 1, (2), 127 (2000).

L. Uller, O. Trocónis de Rincón, (Eds.): "Manual de Inspección, Evaluación y Diagnóstico de corrosión en estructuras de hormigón armado", CYTED.

R. Moreno, J. S. Moya, and J. Requena, "Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr." 26, 6, 355-365 (1987)

Z.R. Ulberg, Y.F. Deinega, "Electrophoretic composite coatings" Ellis Horwood, England 1992.

Anexo E

Reporte Final de Estancia de Verano de *Lydia Morón Vera* (Julio 2004)

PROTECCIÓN DE MONUMENTOS Y PIEZAS HISTÓRICAS DE METAL O PIEDRA CON LA APLICACIÓN POR AEROSOL, BROCHA Y/O PERMEACIÓN ELECTROFORÉTICA DE MATERIALES HÍBRIDOS POLÍMERO-VIDRIO INERTES Y DE GRAN ADAPTABILIDAD

Morón Vera L. E.^a; Pérez Bueno J. J.^b

^a Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

^b Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C. (CIDETEQ)

RESUMEN

Se preparó una solución coloidal de partículas de sílice, con la cual se hicieron aplicaciones sobre diferentes tipos de canteras para observar el grado de protección a la permeación de agua y mejora de propiedades mecánicas superficiales.

Se realizaron pruebas para caracterizar los diferentes tipos de canteras, con y sin tratamiento, lo cual permitió comparar los cambios hechos mediante la modificación superficial con el coloide, una vez que este gela y solidifica, formando una capa superficial en las canteras.

Como resultados se observó que la solución aplicada penetra en la cantera y, una vez que solidifica, forma una capa de sílice que reduce la porosidad en esa área. Sin embargo, generalmente esta capa únicamente retarda la absorción de agua, misma que encuentra vías para penetrar en el material. Esto puede explicarse en el sentido de que el mismo proceso de solidificación de la sílice crea una microporosidad, además de ser en sí de naturaleza hidrofílica. El caso en que la solución formó una capa que bloqueó por completo la permeación de agua, fue únicamente aquel en el cual la viscosidad se encontraba por sobre el límite de absorción capilar, formando una capa gruesa sobre la cantera, misma que posteriormente solidificó teniendo una apariencia vítrea final. También se observó que con una aplicación posterior de acetato de butilo, la penetración del agua es bloqueada, ya que hace hidrofóbica la superficie de la cantera.

La evaluación de los cambios estructuras y mejora en resistencia mecánica, dureza y adherencia, corresponden a una etapa posterior en el proyecto en el cual se participo.

INTRODUCCIÓN

La conservación del legado histórico, a la vez que brinda identidad y conocimiento de nuestro pasado, muestra en forma palpable la cultura y carácter de nuestro pueblo y sus raíces. Los objetos e inmuebles de carácter histórico son en si mismos, parte dinámica de la vida económica presente al fomentar y atraer el turismo. El conservar las piezas claves que han sobrevivido hasta el presente, es un deber tanto para con nuestros semejantes como para con las generaciones por venir.

La aplicación de este tipo de materiales es un desarrollo de vanguardia que podría salvar aquellas piezas más susceptibles de perderse, ya sea por factores ambientales, uso cotidiano, negligencia o vandalismo. Se puede proteger contra agentes corrosivos, desgaste por abrasión, graffiti, etc.

La propuesta que se presenta busca desarrollar formulaciones, de recubrimientos de protección, adecuadas a la aplicación específica en objetos o inmuebles de valor histórico.

EXPERIMENTACIÓN

Se preparó una solución acuosa de SiO_2 la cual consiste en una mezcla de sílice coloidal, agua, hidróxido de potasio y metasilicato de sodio.

El Hidróxido de Potasio actúa como agente catalizador, para acelerar la reacción.

El Metasilicato de Sodio actúa como fuente de sílice y como modificador de partículas.

Se cortaron muestras de diferentes tipos de canteras.(cantera rosa, gris y negra)

Se realizaron varias pruebas para caracterizar las canteras y para observar su cambio en comportamiento después de ser tratadas con la solución sílice.

PRUEBA DE ABSORCIÓN CAPILAR

Esta prueba nos indica la cantidad de agua por unidad de área que puede ser absorbida en los capilares cuando la cantera se encuentra en contacto con el agua., en otras palabras, es la porosidad efectiva o accesible al agua.

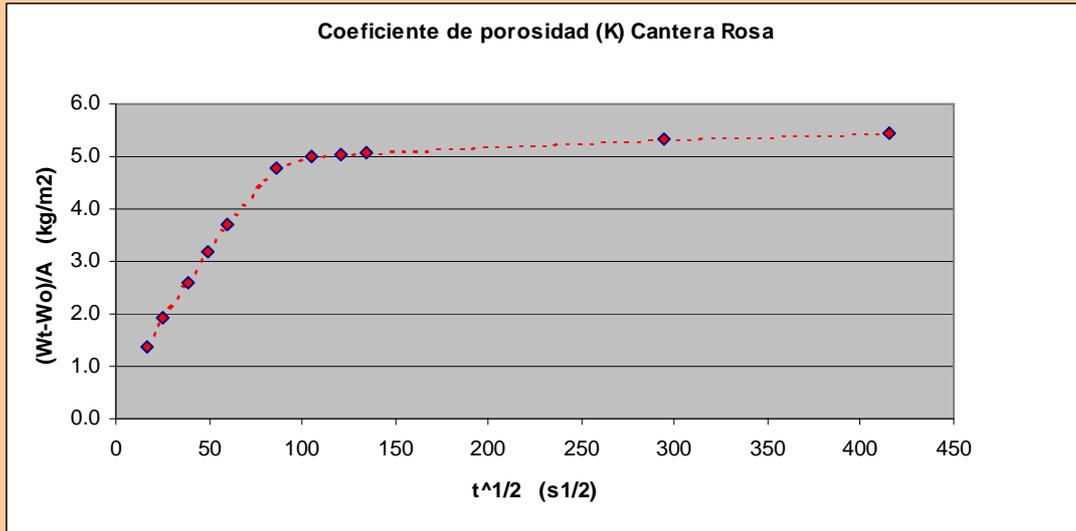
En esta prueba se sometieron las muestras a un pre-acondicionamiento en la mufla, hasta llegar a peso constante. Después de ser enfriadas en desecador, se pesaron y se registraron los pesos.

Se colocaron las muestras sobre una esponja dentro de un recipiente plano con agua hasta tapar 3mm de la muestra. Después de un tiempo (1/12, 1/6, 1/4, 1/2, 1,2,3, 5, 24 y 48 hrs) se sacaban las muestras, se pesaban y se tomaba el peso y la altura que el agua había alcanzado sobre las paredes de la cantera.

Para obtener el coeficiente de absorción capilar (K) se utilizó la siguiente ecuación:

$$K = \frac{(W_t - W_0)/A}{t^{1/2}} \quad (\text{kg/m}^2\text{s}^{1/2})$$

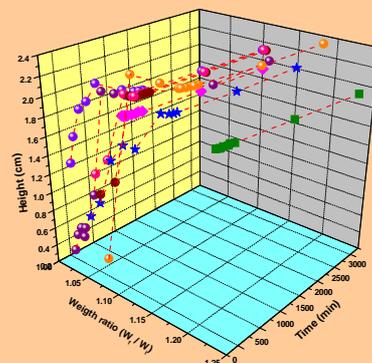
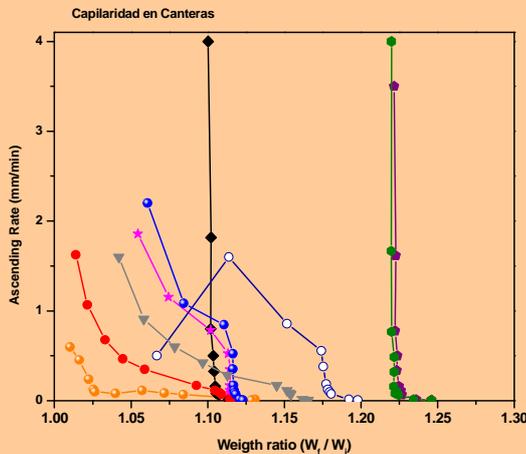
La fig..1 Muestra como aumenta el peso de la cantera rosa, según avanza el tiempo.



A partir de esta prueba podemos decir que la cantera gris es la más porosa.

También se hicieron pruebas de absorción de agua sobre muestras tratadas con la solución de sílice, tomando el tiempo que tardaban en absorber el agua. Esta prueba se realizó sobre canteras con una y dos aplicaciones de la solución sílice, y sobre canteras con una aplicación de la solución más una aplicación de acetato de butilo, el cual hace hidrofóbica la superficie de la cantera.

Con los tiempos de absorción obtenidos, se observó que con aplicaciones de la solución sílice, la cantera adquiere cierta resistencia a la absorción de agua, pero con la aplicación de acetato de butilo la absorción de agua es aún menor.

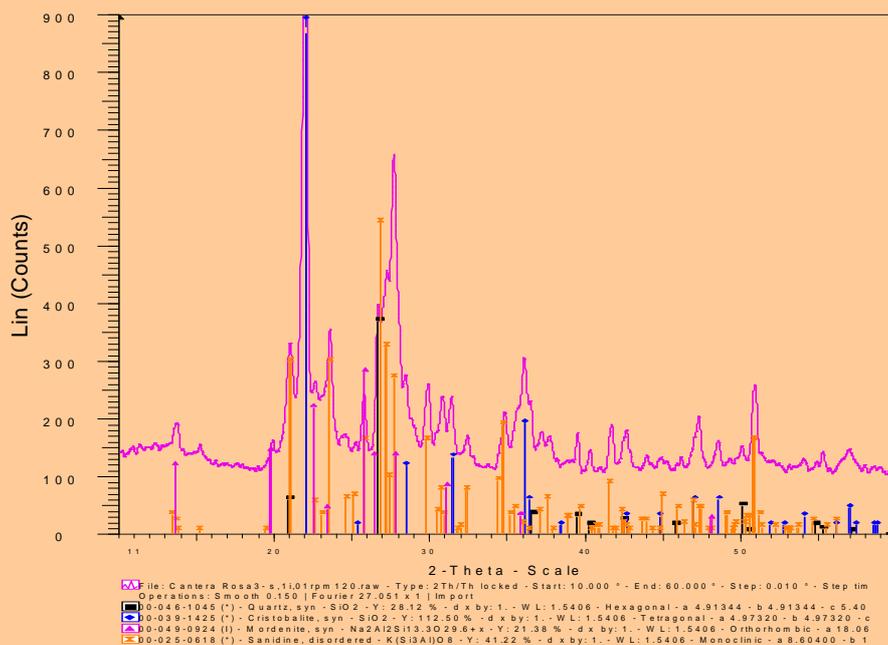


PRUEBA DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

El análisis por difracción de rayos X nos da información sobre la estructura y composición de una muestra cristalina, en este caso la cantera.

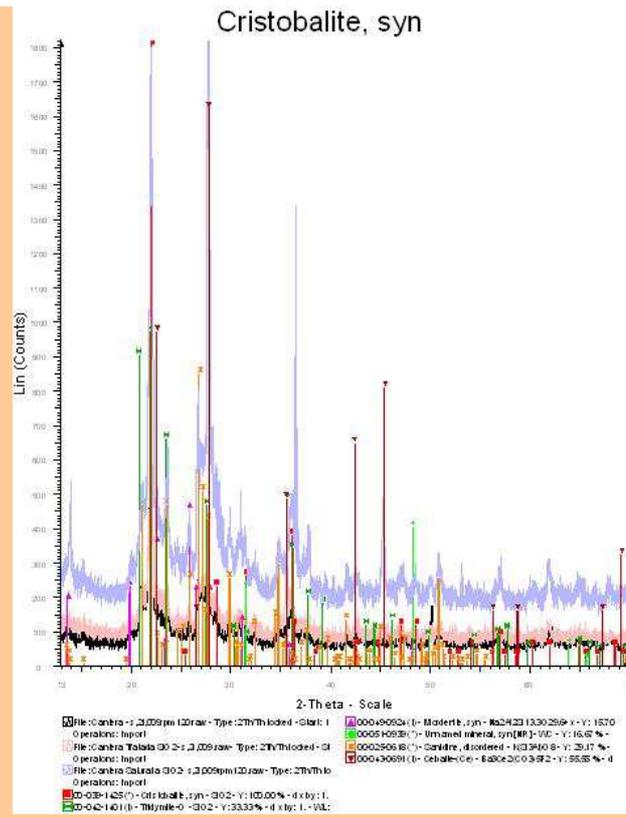
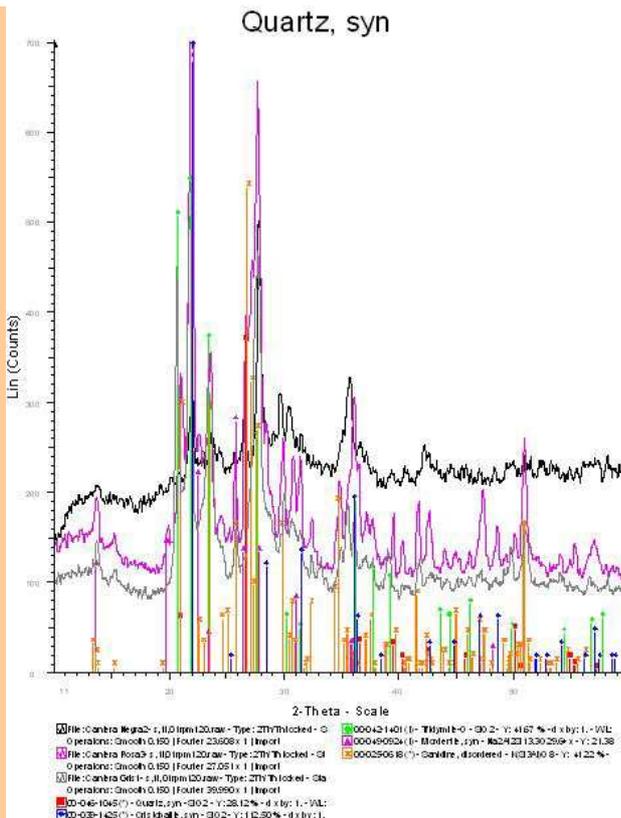
Para esta prueba se utilizó el equipo D8 ADVANCE marca BRUKER AXS, el cual tiene + 0.0001° de reproducibilidad, 2000 KVA de Potencia del tubo generador de Rayos X, sus límites de rango angular son $-110^\circ < 2 \text{ Teta} < 168^\circ$ y su detector es Si (Li). El equipo se calibro con una muestra de alúmina.

A partir del difractograma obtenido, podemos identificar algunos componentes de las canteras, comparando los difractogramas de cada cantera analizada con difractogramas patrones. La fig. 2 Muestra el difractograma obtenido para la cantera rosa. En este mismo se encuentran los picos de compuestos que están presentes en la muestra.



La tabla 1 muestra los resultados de esta prueba para las canteras analizadas.

Tipo de cantera	Compuestos encontrados				
cantera gris	cuarzo	-----	sanidina	tridimita	mordenita
cantera rosa	cuarzo	cristobalita	sanidina	tridimita	
cantera negra	cuarzo	cristobalita	sanidina	-----	-----



En los figuras mostradas se presenta, en el primer caso, los difractogramas para tres tipos de canteras (negra, rosa y gris) y en la segunda figura, los casos de muestras de cantera rosa tratadas. Las fases cristalinas que se detectan son las indicadas en la tabla 1.

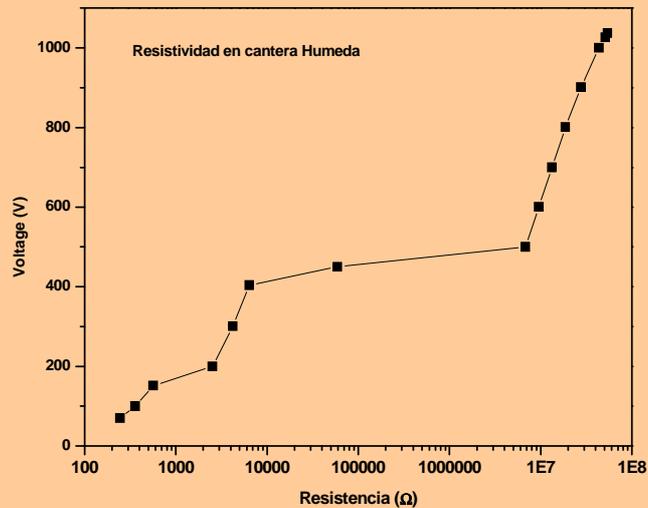
PRUEBA DE RESISTIVIDAD ELÉCTRICA

La resistividad es una propiedad de cada material (recíproca de su conductividad), la cual depende del tamaño de poro, del grado de saturación de los poros de la cantera y de la presencia de sales disueltas en la fase acuosa.

Para esta prueba se monto un sistema con una fuente de poder, la cual estaba unida a dos brocas que se utilizaron como electrodos y a dos multímetros, en uno se tomaban las lecturas de resistencia y voltaje, y el otro tomaba las lecturas de amperaje. Los electrodos se colocaron en la cantera a una distancia de 1.5 cm entre ellos y a una profundidad de 1.0cm.

Esta prueba demostró que las canteras tienen una resistividad alta. Las observaciones realizadas indicaron una dependencia predominante del arreglo experimental, por lo cual no se logro establecer una diferencia perceptible entre los diferentes sistemas.

Resistividad de cantera húmeda:



CONCLUSIONES

Con las pruebas de absorción se comprobó que la aplicación de la solución de sílice forma una capa protectora sobre la cantera, la cual da resistencia a la cantera a la absorción de agua. Según las observaciones realizadas es necesaria la aplicación de una solución tal que, como en el caso del acetato de butilo, haga hidrofóbica la superficie de la cantera pero que de forma definitiva impida el paso de agua líquida a través de la superficie tratada.

Con los resultados de la prueba de absorción capilar, observamos que la cantera gris es la más porosa y a partir de la prueba de resistividad, podemos decir que las canteras presentan alta resistividad.

La prueba de difracción de rayos X nos muestra que las canteras contienen cuarzo, cristobalita, tridimita, mordenita y sanidina en su composición.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- G.C. Borgia, M. Camaiti, F. Cerri, P. Fantazzini and F. Piacenti, “Study of water penetration in rock materials by Nuclear Magnetic Resonance Tomography: hydrophobic treatment affects” Journal of Cultural Heritage 1, (2), 127 (2000).
- L. Uller, O. Trocónis de Rincón, (Eds.): “Manual de Inspección, Evaluación y Diagnóstico de corrosión en estructuras de hormigón armado”, CYTED.
- R. Moreno, J. S. Moya, and J. Requena, “Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.” 26, 6, 355-365 (1987)
- Z.R. Ulberg , Y.F. Deinega, “Electrophoretic composite coatings” Ellis Horwood, England 1992.

Anexo F

Reporte de Actividades de Ayudante de Proyecto 28 Julio 2005 - 27 Julio 2006

José Francisco Torres Salgado

APLICACION DE FORMULACIONES DE ALCÓXIDOS DE SILICIO EN LA CONSERVACION DE ADOBE

Introducción

El deterioro que a lo largo de los años han sufrido los inmuebles construidos con base en el adobe representa una de las problemáticas a tratar con mayor presteza por parte de los programas de conservación . En muchas entidades rurales, al igual que en ciertos barrios antiguos de la ciudad de Guanajuato, gran cantidad de inmuebles se erigieron utilizando adobe como principal material de construcción. Desgraciadamente, los efectos climáticos y humanos han llevado a estas edificaciones al borde del colapso, por ser el adobe de una naturaleza altamente susceptible a tales efectos. Investigaciones precedentes sobre la conservación de inmuebles con base en el adobe, advierten la gran dificultad que representa el desarrollo y aplicación de un tratamiento químico con el fin de proteger y preservar dichos inmuebles. Sin embargo, la aplicación de formulaciones basadas en esteres de silicio en el tratamiento del adobe ha resultado ser sumamente alentadora. Esto nos ha motivado a la búsqueda de un tratamiento basado en formulaciones de alcóxidos de silicio que pueda salvaguardar al adobe de los embates climáticos.

Antecedentes

El concepto PNIP (Piedra Natural Impregnada de Polímero) se basa en el empleo de los alcoxisilanos como agentes protectores o consolidantes de materiales pétreos restringido por ciertos criterios de aplicación como lo son:

- La estética de la piedra natural
- La eficacia y durabilidad del polímero.
- El valor del sitio de aplicación.
- El cumplimiento del producto y su aplicación con los estándares ambientales.

Debido a su baja densidad, los alcóxidos de silicio penetran profundamente por acción capilar en la piedra que se desea conservar polimerizándose homogéneamente. El polímero resultante después de la

gelificación al contacto con agua, desarrolla una matriz basada en el enlace **Si-O** fuerte y estable, muy similar a la de algunos minerales.

Los esteres de silicio o alcoxisilanos utilizados para conservar y restaurar las edificaciones construidas en base a cantera y otros tipos de materiales pétreos, son los del tipo consolidante e hidrofugante, siendo el consolidante aplicado inicialmente para restaurar la matriz rocosa y los hidrofugantes para protegerlos de los efectos pluviales. Para nuestro caso de estudio, aplicaremos los esteres de silicio conocidos como TEOS y MeTEOS en el adobe para determinar su eficacia en la protección del mismo.

La conservación de las superficies de adobe se lleva a cabo difícilmente debido a que el material es fácilmente destruido por el agua.; el uso de materiales poliméricos como protección no es posible debido a que la capa que forma sobre el adobe manifiesta una débil adhesión con el sustrato. Un cuidadoso tratamiento de la superficie con esteres de silicio puede sin embargo dar resultados satisfactorios, particularmente, si esto es combinado con la protección contra los impactos directos de las lluvias, el viento, la nieve y el factor humano.

Desde 1969, el Etil Silicato ha sido aplicado en la consolidación del Adobe [Torraca & Chiari, 1972]. Los materiales arcillosos contienen una gran cantidad de grupos hidroxilo (-OH) libres, capaces de reaccionar con el consolidante durante su polimerización. En estudios preliminares de laboratorio, muchos otros consolidantes han sido probados, siendo el tetraetilortosilicato el que dio resultados más alentadores.

La etapa de consolidación consiste en impregnar el material pétreo deteriorado con el ester de silicio conocido como tetraetilortosilicato (TEOS) con el fin de restablecer la cohesión, la resistencia y la firmeza que los factores ambientales y el tiempo le han ido destituyendo al material.

Como etapa final de consolidación se realiza la hidrofugación, la cual consiste en la aplicación del metiltrietilortosilicato (MeTEOS) que formará una película sobre el material pétreo con la finalidad de que se reduzca la capacidad de este para absorber agua proveniente del medio ambiente.

Sin embargo, la polimerización de la solución de alcoxisilano es un fenómeno complicado. Las reacciones de hidrólisis-condensación a menudo se superponen y los pasos de la reacción se complican por un gran número de factores, lo que determina el tipo de gel producido.

Lewin & Schwartzbum, (1985), estudiaron una muestra tratada de adobe para determinar el grado de hidrólisis ocurrida después de cuatro años de almacenamiento. Ellos advirtieron que la reacción es demasiado lenta debido a que aún se hallaban grupos etoxy residuales. Si, después del tratamiento, los residuos químicos continúan modificándose por varios años, puede haber dudas respecto a una pérdida de

consolidante así como de efecto de fortalecimiento. Una nueva aplicación del Silicato de Etilo para proporcionar el grado de consolidación faltante puede ser hecha solo si el material ha vuelto a tener su porosidad original para permitir la penetración del consolidante. Además, es conocido por medio de pruebas *in Vitro* que la reacción de hidrólisis de sílica Gel por si misma produce una disminución en volumen. Este efecto puede producirse en el gel que se ha formado en las cavidades del Adobe en las primeras etapas después del tratamiento.

El área de aplicación de los alcóxidos de silicio guarda muchos aspectos oscuros que necesitan ser investigados y en específico, el uso de Metiltrietoxisilano y tetraetoxisilano como agentes Consolidantes de adobe.

Objetivo

Se trataron diferentes muestras de adobe de manera particular con formulación en base a mezclas a diferentes proporciones de los alcóxidos TEOS y MeTEOS para ser sometidas a diferentes pruebas físicas y analíticas tales como ángulos de contacto, porcentajes absorción de agua e intemperismo acelerado, para observar los efectos de protección otorgados a cada una de ellas por los diferentes formulaciones. Esto con la finalidad de determinar los grados de efectividad de las diferentes formulaciones aplicadas.

Metodología

Se prepararon mezclas a diferentes proporciones de los alcóxidos de silicio conocidos como MeTEOS y TEOS para ser aplicadas en muestra de adobe y conocer cual proporción de las mismas es la que manifiesta mayor grado de efectividad en la protección del adobe y de otros materiales pétreos.

Por estudios y conocimientos precedentes se ha optado por la elaboración de las mezclas donde el hidrofugante (MeTEOS) se encuentre en mayor proporción que el consolidante (TEOS). Esto con el fin de dar al recubrimiento mayor capacidad de repelencia al agua pero sin dejar de consolidar al material en que será aplicado.

Desarrollo experimental.

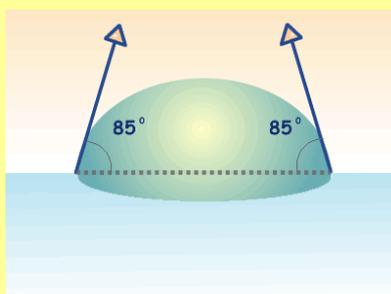
Planeamiento de Actividades

1. Preparación de bloques de adobe.
2. Valoración del grado de absorción de agua.
3. Preparación de mezclas de alcóxidos y aplicación directa en adobes para observar la modificación de sus propiedades empleando distintas formulaciones.

3. Pruebas de absorción de agua.
4. Medición de ángulo de contacto.
5. Pruebas de intemperismo (ciclos Humedad-calentamiento)

Angulo de contacto

Cuando las fuerzas de cohesión son grandes con relación a las fuerzas adhesivas los ángulos de contacto tienden a ser grandes. Cuando las fuerzas de cohesión en relación a las fuerzas de adhesión los ángulos de contacto son pequeños resultando en una tendencia del fluido a mojar la superficie. Superficies tratadas con materiales que tienen baja adhesión al agua resultan en ángulos de contacto grandes. El agua sobre estas superficies tiende a agregarse en pequeñas gotas. Al ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con un sólido. El valor del ángulo de contacto depende principalmente de la relación que existe entre las fuerzas adhesivas entre el líquido y el sólido y las fuerzas cohesivas del líquido.



Cuando las fuerzas adhesivas con la superficie del sólido son muy grandes en relación a las fuerzas cohesivas, el ángulo de contacto es menor de 90 grados, teniendo como resultado que el líquido moja la superficie. La determinación de ángulos de contacto se llevara acabo en todas y cada una de las muestras tratadas.

Absorción de agua

Esta prueba se lleva acabo de la forma siguiente:

Cada muestra se pone a peso constante mediante el calentamiento a 105°C. Enseguida se deja enfriar a temperatura ambiente y se sumerge en agua destilada de forma que solo estarán en contacto con el agua las caras recubiertas por espacio de un minuto. Transcurrido el tiempo, la muestra se saca del baño de agua, se le retira el exceso de agua de la superficie y se pesa comparando este peso con el de la muestra seca. Mediante la fórmula matemática siguiente se determina su porcentaje de absorción.

$$\% \text{ de absorción} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} * 100$$

Intemperismo

Humedad – calentamiento.

Los ciclos de humedad- calentamiento combinados con pruebas de resistencia ante la radiación UV son la mejor vía para medir la duración de un recubrimiento destinado a permanecer expuesto a la intemperie. Estas pruebas consisten en sumergir en agua durante seis horas la superficie recubierta, posteriormente se secan con un trapo para eliminar el exceso de agua y se meten en la estufa, previamente calentada a 90°C durante una hora. La operación se repite hasta completar cuatro ciclos.

Preparación de bloques de adobe.

Se contaba con bloques de adobe previamente dispuestos por parte del gobierno municipal para estudios realizados por el Grupo de Química y Tecnología del Silicio.

Caracterización de Formulaciones:

Utilizando el cromatógrafo de gases, se caracterizaron las diversas mezclas disponibles de alcoxisilanos y se muestran sus proporciones en la tabla siguiente:

Formulación	% MeTEOS	% TEOS
A	35	65
B	50	50
C	65	35
D	75	25

Aplicación de formulaciones.

Las diferentes formulaciones de Consolidante–hidrofugante fueron aplicadas a las muestras de adobe con técnica en base a brocha, considerada la más efectiva al momento de otorgar un tratamiento de protección en los materiales pues con ello se facilita la infiltración e impregnación de las sustancias.

TABLA I. Relación de formulaciones aplicadas a muestras de adobe

Adobe	Formulación	Peso Inicial (gr.)	Peso final (gr.)	Formulación (gr.)
1	A	47.7263	51.6980	3.9717
2	B	52.3911	55.7887	3.3976
3	C	39.5415	43.2444	3.7029
4	D	29.9571	33.6596	3.7025

Valoración del grado de absorción de agua.

La valoración se llevó a cabo sobre muestras cúbicas de adobe sin tratamiento, previamente secadas en la estufa a 110°C, las cuales fueron introducidas en un vaso de precipitados con 50ml de agua destilada durante un minuto para cotejar el grado de absorción. Los resultados son los siguientes:

TABLA II. Porcentajes de absorción en muestras de adobe sin tratamiento

Adobe	Peso Inicial (gr.)	Peso final (gr.)	%absorción
1	47.7263	57.7295	20.94
2	52.3911	61.6653	17.70
3	39.5415	47.9694	21.31
4	29.9571	35.7437	19.31

TABLA III. Porcentajes de absorción en muestras de adobe tratado

Adobe	Peso Inicial (gr.)	Peso final (gr.)	%absorción
1	51.6980	52.0590	0.70
2	51.6980	51.8789	0.35
3	43.2444	43.2444	0.00
4	33.6596	33.6596	0.00

Aunque sumergidas por un periodo largo de tiempo (2horas), los porcentajes de absorción de los adobes tratados se mantienen sin alteración.

Determinación de hidrofugacidad en los Adobes tratados por medio de la técnica de ángulo de contacto.

La determinación de ángulos de contacto se llevó acabo en todas y cada una de las muestras tratadas

Tabla IV. Relación de ángulos de contacto determinados en adobes con tratamiento

Muestra adobe	Formulación TEOS-MeTEOS	Angulo de contacto
1	-	-
2	65-35	104°
3	50-50	110°
4	35-65	118°
5	25-75	131°

Ángulos de contacto en adobe con tratamiento.

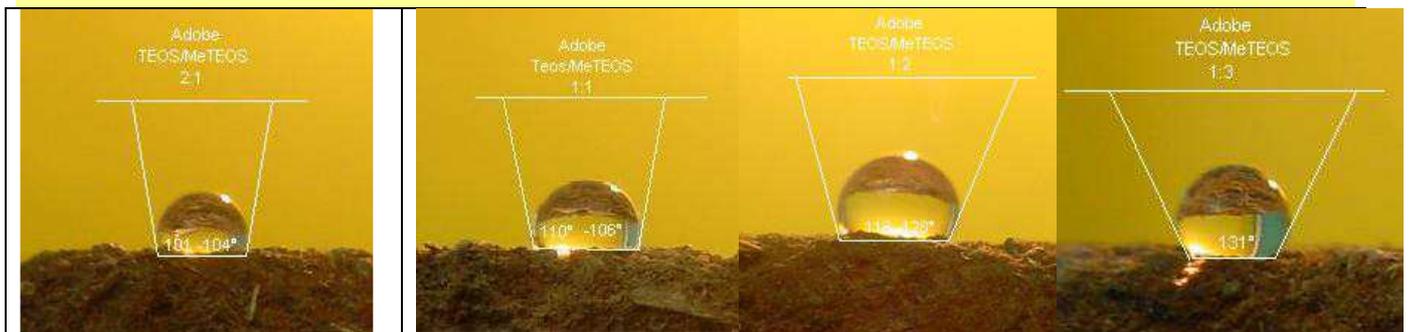


Fig. 1.1 Adobe tratado con formulación A

Fig. 1.2 Adobe tratado con formulación B

Fig. 1.3 Adobe tratado con formulación C

Fig. 1.4 Adobe tratado con formulación D

Los altos ángulos de contacto obtenidos en las cuatro muestras tratadas, nos hablan de la gran hidrofugacidad otorgada al material por parte del MeTEOS. Sin embargo, es necesaria una prueba de

intemperismo para conocer si la protección se mantiene sus propiedades ante el efecto de humedad y de calentamiento.

Ciclos de Intemperismo Humedad-Calentamiento.

Humedad –calentamiento.

Después de cuatro ciclos, todos las muestras de adobe tratado pasaron satisfactoriamente la prueba ya que no se observaron alteraciones de las propiedades adquiridas .

Resultados y Discusión

El tratamiento del adobe con las diferentes formulaciones de alcóxidos de silicio ha demostrado alta efectividad tanto en la protección de la superficie del material como en el fortalecimiento de su estructura.

Tabla V. Resultados obtenidos hasta el momento en las diferentes pruebas físicas realizadas en adobe.

Muestra adobe	Formulación TEOS-MeTEOS	% Absorción de Agua	Angulo de contacto	Nº Ciclos Humedad - calentamiento
1	-	25	-	1
2	65-35	0.70	104°	4 y por determinar
3	50-50	0.35	110°	4 y por determinar
4	35-65	0.00	118°	4 y por determinar
5	25-75	0.00	131°	4 y por determinar

Las pruebas físicas realizadas al adobe tratado han otorgado resultados alentadores, lo cual nos permite aseverar que una aplicación simultanea de hidrofugante y consolidante sobre materiales arcillosos otorga la protección pertinente para su conservación. La culminación de este estudio será determinada por el comportamiento que presente el tratamiento en el transcurso del tiempo.

BIBLIOGRAFÍA.

Chiari,G. Consolidation of adobe with Ethyl Silicate: Control of long-term effects using SEM. 5th International meeting of experts on the conservation of earthen architecture. Oct. 1987.

Lewin, S.Z. Schwartzbaum, P.M. Investigation of the long-term effectiveness of Ethyl Silicate-based consolidante on mud brick. International symposium and training workshop on the conservation of adobe. 1985.

Torraca, G. Chiari, G. Report on mud brick preservation. Mesopotamia VII, Torino. 1972.

Zárraga Núñez R.A. Consolidación de materiales utilizando Metiltrietoxisilano. 1999.

Anexo G

DISEÑO DE MARCADORES MOLECULARES UTILES PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS EN CANTERA USANDO ALINEAMIENTOS COMPUTACIONALES



José Luis González Montoya^{1,5}, Aurelio Alvarez Vargas², Carmen Cano Canchola³, Veridiana Reyes Zamudio³, Jorge Cervantes Jáuregui⁴, Jose de Jesús Pérez Bueno¹.
¹ Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C.
² Instituto de Investigación en Biología Experimental.
³ Centro de Investigación en Química Inorgánica de la Universidad de Guanajuato.
⁴ Facultad de Química, Universidad de Guanajuato.
⁵ Instituto Tecnológico de Morelia.



² A.P. 187, 36000, Guanajuato, Gto., Mex. FAX: 473 7320006, ext. 8153. canoma@quijote.ugto.mx

Palabras Clave: Marcadores moleculares, bacterias, alineamientos.

INTRODUCCION

En las Facultades de Química y Arquitectura de la Universidad de Guanajuato, se desarrollan proyectos multidisciplinarios para la conservación del patrimonio inmueble monumental. Estos están relacionados con la degradación de materiales pétreos, y dentro del mismo, un campo de reciente interés es el biodeterioro de la cantera. Dada la complejidad de identificar a los organismos de diferentes Taxa que participan en este proceso, los marcadores moleculares obtenidos a través de la PCR (Reacción en Cadena de la polimerasa), son una herramienta para su identificación y clasificación. Para su uso es necesario conocer una pequeña región de las secuencias génicas de estos organismos. Las diferentes secuencias encontradas en los genes ribosomales 16S y 18S, por su uso como cronómetros evolutivos de procariotes y eucariotes son un ejemplo de ello.

En el presente trabajo se muestra una estrategia para el diseño de marcadores moleculares, para la identificación de grupos de bacterias, que se han identificado como lo más comunes reportados en cantera. Se utilizaron programas de diseño de iniciadores, búsquedas en bases de datos, alineamientos computacionales, modelaje y simulación para la identificación de microorganismos implicados en el biodeterioro.

MATERIALES Y METODOS

1 Consulta Bibliográfica en busca de marcadores. Se consultaron diferentes fuentes bibliográficas e internet para buscar marcadores reportados para la identificación de diferentes grupos de bacterias reportadas en piedra (Referencia).

2 Búsqueda de secuencias nucleotídicas en Base de Datos. Se realizó una recopilación de secuencias del gen 16S rRNA de diversas especies de bacterias, pertenecientes a los géneros más comunes reportados (Referencia).

3 Uso del módulo MegaAlign. Se utilizó el módulo MegAlign del paquete Lasergene (DNASnr), para realizar el alineamiento de secuencias y buscar las regiones conservadas y/o divergentes del gen.

4 Diseño de iniciadores para la PCR. Se diseñaron los iniciadores para la PCR utilizando el módulo PrimerSelect, basándose en la información de las regiones previamente analizadas.

Para el diseño de los iniciadores se deben tener muy en cuenta los siguientes factores:

1. Que la Tm (Temperatura media de alineamiento) de los iniciadores directo y inverso fuera aproximadamente la misma. Se permitió una tolerancia de hasta $\pm 2^\circ\text{C}$ como máximo.
2. Las cadenas tuvieron un tamaño entre los 17 y 24 nucleótidos, debido a que es el tamaño óptimo. Se utilizaron cadenas de 16, pero se comprobó que fueran estables.
3. Se evitó la formación de 2 estados no convenientes de los iniciadores, que son inherentes a la naturaleza de sus secuencias. Estos estados son:
A) La formación de orquillas (hairpins) que se dan como resultado del doblamiento del oligonucleótido por la complementariedad de sus secuencias. Se permitió un máximo de 3, para que pudieran separarse en la fase de desnaturalización de la PCR (Figura 1a).
B) La formación de dímeros que hacen que los oligos directo e inverso se unan entre ellos, impidiendo la amplificación. No se permitieron más de 3 para que pudieran separarse en la fase de desnaturalización de la PCR (Figura 1b).



Figura 1. Criterios importantes en el diseño de iniciadores para la PCR. a) Formación de 4 dímeros entre el par de iniciadores, mal diseño. b) Formación de 3 orquillas, máximo permitido en el diseño.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Alineamiento de Secuencias 16S rRNA de bacterias.

Se ejemplifica en la Fig.2 un alineamiento de los genes ribosomales 16S de Nitrosomonas. Los recuadros rojos corresponden a las secuencias altamente conservadas, que servirían para amplificar en este caso, un marcador de aproximadamente 180 nucleótidos. La presencia de regiones más variables a nivel nucleotídico, permitirá la identificación de Nitrosomonas spp., extrayendo el DNA directamente de la piedra, sin la necesidad de tener al microorganismo aislado.

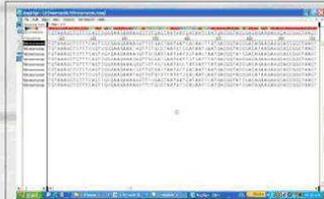


Fig. 2. Alineamiento de Nitrosomonas en MegaAlign. Se puede observar de la posición 416-428, una marcada zona conservada, que nos permitirá diseñar el iniciador directo (Zona roja inicial del consenso). De la posición 430-456 se encuentra la zona variable que nos permitirá identificar a las diferentes especies (Zona colorida del consenso). De la posición 487-501 se encuentra otra zona altamente conservada, que nos permitirá el diseño del iniciador reverso (Zona roja final del consenso).

3. Diseño de iniciadores para la PCR.

Se diseñaron iniciadores para la identificación in situ de especies de los géneros de bacterias: Thiobacillus, Nitrosomonas, Nitrobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Desulfovibrio, Streptomyces y Microbacter, y se están estableciendo las condiciones para la búsqueda de marcadores para bacterias que forman parte de las biopelículas formadas sobre la cantera deteriorada. La figura 3 muestra los diferentes grupos de iniciadores obtenidos.

La tabla muestra los datos de los iniciadores diseñados para siete géneros de bacterias. Cada columna representa un género y contiene una tabla con los siguientes campos: Nombre del género, Tipo de iniciador (Directo/Inverso), Secuencia, Longitud (nt), Tm (°C), GC (%), y una columna para las secuencias de los genes 16S rRNA con los sitios de unión de los iniciadores marcados.

Fig. 3. Grupos de iniciadores que se diseñaron para identificar in Situ a los diferentes grupos de Procariotes comúnmente encontrados en piedra. Se muestran las posibles condiciones de amplificación, la Tm térmica, así como las secuencias para cada iniciador. Las Tablas fueron generadas con el módulo PrimerSelect del paquete Lasergene (DNASnr).

4. Simulación Virtual de la PCR.

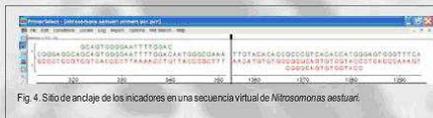


Fig. 4. Sitio de anclaje de los iniciadores en una secuencia virtual de Nitrosomonas aestuarii.

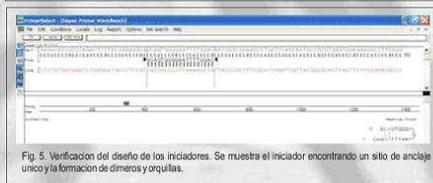


Fig. 5. Verificación del diseño de los iniciadores. Se muestra el iniciador encontrando un sitio de anclaje único y la formación de dímeros y orquillas.

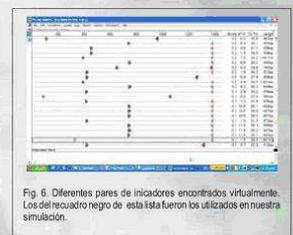


Fig. 6. Diferentes pares de iniciadores encontrados virtualmente. Los del recuadro negro de esta lista fueron los utilizados en nuestra simulación.

CONCLUSIONES

Se cuenta con una base de datos y una oligoteca de iniciadores para la generación de marcadores moleculares para la identificación de microorganismos presentes en muestras de cantera. Esta estrategia representa una buena alternativa para la identificación de microorganismos "in situ", sin tener que cultivarlos en un ambiente diferente a su ambiente nativo, lo que permitirá la identificación rápida de especies implicadas en el biodeterioro de la cantera.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Warscheid, T y Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. In: *Biod & Biodec.* 46: 343-368.
2. Pace, N, Olsen, Gy Woese, C. (1987). Ribosomal RNA phylogeny and the primary lines of evolutionary descent. *Cell.* 45: 325-328.

Anexo H

IDENTIFICACION MOLECULAR DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN CANTERAS DE LA BASÍLICA DE GUANAJUATO Y MODELAJE TEORICO DE BIODETERIORO



José Luis González Montoya^{1*}, Aurelio Álvarez Vargas¹, Carmen Gano Canchola², Veridiana Reyes Zamudio³, Jorge Cervantes Jáuregui⁴, Jose de Jesús Pérez Bueno⁵.

¹ Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C.

² Instituto de Investigación en Biología Experimental.

³ Centro de Investigación en Química Inorgánica de la Universidad de Guanajuato.

⁴ Facultad de Química, Universidad de Guanajuato.

⁵ Instituto Tecnológico de Morelia.

*A.P. 187, 36000, Guanajuato, Gto., Mex. FAX: 473 7320006, ext. 8153. canoma@quijote.ugto.mx



Palabras Clave: Biodeterioro, Biopelículas, Heterótrofos.

INTRODUCCION

En las Facultades de Química y Arquitectura de la Universidad de Guanajuato, se desarrollan proyectos multidisciplinarios para la conservación del patrimonio inmueble monumental. Estos están relacionados con la degradación de materiales pétreos, y dentro del mismo, un campo reciente interés es el biodeterioro de la cantera, que involucra un proceso de sucesión biológica, donde aparentemente los organismos autótrofos inician el proceso de colonización, seguido por los hongos y otros heterótrofos que parecen establecerse una vez que la materia orgánica se vuelve disponible. La producción de ácidos, pigmentos y otras sustancias por parte de estos organismos producen biopelículas, que finalmente se traducen en daño físico, químico y estético de la piedra. Debido a la complejidad de este fenómeno, identificar a los microorganismos presentes en la cantera de la basílica de Guanajuato nos dará la pauta para establecer los mejores esquemas de consolidación y restauración para su conservación. En el presente trabajo se identificaron molecularmente diferentes especies de microorganismos aislados de cantera de la basílica de Guanajuato, utilizando para ello técnicas y análisis de marcadores moleculares, con la información generada se propondrá un modelo teórico sobre la manera en que estos microorganismos contribuyen al proceso general de biodeterioro.

En la Figura 1 se muestra el aspecto del DNA purificado de 23 microorganismos aislados, en donde se puede apreciar la integridad en su tamaño (aprox. 4.7 Kpb), excepto para algunas extracciones de DNA en donde se observa su degradación (*).

En la figura 2 se presentan las preparaciones del DNA concentrado se utilizaron para realizar diluciones que permitieran tener soluciones con una concentración de DNA entre 50-100 ng para poder estandarizar las condiciones de PCR reproducibles en cada muestra.

2. Amplificación y Purificación del Marcador Molecular (gen ribosomal 18S rRNA).

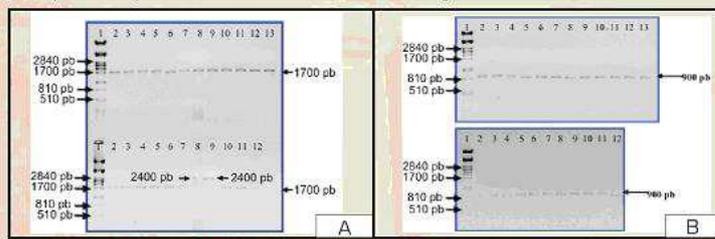


Fig. 3. Amplificación y purificación del gen 18S rRNA. Panel A) En la imagen se muestran a los productos de amplificación obtenidos por PCR del gen 18S rRNA de 20 microorganismos aislados de cantera, sobre la Fig. se indica su tamaño en Kpb. Se obtuvieron marcadores de aproximadamente 1.7 Kpb, excepto para los aislados H21 y H23 donde se obtuvieron marcadores de aprox. 2.4 kpb. Panel B) En la imagen se muestran los fragmentos internos de aproximadamente 0.9 Kpb obtenidos por la PCR anidada, para completar la secuencia del gen 18S rRNA. **Para los paneles A y B:** Carril 1: Marcador de Tamaño Molecular (DNA del fago λ), digerido con Pst I. **Parte Superior:** Carriles 2-13: H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H9, H10, H12, H13 y H14 respectivamente. **Parte Inferior:** Carril 1: MTM (x) + Pst I, Carriles 2-12: H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H24, H25 y H26 respectivamente. Gel de agarosa al 1% teñido con Bromuro de Etdio, obtenido por electroforesis.

MATERIALES Y METODOS

1. Obtención de Muestras de Biopelículas de Cantera. Usando una espátula estéril se tomaron muestras de biopelículas formadas sobre la cantera de la basílica con aparentes signos de biodeterioro, tales como: manchas negras u otros colores, picaduras, exfoliación, entre otros (Warscheid y Braams, 2000).

PCR usando los iniciadores NS1 y NS8 descritos por White y Col., 1997, para hongos.

6. Purificación y clonación de fragmentos amplificados por PCR. Los fragmentos obtenidos de la PCR se purificaron de geles de agarosa por medio de los Kits de Purificación: PureLink (Invitrogen) y Qiaex II (Qiagen) y algunos de ellos se clonaron utilizando el Kit de clonación PCR Topo 2.1 (Invitrogen).

2. Desprendimiento de los microorganismos de las muestras de cantera. Las muestras se homogenizaron usando micropulstos de plástico estériles en una solución de Tween80 al 0.01% y mediante una agitación vigorosa por 1hr. en un agitador de vortice.

7. Estrategia de secuenciación de los fragmentos amplificados. La secuenciación del gen 18S S se realizó a partir de clones recombinantes clonados en pCR Topo2.1 utilizando iniciadores con secuencias dentro de este vector y/o directamente del fragmento amplificado, utilizando los iniciadores NS1 y NS8. Para obtener la secuencia completa del gen, se realizó una PCR anidada utilizando los iniciadores NS9 y NS8 (White y col., 1997) que amplifican un fragmento de aproximadamente 0.9 Kpb interno al gen y haciendo uso de éstos se logró ensamblar la secuencia completa, de aproximadamente 1.7 Kpb.

3. Aislamiento y purificación de microorganismos. Los microorganismos se inocularon en medio agar YPD (Extracto de levadura-Peptona de Caseína-Dextrosal), se purificaron hasta tener cultivos axénicos. Posteriormente, estos cultivos puros se pasaron a placas de YPD cubiertas con celofán dulce para facilitar el desprendimiento del micelio formado en cada una.

4. Extracción de DNA Genómico de microorganismos. La extracción del DNA total de los microorganismos se realizó siguiendo la técnica del Feno/Cloroformo descrita por Flores-Martínez y col., 1994.

5. Amplificación del marcador molecular (gen 18S rRNA) por PCR. El gen ribosomal 18S se obtuvo mediante su amplificación a partir de DNA genómico, por la técnica de la

8. Análisis Molecular de las secuencias nucleotídicas obtenidas. Las secuencias nucleotídicas obtenidas se ensamblaron utilizando el Software Bioedit, y las secuencias completas se analizaron a través del programa de alineamientos Blast-n de NCBI.

4. Identificación de microorganismos a partir del gen 18S rRNA.



Fig. 4. Identificación Molecular de Microorganismos a partir del análisis de secuencias nucleotídicas del gen 18S rRNA. **PANEL A:** Secuencia nucleotídica ensamblada del aislado H4. **PANEL B:** Secuencias homólogas en la base de datos, tras el análisis tipo BLAST-n de la secuencia del aislado H4. El número de hits indica la puntuación otorgada por el programa a cada secuencia encontrada de acuerdo a número de bases analizadas y según los parámetros: costo por gap abierto y extendido; penalización por discordancias, etc. **PANEL C:** Análisis tipo BLAST-n de aislado H4. Se identificó al microorganismo presumiblemente como *Aureobasidium pullulans*. Se determinó esta identificación tras la repetición con 3 niveles de rigor en la búsqueda, obteniendo siempre a este microorganismo con la mayor puntuación entre la secuencia obtenida y las reportadas en la base de datos fue de 95% en los 3 niveles de rigor.

Tabla 1. Lista de microorganismos encontrados tras el análisis de las secuencias nucleotídicas en la base de datos

No.	Aislado	Especie más cercana	Referencia
1	H4	<i>Aureobasidium pullulans</i>	*
2	H12	<i>Phoma melleograpta</i>	*
3	H26	<i>Alternaria alternata</i>	*

* Ya han sido encontrados en estudios previos de biodeterioro



Figura 5. Modelo Teórico de Biodeterioro. Se muestran las 3 posibles etapas en las que los microorganismos contribuyen al deterioro del monumento. Se marca con azul los microorganismos identificados en el presente estudio y las posibles etapas en las que participan

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Extracción, purificación y cuantificación de DNA de alta calidad.



Fig. 1. DNA Genómico de microorganismos aislados de biopelículas de cantera. Carril 1: Marcador de Tamaño Molecular (DNA del fago λ), digerido con Pst I. Panel Superior, Carriles 2-13: H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H9, H10, H12, H13 y H14 respectivamente. Panel Inferior, Carril 1: MTM (x) + Pst I, Carriles 2-12: H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H23*, H24, H25 y H26 respectivamente. Gel de agarosa al 1% teñido con Bromuro de Etdio, obtenido por electroforesis.



Fig. 2. Preparación de las diluciones para cuantificar los DNA templados que se utilizaron en la PCR.

CONCLUSIONES

Los hongos entran por lo general en la última etapa del biodeterioro, cuando la materia orgánica se ha vuelto disponible. Los organismos de los géneros *Phoma*, *Aureobasidium* y *Alternaria* encontrados en este estudio, están implicados en la actividad biocorrosiva debido a la secreción de ácidos orgánicos y a la oxidación de cationes minerales que forman la piedra, esto nos lleva a predecir que la posible exfoliación y picaduras de la piedra están relacionadas con la presencia de estos microorganismos. Causan además estrés mecánico y decoloración de la piedra por la excreción de melaninas, por lo que podrían estar relacionadas con la decoloración negra que presentaba la piedra de donde se obtuvieron las muestras. Pueden atacar a un amplio rango de sustancias poliméricas, incluso las que son utilizadas con fines de protección, por lo que debería considerarse su presencia antes de cualquier tratamiento a la piedra. Las especies del género *Fusarium* además de estar implicadas en la producción de ácidos orgánicos (oxálico, fumárico y succínico), son activos en la asimilación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Con toda esta información se estarán estableciendo esquemas para incluir dentro de los recubrimientos que actualmente se desarrollan, para protección del monumento, algunos compuestos que puedan detener la colonización microbiológica del monumento, evitando el biodeterioro de su material pétreo y ayudando a su conservación.

REFERENCIAS

1. Warscheid, T. y Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *Int Biod & Biod. Vol*(46): 343-368.
 2. Flores Martínez, A., Chel I. y Herrera Estrella A. (1997). Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase encoding gene. *Proc Cur Genet. Vol*(31): 30-37.
 3. White, T., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols, a guide to methods and applications*. Academic press, Inc. 315-322.

Anexo I

Reporte de Actividades de Ayudante de Proyecto

Febrero 2005 - Febrero 2006

José Luis González Montoya

Febrero 2005 – Abril 2005

- Inició la recopilación de la bibliografía para definir los antecedentes del trabajo que permitieran definir la ruta para el estudio del biodeterioro.
- Realicé un viaje a la ciudad de México, a la Biblioteca de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. Esto con la finalidad de recabar información de la revista *International Biodeterioration and Biodegradation* que sirvió como base para el desarrollo del trabajo.
- Realicé un viaje a la ciudad de Guanajuato para conocer al grupo de trabajo con quienes se establecería la colaboración.
- El Dr. José de Jesús Pérez y yo presentamos la propuesta de trabajo para el estudio del biodeterioro y se presentó ante el grupo del Dr. Jorge Cervantes. Se determinó por sugerencia de la Dra. Carmen Cano que yo me encargaría de la identificación molecular de los microorganismos.
- Realicé una pequeña estancia en la ciudad de Guanajuato, para preparar todo el material y montar los protocolos que se seguirían para elaborar el muestreo de las piedras del monumento. Así mismo realicé una inspección visual del monumento para determinar los sitios de muestreo óptimos.

Mayo 2005 – Enero 2006

- Inició mi estancia en la ciudad de Guanajuato a finales del mes de Abril de 2005, para realizar el trabajo experimental de identificación de microorganismos, que comprendió en general las siguientes actividades:
 - Preparación de las muestras y siembra de microorganismos, que realicé en colaboración con Veridiana Reyes Zamudio también colaborador en el proyecto.
 - Diseño de la estrategia de identificación.
 - Extracción de DNA, para utilizarlo como material esencial para la identificación molecular.
 - Amplificación y secuenciación por PCR, que fue la técnica utilizada para lograr la identificación.
 - Análisis e interpretación de secuencias, que fueron los resultados obtenidos del análisis molecular y que nos permitieron determinar a las diferentes especies de microorganismos presentes en la piedra.
- Termine mi estancia en Guanajuato en el mes de Enero de 2006

Febrero 2006

- Comencé con la escritura del documento para fines de titulación, quedando solo a la expectativa de recibir los últimos resultados necesarios para completar la TESIS.

- Realicé el trámite de alta de mi proyecto como opción de titulación ante el Instituto Tecnológico de Morelia. El proyecto fue aceptado y ha quedado a la espera de la entrega de la versión final de la TESIS para definir la fecha de titulación.
- Presenté los resultados de mi trabajo experimental dentro del marco del IV Congreso Internacional y VX Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, celebrado en Morelia Michoacán, en Abril de 2006. La presentación se realizó en 2 carteles titulados: "IDENTIFICACION MOLECULAR DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN CANTERAS DE LA BASÍLICA DE GUANAJUATO Y MODELAJE TEORICO DE BIODETERIORO" y "DISEÑO DE MARCADORES MOLECULARES, UTILES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN CANTERA USANDO ALINEAMIENTOS COMPUTACIONALES", teniendo como colaboradores a Aurelio Álvarez Vargas, Carmen Cano Canchola, Veridiana Reyes Zamudio, Jorge Cervantes Jáuregui y José de Jesús Pérez Bueno.
- La fecha exacta de la titulación se definirá en función del espacio disponible y calendarios que el Instituto Tecnológico de Morelia me marque, siendo probable que en el mes de Septiembre como máximo presente el examen recepcional para concluir con el trámite.

Anexo J



DEPARTAMENTO DE INGENIERIA BIOQUIMICA

ANTEPROYECTO DE TESIS DE LICENCIATURA:

“Identificación Molecular de los Hongos presentes en las canteras de la Basílica de Guanajuato y modelo teórico sobre Biodeterioro”

Presentado por: José Luis González Montoya

NO DE CONTROL: 00120659

Asesores: Dr. José de Jesús Pérez Bueno
Dra. Carmen Cano Canchola

Morelia , Mich a 12 de Octubre de 2005

RESUMEN

Los hongos juegan un papel clave en la colonización de los monumentos por microorganismos debido a la gran serie de factores que tienen de acuerdo a su metabolismo, por ejemplo la producción de ácidos, la secreción de pigmentos que decoloran la piedra y le dan un efecto antiestético, así como participando como micobiontes en la asociación simbiótica del líquen con algunas algas.

Debido a la gran cantidad de monumentos coloniales hechos de cantera, tanto en nuestro país como en muchos otros países, es de interés conocer que tipo de hongos se encuentran presentes en la cantera.

El uso de los iniciadores universales para amplificar regiones conservadas de los genes ribosomales ha servido como excelentes marcadores para la identificación de microorganismos. Estos representan una gran herramienta debido a la ubicuidad de estas regiones presentes en el genoma de los eucariontes.

En el presente trabajo se identificarán a las distintas especies de hongos presentes en la cantera de la basílica de Guanajuato, que ha servido como punto de referencia para el estudio. Se usará para ello técnicas de análisis molecular, como la amplificación en cadena de los genes (a través de la PCR) y la secuenciación de los fragmentos resultantes.

A partir de la información generada se propondrá un modelo teórico de la manera en que los hongos contribuyen al biodeterioro del monumento, con el objetivo de conocer mejor la aportación de estos microorganismos en el proceso general de deterioro.

INDICE

RESUMEN -----71

INTRODUCCION-----73

ANTECEDENTES -----73

SITUACIÓN ACTUAL -----73

GENERALIDADES -----74

JUSTIFICACIÓN -----74

OBJETIVOS: GENERALES Y ESPECÍFICOS -----75

OBJETIVO GENERAL: -----75

OBJETIVOS ESPECÍFICOS: -----75

METODOLOGIA -----¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

MATERIALES -----76

Equipo a utilizar: -----76

Reactivos: -----76

Otros reactivos a utilizar: -----77

MÉTODOS -----77

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL -----77

BIBLIOGRAFIA -----79

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

El estudio de los factores que dañan a la piedra ha resultado de gran interés en estos días, debido a la gran cantidad de monumentos de piedra que se han construido desde hace siglos, los cuales resultan de gran valor histórico.

La utilización de piedra como medio artístico ha variado desde grandes monumentos y edificios históricos hasta estatuas a pequeña escala. Mientras que la degradación de las piedras es esencial para la evolución en la tierra, el deterioro de los objetos de piedra con un significado cultural, representa una irremediable pérdida de nuestra herencia y nuestra historia. (Warsheid y Braams, 2000).

Numerosos factores biológicos han podido influenciar no solo en la localización y el grado de deterioro inducido biológicamente, sino también la desestabilización de las superficies de las piedras (Dornieden et al., 2000).

SITUACIÓN ACTUAL

Los estudios llevados a cabo en las últimas décadas en trabajos de piedras expuestas al medio ambiente, particularmente en áreas urbanas, han evidenciado una difusa y rápida corrosión. Es bien conocido que una de las principales causas de deterioro de las piezas de piedra es la contaminación atmosférica, debido a que los compuestos generados de este tipo de contaminación interactúan con los componentes de la piedra (Zanardini et al., 2000).

En las últimas décadas, las actividades rurales e industriales han modificado la composición de la atmósfera, resultando en un ambiente más agresivo, que acelera la degradación de los materiales. El dióxido de azufre es uno de los principales componentes más agresivos. Debido a que su oxidación resulta en la formación de ácido sulfúrico, existe una gran relación entre la sulfatación de las piedras y la concentración atmosférica de dióxido de azufre (Saiz-Jimenez, 1997).

Los microorganismos por su parte están envueltos en una gran variedad de procesos geológicos, algunos de los cuales llevan a la corrosión de minerales y rocas (Erhlich, 1990). Los microorganismos juegan un papel clave debido a su interacción con los agentes químicos y físicos (Flores et al., 1997).

GENERALIDADES

El deterioro *In Situ* de los monumentos es un proceso combinado causado por factores químicos, físicos y biológicos. La importancia relativa de cada factor varía de acuerdo a las condiciones topoclimáticas, el tipo de piedra, su estado de preservación y su localización dentro del monumento. (Papida et al., 2000).

Los efectos simultáneos de diferentes organismos parecen ser sinérgicos en la alteración de la piedra (Gomez-Alarcon et al., 1994).

JUSTIFICACIÓN

Este fenómeno en México no ha sido estudiado de manera puntual, los pocos estudios que se han realizado, han demostrado que la actividad de los microorganismos (por ejemplo de la zona maya), ha ayudado a que la piedra sufra biosolubilidad y debilite su estructura cristalina (Videla et al.).

Es por ello que resulta de gran interés estudiar el biodeterioro que se presenta en los monumentos de cantera, especialmente por ser un material del cual están hechos gran parte de los edificios coloniales de las ciudades de México.

Es evidente además que el primer paso para el estudio del biodeterioro y el establecimiento de las condiciones que generan este fenómeno, es la identificación de los microorganismos.

Se ha elegido a la basílica de Guanajuato como modelo para poder obtener las muestras que nos permitirán obtener un parámetro de cuales microorganismos están presentes en la cantera.

Finalmente la utilización de los métodos de identificación molecular permitirán con mayor precisión identificar en genero y especie a los microorganismos presentes en la cantera de la basílica de Guanajuato para así alcanzar mejores resultados (Warsheid y Braams, 2000).

Partiendo de esta información se obtendrá de manera mas confiable un modelo teórico sobre las posibles causas del biodeterioro que sufre el monumento.

OBJETIVOS: GENERALES Y ESPECÍFICOS

Objetivo General:

Identificar los principales microorganismos (hongos) presentes en el material pétreo de la Basílica de Guanajuato, utilizando para ello técnicas de análisis molecular y generar a partir de ello un modelo teórico de la forma en que estos causan biodeterioro al monumento.

Objetivos específicos:

- Cultivar a los microorganismos y aislarlos en cultivos puros con alto contenido orgánico.
- Extraer el DNA obtenido de cultivos puros de microorganismos y purificarlo.
- Amplificar la región estructural de la subunidad pequeña 18S del gen ribosomal, utilizando los iniciadores universales NS1, NS3, NS6 y NS8. (White et al.)
- Purificar los fragmentos obtenidos y clonarlos en un vector de expresión de ser necesario.
- Secuenciar comercialmente los fragmentos obtenidos y ordenar las secuencias para generar el gen 18S rRNA completo.
- Comparar los genes obtenidos en Bases de datos para identificar al microorganismo.
- A partir de todas las especies encontradas, proponer un modelo teórico sobre la manera en que los hongos contribuyen al biodeterioro del monumento.

METODOLOGÍA

Materiales

Equipo a utilizar:

- Campana de flujo laminar
- Incubadora fija e incubadora con agitación.
- Termomixer
- Termociclador capaz de utilizar gradientes de temperatura.
- Transluminador de luz ultravioleta
- Centrifugas de alta velocidad y centrifugas con refrigeración.
- Cellporator para electrotransformación.
- Cámaras para electroforesis.
- Balanzas analíticas.
- Horno de microondas.
- Agitadores de vértice.
- Espectrofotómetro

Reactivos:

- SDS (Duodecil sulfato de sodio)
- EDTA (Acido etilendiaminotetraacetico)
- Tris (Tris-(hidroximetil)aminometano)
- HCl (Ácido clorhídrico)
- Extracto de levadura
- Peptona de Caseína
- Dextrosa
- Agar Bacteriológico
- NaCl (Cloruro de Sodio)
- Bactopeptona Biotriptasa
- Buffer de carga para electroforesis
- Fenol
- Cloroformo
- Alcohol Isoamílico
- Etanol Absoluto
- Acetato de Sodio
- Acetato de Amonio
- Acetato de Potasio
- Hidróxido de Sodio
- Isopropanol
- Cloruro de Magnesio
- Buffer para PCR
- dNTP's (deoxinucleótidos trifosfato)
- Agarosa Ultrapura
- Agua desionizada estéril
- Tween 80
- Triton X
- Cloruro de Zinc
- Acido Acético glacial

- Nitrógeno líquido

ITM

IIBE

CIDETEQ

Anexo C : Anteproyecto de Tesis de Licenciatura de José Luis González Montoya

- Bromuro de etidio (desconozco si esta correcto)
- Carbenicilina
- X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido)
- IPTG (Isopropil- β -D-tiogalactopiranosido)

Otros reactivos a utilizar:

- ✓ Taq Polimerasa Recombinante (Invitrogen®)
- ✓ Kit de Purificación de fragmentos de gel de agarosa QUIAEXII (Quiagen®)
- ✓ Kit de Purificación de fragmentos de gel de agarosa PureLink (Invitrogen®)
- ✓ Kit de Clonación de fragmentos TOPO 2.1 (Invitrogen®)
- ✓ RNAsa de hígado
- ✓ Fosfatasa CIP (Boehringer®)
- ✓ Endonucleasa de restricción Sma I (Biolabs®)
- ✓ Endonucleasa de Restricción EcoRI (Biolabs®)
- ✓ T4 DNA ligasa (Biolabs®)
- ✓ Células Precompetentes químicamente y electro competentes de las cepas de *E.Coli* DH5a y XL1 Blue.

Métodos

- Amplificación de fragmentos de DNA por PCR de acuerdo a las especificaciones del proveedor de la enzima Taq Polimerasa.
- Diversas condiciones de amplificación utilizando iniciadores universales de acuerdo al método descrito por White y col.
- Método de extracción de DNA de Hongos Filamentosos por Flores Martínez y col., con algunas modificaciones.
- Método de purificación de DNA de acuerdo a los proveedores de los kits QUIAEX II y PureLink.
- Método de desfosforilación descrito por Álvarez Vargas.
- Método de clonación de fragmentos de acuerdo al protocolo del proveedor del kit TOPO 2.1.
- Método de electrotransformación de células competentes descrito por Álvarez Vargas.
- Método de extracción de DNA plasmídico por lisis alcalina y método descrito por Álvarez Vargas.

Estrategia experimental

1. Toma de muestra de la basílica de Guanajuato
2. Inoculación de las células extraídas de la piedra en medios de cultivo selectivos.
3. Aislamiento de colonias puras.
4. Extracción de DNA geonómico de los diferentes aislados obtenidos.
5. Purificación del DNA obtenido para su posterior utilización.
6. Utilización del DNA geonómico con los iniciadores universales NS1 y NS8 para amplificar mediante la técnica de PCR el gen 18S rRNA de su genoma.
7. Purificar el producto obtenido.

ITM

IIBE

CIDETEQ

- Si el producto se encuentra en concentración óptima para la secuenciación: (aprox. 300 ng/μl)

- a) Utilizar el producto de PCR (amplicon) para efectuar una PCR anidada utilizando los iniciadores NS3 y NS6, amplificando un fragmento interno del gen.
- b) Purificar este segundo producto obtenido.
- c) Secuenciar ambos productos purificados para generar la secuencia completa del gen.

- Si la concentración no es la óptima:

- a) Clonar el fragmento en el vector de expresión TOPO 2.1, utilizando el kit mencionado.
- b) Si no es posible clonarlo en el vector TOPO 2.1:
 - b.1) Extraer y Purificar el vector de expresión BlueScript para clonarlo en este vector.
- c) Una vez clonado el fragmento ya sea en el vector TOPO 2.1 o BlueScript, proceder a liberar el fragmento con la enzima de restricción apropiada.
- d) Con el producto original sin clonar, efectuar una PCR anidada utilizando los iniciadores NS3 y NS6, amplificando un fragmento interno del gen.
- e) Purificar el producto de esta última amplificación y mandarlo secuenciar junto con el fragmento clonado en el vector de expresión para generar la secuencia completa del gen.

8. Arreglar las secuencias obtenidas de los 2 fragmentos que se mandaran a secuenciar, para generar una secuencia única correspondiente al gen 18S rRNA de cada aislado.
9. Introducir la secuencia completa del gen en la base de datos del BLAST-n para obtener la homología con las secuencias existentes.
10. Con la información obtenida de las secuencias, identificando en género y especie al microorganismo en cuestión, efectuar una búsqueda bibliográfica sobre las características particulares de cada microorganismo identificado.
11. Con toda la información, proponer un modelo teórico sobre la manera en que todos ellos contribuyen al biodeterioro del monumento.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALTIERI, A. and SANDRA RICCI, Calcium uptake in mosses and its role in stone biodeterioration, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 201-204.
2. ASCASO, C., J. WIERZCHOS AND R. CASTELLO, Study of the biogenic weathering of calcareous litharenite stones caused by lichen and endolithic microorganisms, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 42, Issue 1, 1 July 1998, Pages 29-38.
3. DEGRANGE, V., BARDIN, R. Detection and Counting of Nitrobacter Populations in Soil by PCR. 1995. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 61:2093-2098.
4. DORNEDEN TH., A. A. GORBUSHINA AND W. E. KRUMBEIN, Biodecay of cultural heritage as a space/time-related ecological situation — an evaluation of a series of studies, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 261-270.
5. EDWARDS, U., ROGALL, T., BLOCKERL, H., EMDE, M., BOTTGER, E.C. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research.* Vol. 17:4873-4853.
6. FLORES M., J. LORENZO AND G. GÓMEZ-ALARCÓN, Algae and bacteria on historic monuments at Alcala de Henares, Spain, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 241-246.
7. GAYLARDE, C.C. and PETER M. GAYLARDE, A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America, *Int. Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 55 (2), March 2005, pp 131-139.
8. KUMAR, R., ANURADHA V. KUMAR, *Biodeterioration of stone in tropical environments: An overview*, The Getty Conservation Institute, USA 1999.
9. LISCI, M., MICHELA MONTE AND ETTORE PACINI, Lichens and higher plants on stone: a review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 51, Issue 1, January 2003, Pages 1-17.
10. NÜBEL, U., GARCIA-PICHEL, F., MUYZER, G. 1997. PCR Primers to Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 63:3327-3332.
11. NUGARI, M. P. AND A. M. PIETRINI, Trevi Fountain: An evaluation of inhibition effect of water-repellents on cyanobacteria and algae, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 247-253.
12. PAPIDA, S., WILLIAM MURPHY AND ERIC MAY, Enhancement of physical weathering of building stones by microbial populations, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 305-317.
13. PRICE, C.A. *Stone Conservation: an overview of current research*, Getty Conservation Institute, USA 1996, Pages 9-12.
14. SAIZ-JIMENEZ, C. Biodeterioration vs biodegradation: the role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 225-232.
15. SEAWARD, M. R. D., Major impacts made by lichens in biodeterioration processes, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 269-273.
16. TAYLER, S., MAY, E. Detection of specific bacteria on stone using an enzyme-linked immunosorbent assay, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 155-167.
17. TAYLER, S., MAY, E. Excretion of Organic Acids by Fungal Strains Isolated from decayed Sandstone, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 169-180.
18. TAYLER, S., MAY, E., Investigations of the localisation of bacterial activity on sandstone from ancient monuments, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 327-333.
19. TOMASELLI, L., GIOIA LAMENTI, MARCO BOSCO and PIERO TIANO, Biodiversity of photosynthetic micro-organisms dwelling on stone monuments, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 3, October 2000, Pages 251-258.
20. VIDELA, H. A., GUIAMET, P. S. y S. GOMEZ DE SARAVIDA, Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol 46, Issue 4, December 2000, Pages 335-341.
21. WARSCHEID, TH. AND J. BRAAMS, Biodeterioration of stone: a review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 343-368.
22. WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. AND TAYLOR, J., Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics., *PCR protocols , a guide to methods and applications.* Academic press, Inc., 1990, Pages 315 – 322.
23. ZANARDINI, E., P. ABBRUSCATO, N. GHEDINI, M. REALINI and C. SORLINI, Influence of atmospheric pollutants on the biodeterioration of stone, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol 45 (1-2), 1 January 2000, Pages 35-42.

Anexo K



DEPARTAMENTO DE INGENIERIA BIOQUIMICA

Nombre del alumno : José Luis González Montoya

NO DE CONTROL: 00120659

DESARROLLO DEL PROYECTO:

“Protección de monumentos y piezas históricas de metal o piedra con la aplicación por aerosol, brocha y/o permeación electroforética de materiales híbridos polímero-vidrio inertes y de gran adaptabilidad.”

Reporte del periodo: 7 de Febrero al 27 de Mayo de 2005.

Asesor Interno: M.C. Irma Hernández Tovar

Asesor Externo: Dr. José de Jesús Pérez Bueno

Reporte Final

Vo.Bo. Asesor Interno

Vo.Bo. Asesor Externo

M.C. Irma Hernández Tovar

Dr. José de Jesús Pérez Bueno

Morelia , Mich a 30 de Mayo de 2005.

1. INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES

El estudio de los factores que afectan a los monumentos de piedra ha comenzado recibir mayor atención en los últimos años debido al gran interés que se tiene en la conservación del patrimonio cultural por parte de muchos países. Sobre todo en el continente europeo donde existe una gran cantidad de monumentos históricos hechos de piedra.

En nuestro país, aunque no en la misma proporción, se ha comenzado a desarrollar investigación con respecto a la conservación de los monumentos sobre todo en la Península de Yucatán¹, donde la zona Maya ha comenzado a ser el centro de atención por el valor histórico que tiene y por el alto grado de deterioro que presentan muchos de los monumentos de ésta zona. Dentro de este deterioro, el que se presenta por microorganismos es uno de los motivos de estudio.

1.2. SITUACION ACTUAL

El gobierno del estado de Guanajuato, preocupado por el creciente deterioro que presentan algunos de los monumentos de piedra, ha comenzado a realizar algunos estudios de la acción de diferentes factores y su contribución al deterioro de las piedras de los monumentos históricos.

De principio no se consideraba la posibilidad de que los microorganismos contribuyeran de manera significativa con el proceso de deterioro, pero a través de varias observaciones se ha llegado a la hipótesis de que el biodeterioro (deterioro provocado por microorganismos) es tan representativo como el que se presenta por otros factores. Es por ello que uno de los objetivos de este proyecto es demostrar la acción biodegradante que presentan estos microorganismos, así como su identificación y su eliminación de los materiales pétreos.

1.3 GENERALIDADES

El deterioro de la piedra se debe a varios factores dentro de los cuales podemos destacar : El clima (la temperatura , la humedad relativa , etc..), los contaminantes atmosféricos, los microorganismos presentes en la piedra, la luz que incide sobre la piedra, naturaleza de la piedra, etc.

Algunos de estos mecanismos actúan por lo regular en conjunto (sinérgesis), por lo que es difícil determinar si la acción de uno es más representativa que la de otro, es por ello que debemos de tratar de estudiar la mayor cantidad de factores que podamos para así poder llegar a una conclusión factible de cual o cuales de los mecanismos promueven un mayor deterioro, pero por lo general es una combinación de varios mecanismos los que contribuyen al deterioro de la piedra.

El biodeterioro ha despertado gran interés a últimas fechas, porque existen varios monumentos históricos cuyo deterioro principal se ha comprobado se debe mayormente a la aportación de los microorganismos a la degradación de la piedra.

2. ACTIVIDADES REALIZADAS

El proyecto en el que estoy colaborando es un proyecto de fondo mixto entre el CONCYTEG(Guanajuato) y el CONACYT(representado por el CIDETEQ de Querétaro).

Esto significa que debemos colaborar en gran parte con la Universidad de Guanajuato porque ellos son los encargados de llevar a cabo las tareas por parte de la aportación de Guanajuato al proyecto, y yo seré el encargado de realizar la contribución por parte del CIDETEQ.

Es por ello que gran parte de las tareas realizadas que estaré presentando a lo largo de este reporte, y de los subsecuentes, serán tareas realizadas en la universidad de Guanajuato, ya que ellos cuentan con una mayor infraestructura para la realización de la mayoría de los análisis que voy a realizar con los diferentes microorganismos.

2.1. 1ª Visita al la Universidad de Guanajuato.

La segunda semana de Febrero , el Dr. José de Jesús Pérez Bueno (Responsable Técnico del Proyecto y Asesor externo de mi proyecto de residencias) y yo asistimos a una reunión con el Dr. Jorge Cervantes (co-responsable del proyecto) y la Dra. Carmen Cano Canchela, con el fin de definir la ruta que habríamos de seguir para el estudio de los microorganismos en la piedra, debido a que esto era una parte del proyecto que aún no se consideraba pero que se cree que puede representar un gran alcance para los objetivos del proyecto.

Algunos de los puntos más importantes que se trataron en la junta fueron:

- El Dr. Cervantes comenzó explicando que los tratamientos que hasta ahora se han dado a las piedras se hicieron utilizando alcóxidos.
- Sugirió además centrar el primer caso de biodeterioro en la "Basílica Colegiata de Nuestra Señora de Guadalupe" que es uno de los monumentos en lo que se han realizado estudios.(Apartado A).
- La Dra. Cano sugirió que la primer tarea que debíamos tener era hacer una investigación bibliográfica para encontrar cuales eran los géneros y especies de microorganismos más representativos, de cuales existen estudios actualmente y que aportación tienen en el proceso de deterioro de la piedra. Para a partir de esto definir que técnicas se van a aplicar con el objetivo de determinar cuales están presentes en el material pétreo de la basílica.
- La Dra. Sugirió que algunas de las técnicas que podríamos utilizar para la identificación de acuerdo a su experiencia podrían ser: HPLC , SEM(Microscopia electrónica de Barrido), PCR , etc...

- Se sugirió que además pudieran hacerse muestreos tanto "in situ" como a través de muestras representativas de piedras extraídas de la basílica.
- También surgió la idea de iniciar la búsqueda tratando de encontrar los nutrientes en la piedra que fueran más propios para el desarrollo de los microorganismos.
- Finalmente se fijó una fecha que sería el 16 de Marzo de 2005, en la que presentaríamos en un seminario la información recabada en la investigación bibliográfica para a partir de ello, definir las técnicas de muestreo a utilizar, así como los diferentes análisis que deberían de realizarse para identificar y aislar a los diferentes microorganismos presentes en las piedras de la Basílica. (La información presentada en el seminario se encuentra en el Apartado B).

2.2. Visita a la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Biológicas y de la Salud del CINVESTAV.

Debido a la importancia de la investigación bibliográfica fue necesario acudir a una biblioteca especializada, que contaba con el material que requería sobre los estudios de microorganismos en piedra.

Para ello, a través de una búsqueda en Internet y con la ayuda de una compañera de Guanajuato que me facilitó un artículo, pude analizar una revista de nombre "*Internacional Biodeterioration & Biodegradation*" que es una de las más representativas en cuanto al tema del biodeterioro. En conjunto con la biblioteca del CIDETEQ ubicamos que la revista se encontraba en la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Biológicas y de la Salud del CINVESTAV, de la unidad Zacatenco, en el D.F. Por lo que me dirigí a la biblioteca y obtuve copias de todos los números que me parecieron interesantes, que trataban sobre deterioro de los microorganismos en piedra.

A partir de esta información me dediqué a clasificar la información para generar una tabla que concentrara los géneros y especies de los microorganismos más representativos, el mecanismo de deterioro presentado, así como el lugar donde se estudiaban y el tipo de piedra en el que se presentaban. Dicha información fue el material que presenté el día 16 de marzo en el seminario de Guanajuato. (Ver Apartado B)

2.3 2ª Visita a la Universidad de Guanajuato.

El día 16 de Marzo volví a acudir a la Universidad de Guanajuato con el Dr. Pérez para presentar la información obtenida. De igual forma otra estudiante de la Universidad presentó la información que a través de su investigación pudo obtener.

Con ambas informaciones, la Dra. Cano dijo que habría de analizar que técnicas de muestreo y análisis serían las más adecuadas, pidió que volviéramos a reunirnos el día 11 de abril para comenzar con el muestreo y los análisis correspondientes. Durante este tiempo ella analizaría las técnicas y verificaría que materiales deberían de adquirirse para efectuar los estudios. Cabe destacar que el periodo tan largo para la reunión se debió a que la universidad al trabajar como

una escuela, debía tener su periodo vacacional (comprendido del 21 Marzo - 4 abril), y durante ese tiempo no tuvimos actividades.

2.4. Identificación bibliográfica de los principales microorganismos involucrados en el proceso de Deterioro.

Todo lo referente a los microorganismos implicados en el proceso de deterioro de la piedra que fue encontrado en la bibliografía, es reportado en las tablas y en el documento que se mencionan en el Apartado B.

3. ACTIVIDADES POR REALIZAR Y AVANCE DEL PROYECTO

La siguiente actividad consiste en asistir a la ciudad de Guanajuato para tomar muestras de la basílica, para ello seguiremos los métodos de muestro que la doctora nos marque.

Después comenzaremos los análisis para determinar los microorganismos presentes así como su mecanismo de acción.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Hasta ahora no se pueden hablar de resultados obtenidos de manera concreta porque la fase de experimentación no ha comenzado aún, pero podemos decir que de acuerdo a los microorganismos que se han reportando en la literatura iremos obteniendo y reportando los mejores resultados.

5. BIBLIOGRAFÍA

- 1.** H. A. VIDELA, P. S. GUIAMET AND S. GOMEZ DE SARAVIA, Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 335-341.
- 2.** S. TAYLER AND E. MAY, Detection of specific bacteria on stone using an enzyme-linked immunosorbent assay, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 155-167.
- 3.** S. TAYLER AND E. MAY, Excretion of Organic Acids by Fungal Strains Isolated from decayed Sandstone, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 169-180.
- 4.** M. FLORES, J. LORENZO AND G. GÓMEZ-ALARCÓN, Algae and bacteria on historic monuments at Alcalá de Henares, Spain, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 241-246.
- 5.** TH. DORNIEDEN, A. A. GORBUSHINA AND W. E. KRUMBEIN, Biodecay of cultural heritage as a space/time-related ecological situation — an evaluation of a series of studies, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 261-270.
- 6.** M. P. NUGARI AND A. M. PIETRINI, Trevi Fountain: An evaluation of inhibition effect of water-repellents on cyanobacteria and algae, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 247-253.
- 7.** M. R. D. SEAWARD, Major impacts made by lichens in biodeterioration processes, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 269-273.
- 8.** C. ASCASO, J. WIERZCHOS AND R. CASTELLO, Study of the biogenic weathering of calcareous litharenite stones caused by lichen and endolithic microorganisms, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 42, Issue 1, 1 July 1998, Pages 29-38.

9. ANTONELLA ALTIERI AND SANDRA RICCI, Calcium uptake in mosses and its role in stone biodeterioration, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 201-204.
10. C. SAIZ-JIMENEZ, Biodeterioration vs biodegradation: the role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 225-232.
11. E. ZANARDINI, P. ABBRUSCATO, N. GHEDINI, M. REALINI AND C. SORLINI, Influence of atmospheric pollutants on the biodeterioration of stone, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 45, Issues 1-2, 1 January 2000, Pages 35-42.
12. LUISA TOMASELLI, GIOIA LAMENTI, MARCO BOSCO AND PIERO TIANO, Biodiversity of photosynthetic micro-organisms dwelling on stone monuments, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 3, October 2000, Pages 251-258.
13. SOPHIA PAPIDA, WILLIAM MURPHY AND ERIC MAY, Enhancement of physical weathering of building stones by microbial populations, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 305-317.
14. SALLY TAYLER AND ERIC MAY, Investigations of the localisation of bacterial activity on sandstone from ancient monuments, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 327-333.
15. H. A. VIDELA, P. S. GUIAMET AND S. GOMEZ DE SARAIVIA, Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 335-341.
16. TH. WARSCHIED AND J. BRAAMS, Biodeterioration of stone: a review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 343-368.
17. MARCELLO LISCI, MICHELA MONTE AND ETTORE PACINI, Lichens and higher plants on stone: a review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 51, Issue 1, January 2003, Pages 1-17.
18. CHRISTINE C. GAYLARDE AND PETER M. GAYLARDE, A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 55, Issue 2, March 2005, Pages 131-139.
19. C.A. PRICE, *Stone Conservation: an overview of current research*, Getty Conservation Institute, USA 1996, Pages 9-12.

APARTADO A

En este anexo se presenta el trabajo que se hizo de investigación bibliográfica y que se presentó en Guanajuato.

La primera sección contiene los puntos más importantes tratados en los artículos y se incluyen las referencias al final del Anexo.

La segunda sección contiene tablas de la clasificación que realice de los diferentes microorganismos y las especies más representativas. Los separé en 4 grupos principales de acuerdo a la semejanza en el mecanismo de acción que presentan: Bacterias , Hongos , Organismos fotoautótrofos (principalmente algas y cianobacterias) , y líquenes.

ANOTACIONES SOBRE LOS ARTICULOS DE LA REVISTA: *Internacional Biodegradation & Biodeterioration*

Referencia A

- Utilizar ELISA puede acelerar el proceso de identificación de unas semanas a una cuantas horas.

- Se describe el procedimiento general para hacer el análisis
- El deterioro no esta asociado con tipo específicos de bacterias, cada lugar tiene un hábitat único dependiendo de su localización geográfica.
- La técnica de ELISA no distingue entre los microorganismos viables y los no viables.

Referencia B

- Los hongos acidógenos causan gran deterioro a los minerales debido a la excreción de ácidos como el ácido oxálico, cítrico y glucónico.
- La lisis de cianobacterias y algas sirve como fuente de nutrientes para los microorganismos heterótrofos.
- Se describe el procedimiento general de cuantificación de producción de ciertos ácidos por parte de los hongos en presencia y ausencia de un alga en estudio, para verificar si puede servir como fuente de nutrientes.
- El porcentaje de especies productoras de ácido contra las no productoras que se encontraron fue del 28.5% aprox.
- El resultado de la excreción de un ácido orgánico es la degradación y solubilización de compuestos minerales y la quelación de cationes metálicos.

Referencia C

- La actividad de las bacterias heterótrofas en la piedra está gobernada por la disponibilidad de materia orgánica.
- Se encontraron numerosos géneros de levaduras y hongos del género *Rhodotulla*, pero no se detalla su contribución al biodeterioro.

Referencia D

- Solo se muestra la Tabla 1, la cual concentra a varias especies de microorganismos y muestra un comparativo de la presión que ejercen sobre el material que invaden.

Referencia E

- Las zonas del monumento en contacto con el agua constituían un medio ambiente particularmente favorable para el crecimiento de los microorganismos fotoautótrofos.
- Se analizó qué tipo de deterioro se generó en los compuestos con los que se restauró la fuente.
- Los valores del ángulo de contacto disminuyeron después de 3 meses en los polímeros que se encontraban inmersos en el agua.
- Después de 8 a 12 meses todos los inmersos perdieron sus propiedades para repeler el agua.
- Los 3 polisiloxilanos y el acrílico aplicado no inhiben el crecimiento de la microflora autótrófica.

Referencia F

- Los líquenes tienen la capacidad de acumular N, P y S, incrementando la biodisponibilidad de los microorganismos que habitan después de ellos.
- Su deterioro se da por 2 tipos de acción :
 - a) Acción Física. Por expansión y contracción del talo
 - b) Acción Química. Por la liberación de CO₂, Ac. oxálico y en general otras EPS.
- El oxalato de calcio que desprende el talo es muy destructivo
- Es un microorganismo implicado en procesos de biodeterioro al corto plazo por la gran actividad que presenta.
- Los líquenes así como otros microorganismos antropogénicos pueden causar deterioro aun cuando el equilibrio del medio ambiente se rompa.

Referencia G

- Las algas y/o cianobacterias están en íntimo contacto con microhongos y micobiontes, lo cual sugiere que la cohesión de las partículas de la piedra se reduzca en gran parte.
- La producción de ácido por parte de los hongos parece disminuir por la contaminación del aire, cuando existen bajas cantidades de productores primarios como algas y cianobacterias.
- El proceso de degradación en éste caso parece haber sido la producción de CO₂ y consecuentemente la formación de ácidos que disuelven los granos de calcita.

Referencia H

- Las briofitas son conocidas por causar daño a la piedra a través de mecanismos biogeoquímicos y biogeofísicos
- La más alta concentración de Calcio se presentó en las muestras con marmol. Las muestras de trufa y travertine resultaron más bajas.

Referencia I

- El dióxido de azufre es de los contaminantes más importantes por su capacidad de formar ácido sulfúrico.
- El ácido sulfúrico al atacar a las piedras calizas forma yeso, el cual con el aire, los contaminantes orgánicos, partículas carbónicas, polvo, etc.... dan lugar a la formación de costra negra.
- Mayormente 2 tipos de poblaciones de hongos se pueden aislar de la piedra
 - a) Las que utilizan el carbón disponible (es decir los carbohidratos)
 - b) Las que usan los derivados del petróleo (originados de la deposición de contaminantes orgánicos). Los cuales están presentes en menor proporción.

01120112'qqwdx

Referencia J

- Es probable que las especies que pueden degradar los contaminantes orgánicos prevalezcan sobre los otros microorganismos y crezcan en cantidades más considerables.

- En los especímenes protegidos no se presentó biodeterioro, mientras que en los expuestos se contaron gran cantidad de bacterias y hongos con manchas que difieren en todos los litotipos.
- La interacción con el medio ambiente ha causado deterioro, induciendo la bioreceptividad de las piedras.
- Es probable que la microflora heterótrofa fuera colonizadora primaria de los materiales expuestos a contaminación ambiental, debido a su habilidad para crecer utilizando contaminantes orgánicos.
- Los hongos negros (dematiaceae), levaduras negras y actinomicetos han sido identificados como los responsables del cambio de color de las superficies de la piedra.
- Se encontraron microorganismos heterótrofos que no parecen contribuir al biodeterioro.

Referencia K

- Los microorganismos fotosintéticos son potencialmente los más agresivos ya que su naturaleza fotosintética los hace crecer fácilmente en muchas superficies de piedra.
- Los microorganismos fotosintéticos participan en el proceso de deterioro directamente causando daños antiestéticos e indirectamente apoyando el crecimiento de otros microorganismos.
- Los principales son las microalgas verdes y las cianobacterias.
- Se detalla el estudio de algunos monumentos italianos y algunas técnicas moleculares que se usaron para aislar a éstos microorganismos.

Referencia L

- Los tipos heterotróficos encontrados se asociaron con los halotolerantes, así como con los reductores y no reductores del azufre.
- Se sabe que la adición de sal modifica el balance de la población y altera la disponibilidad de nutrientes
- Las EPS tienen un efecto mecánico y químico :
 - a) Mecánicamente deterioran la piedra por expansión y contracción diferencial durante los ciclos de humedecimiento/secado y congelamiento/deshielo.
 - b) Químicamente, interactuando con los componentes de la piedra a través de actividades de intercambio de cationes.

Su actividad mecánica y química contribuye a incrementar la porosidad total de la piedra.

- Las SRB son organismos quimiolitotróficos que reducen los compuestos inorgánicos azufrosos. Forman ac. sulfúrico y dañan seriamente a las piedras que contienen calcita, Las sales que forman también afectan a la piedra mecánicamente.
- Las bacterias que producen ácido son por si solas muy débiles para causar biodeterioro en la piedra a menos de que participen en la formación de un biofilm y en procesos mecánicos.

Referencia M

- Sólo se describe la técnica general para el estudio de microorganismos a través de una técnica conocida como INT.

Referencia N

- En la zona maya las piedras son piedras calizas que contienen básicamente carbonato de calcio.
- Los microorganismos pueden obtener muchos elementos que necesitan para su metabolismo por biosolubilización.
- El proceso de biosolubilización involucra la producción de ácidos por parte de los microorganismos, que ocurre a través de los materiales que unen a la piedra, consecuentemente debilitando la estructura cristalina.
- La liberación de Iones Sodio, Potasio, Calcio, Manganeso y Aluminio puede utilizarse como indicador de biodeterioro.

Referencia P

- Cuando el crecimiento de los líquenes no perjudica severamente la conservación de un edificio, debería de verse como si enriqueciera el valor cultural del monumento.
- A los líquenes que colonizan la piedra se les llama epilíticos.
- Cada especie de líquenes solo puede vivir en un rango definido de pH, Humedad, luminosidad y fuente de N.
- Los líquenes causan una gran variedad de deterioro, por excreción de ac. oxálico, de CO₂, etc...

Referencia Q

- Las cianobacterias son la biomasa más abundante en LA, seguido por los hongos.
- Los actinomicetos son más comunes y frecuentes en piedra.
- Las cianobacterias resisten a alta radiación solar y a menudo tienen células densamente pigmentadas o vainas. Lo que explica el porqué se encuentran en tal proporción en los países subtropicales de Latino América
- La presencia de protectores osmóticos (osmolitos) ayuda a que ciertos microorganismos permanezcan metabólicamente activos a baja actividad de agua o a altas concentraciones salinas.

APARTADO B

BACTERIAS

Genero : Arthrobacter					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
A. sp.	1-5	1	No especificado	Encontrado en 1,2,3 y 4 tanto en piedra normal como en piedra con deterioro	A
Genero : Thiobacillus					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
T.albertis, T.neopolitanus, T.dentrificans, T.thiooxidans, T.versutus, T.thioparus	8	3	No especificado	Derivan su energia de la oxidacion de compuestos reducidos de sulfuro , se encuentran en ambientes donde se encuentra sulfuro oxidable.	C
T. sp.	NE	1,4	Se conoce por su accion oxidacion de compuestos reducidos de S	No se menciona nada sobre estudio recientes de este microorganismo	O
Genero: Pseudomonas					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
P. Group III	1-5	1	No especificado	Encontrado en 3 y 4 tanto en piedra normal como en piedra con deterioro	A
P. sp	18	3		Encontrado en Yucatan, no se marca nada mas en la referencia	N
Genero : Bacillus					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
B. sp.	1-5	1	No especificado	Encontrado en 1,2,3 y 4 tanto en piedra normal como en piedra con deterioro	A
B. cereus	7,8,10,17	1,2,3		Se encontraron en los meses sequia del verano	C

B. licheniformis, B.polimyxa	7,8,10	1,2,3			C
B.circulans	7,8,10,17	1,2,3		Encontrado en Yucatan, no se marca nada mas en la referencia	C,N
Genero : Aeromonas					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Aeromonas / vibrio	1-5	1	No especificado	Encontrado en 2,3 y 4 tanto en piedra normal como en piedra con deterioro	A
Genero : Micrococcus					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
M.halobius, M. Agilis	7	1,2,3	Produce exopolimero en 4 que son prerequisite para formacion de biofilms		C
M. Varians, M. Luteus, M. Roseus	7,8	1,2,3	Forma asociaciones bacteriales que pueden producir biofilms		C
Otros Generos de Interes					
Generos	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Arthrobacter, Clavibacter, Aureobacterium, Rhodococcus, Brevibacterium, Streptomyces	NE	NE	Involucrados ampliamente en la formacion de biofilms e interfieren en el proceso de cristalización de las sales	Su actividad biocorrosiva se ha evaluado como baja pero ayudan a otras bacterias a degradar los compuestos como los hidrocarburos alifáticos y aromáticos	O

HONGOS					
Genero : Fusarium					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
F.Reticulatum, F.sp	6	1	Produccion de acidos organicos, oxalico, fumarico y succinico	Encontrados en presencia de otros microorganismos que se detallan en la referencia B, Tabla 1, que son especies no productoras de acidos	B
				Activos en la asimilacion de hidrocarburos alifaticos y aromaticos	I
				F. sp fue encontrado en Carrara y Candoglia marble	J
Genero : Penicillium					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
P.corylophilum, P.girseofulvum	6	2	Produccion de acidos orgánicos, oxálico, fumárico y succinico	Sobre la producción de acidos	B
				Activos en la asimilación de hidrocarburos alifaticos y aromaticos	I
P. crysogenum, P. echinulatum, P. expansum, P. roqueforti, P. aurantrogriseum	NE	1		Se detallan una fotografias en la referencia O sobre la acción de estos microorganismos	O
Genero : Grimmia					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
G.pulvinata	14	4,5,7	Intercambian Iones calcio con el sustrato en el que se encuentran, contribuyendo además a la hidratacion de la piedra	La concentracion de calcio en este varia segun la epoca del año como se menciona en la referencia	H
Genero : Aspergillus					

Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
A. niger, A. ochraceus	NE	NE		Activos en la asimilacion de hidrocarburos alifaticos y aromaticos	I
	18	3		Encontrados en Yucatan, ver referencia N	N
Genero : Moniliella					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
M. sp.	15	4	Produce un pigmento negro no difusible que parece ser el reponsable del aspecto cromatico de algunas manchas en la piedra	Encontrado el los tipos de marble carrara y Candolgia	J
Genero : Monilia					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
M. sp.	17	3			N
Otros Generos de Interes					
	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Exophalia, Cladosporium, Alternaria, Aureobasidium, Ulocladium, Phoma	NE	NE	Actividad biocorrosiva debido a la excrecion de acidos organicos y oxidacion de los cationes minerales que forman la piedra, como el manganeso y el Fierro. Causan ademas descoloraion de la piedra por la excrecion de melaninas y estrés mecanico a la piedra	Pueden ademas atacan a un amlio rango de sustancias polimericas, incluso las qus son utilizadas por razones de proteccion	O
Acrodentium crateriforme, Aureobasidium pullulans, Cladosporium tendissimum	NE	1		Se detallan una fotografias en la referencia O sobre la accion de estos microorganismos	O

ORGANISMOS FOTOAUTOTROFOS

ORGANISMOS FOTOAUTOTROFOS					
Familia : Cyanobacteria					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Chroococcus sp., Lyngbya sp., Microsystis sp., Oscillatoria sp., Phormidium sp.	11	5	Capaces de degradar los compuesto de los siloxilanos y acrilicos.Reducen el angulo de contacto y hacen que pierdan su capacidad de repeler el agua.	Encontrados solo en ambientes donde se encuentran inmersos en agua, producian una capa mucilaginoso que cubria los agentes portectores que se le habian puesto	E
Gloeothece sp.	NE		Se cree pudiera biodegradar y no biodeteriorar , contribuyendo con esto a limpiar las piedras.	Utiliza azufre para varios procesos metabolicos, ademas utilizan el yeso de los black crust como fuente de azufre	I
Phormidium autummale, Phormidium tenue	16	9,10,11	La lisis de este tipo de bacterias sirve como nutrientes a los hongos y bacterias heterotrofas para ser invasores secundarios de la piedra	Los generos gloeocapsa , pleurocapsa, gloeothece y synechococcus, ademas de Myxosarcina, Dermocarpa, Synechocystis, Synechococcus, Chlorogloepsis, Chroococcidiosis y Xenococcus fueron encontrados en Yucatan, vease referencia N para detalle del lugar	K , N
Nostoc punctiforme, Nostoc muscorum		11			
Microcoleus vaginatus		9,10,11			
Plectonema boryanum					
Myxosarcina concinna		9,11			
Chroococcus Minor		9,11			
Gloeocapsa biformis	21	12		El genero Gloeocapsa tolera grandes cantidades de sal	Q
Familia: Clorophyceae					
Especies mas representativas	Lugar de	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia

	estudio				
Chlorella sp.	11	5	Similar al del Cyanobacteria		E
Apatococcus lobatus	9	2,3,9,10	Daños en el volumen , causando ciclos de secado y rehumedecimiento, sirven de nutrientes a otros organismos	Encontrado tambien en 7 y 8, aunque solo se menciona el genero	C
Stichococcus bacillaris	16	9,10,11		Se encontraron los generos Chlorella en yucatan, vease referencia N para mas detalle	K,N
Klebsormidium flaccidum		9,10,11			
Chlorella fusca, Chlorella homosphaera		9,10			
Muriella terrestris		9,10,11			
Familia: Bacillariophyceae					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Nitzschia sp., Pinnularia sp.	11	5	Similar al del Cyanobacteria		E
Navicula mutica, Nitzschia communis	16	NE			K
Otros generos de Cianobacterias representativos					
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente	Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Microchaetaceae	21	12		Encontrados como biomasa de los biofilms en LA, donde las cianobacterias se ubican como las especies mas representativas de microorganismos	Q
Rivularaceae					
Oscillatoriales					
Nostocaceae					

CIDETEQ

Trentepohliales	21	12		Encontrado como la especie filamentosa mas abundante como biomasa de los biofilms	Q
Pleurococcus	NE	NE			R
Scytonema					

LIQUENES

Genero : Dirina						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
<i>D. massiliensis forma soriedata</i>	NE	0		Accion fisica: expansion y contraccion del talo. Accion quimica : liberacion de O2 y Ac. Oxalico	Implicado en proceso de biodeterioro a corto plazo, es un microorganismo antropogenico que puede deteriorar aun que el medio ambiente no sea muy favorable	F
D. stenhamari						
Genero: Lecanora						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
L. muralis, L.dispersa	20	NE		Causa deterioro mecanico al sustrato		P
Genero: Bagliettoa						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
B. Parmigerella, B. parmigera	20	NE		Causan disolucion		P
Genero: Aspicilia						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia

CIDETEQ

A. calcarea, A. Radiosa, A. hoffmannii	20	NE				P
Genero: Candelariella						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
C. vitellina	20	NE			Cubre de manera significativa pero no causa modificacion evidente al sustrato	P
C. Medians	20	NE				P
Genero: Caloplaca						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
C. aurantia, C. flavescens	20	NE			Encontrados en restos arqueologicos	P
C. ochracea	20	NE		Causa disolucion		P
C. citrina	20	NE				P
C. sp.	13	6				G
Otras especies representativas						
Especies mas representativas	Lugar de estudio	Tipo de Ambiente		Mecanismo de deterioro	Comentarios	Referencia
Haematomma ochroleucum var. porphyrium	20	NE		Cambios antiesteticos debido a la coloracion de los liquenes		P
Trephomela atra						
Lecidea fuscoatra	20	NE			Cubre de manera significativa pero no causa modificacion evidente al sustrato	P
Xanthoria candelaria	20	NE			En la referencia se da el detalle de la	P

					ubicacion de algunos de estos microorganismos en algunas posiciones.	
Lecidella capathica						
Roccella phycompsis						
Placintium nigrum						
Verrucaria nigrescens						
Phaeophysca orbicularis						
Diploica canescens, Xanthoria sp., Lecania rabenhorstii,	13	6		Algas y cianobacterias se encuentran en intimo contacto por lo que la cohesion de las particulas de la piedra disminuye en gran parte.	El proceso de produccion de acido del hongo puede disminuir cuando no existen grandes cantidades de productores primarios (algas, cianobacterias,etc.) y existe contaminacion del aire.	G

No	Material en el que la referencia hace el estudio
0	Cualquiera
1	Sandstone
2	Limestone
3	Granite
4	marble
5	Travertine
6	Calcareous litharenite
7	Tufa
8	Black Crust
9	calcareous substrate
10	siliceous substrate
11	artificial substrate
12	Mineral substrate

No	Monumento Histórico	Ciudad,Pais	Ref
1	Portchester Castle	Sur,Inglaterra	A
2	Netley Abbey	Sur,Inglaterra	A
3	Old Wardour Castle	Sur,Inglaterra	A
	Tintern Abbey	Sur,Gales	A
5	Battle Abbey	Sur,Inglaterra	A
6	Catedral de Carrosa del Campo	Provincia de la cuenca,España	B
7	Iglesia Magistral	Alcala de Henares,España	C
8	Iglesia de Santa Maria	Alcala de Henares,España	C
9	Catedral de salamanca	salamanca,españa	C
10	Iglesia de Santo Domingo	soria, España	C
11	Fuente Trevi	Roma, Italia	E
12	No especificado	No especificado	F
13	Catedral de Jaca	Provincia huesca,España	G
14	Fori Imperial	Roma, Italia	H
15	Medio Ambiente	Milan, Itallia	J
16	Varios	Varias ciudades,Italia	K
17	Uxmal	Yucatan, Mexico	N
18	Tulum	Yucatan, Mexico	N
19	Catedral Orvieto	Italia	P
20	Varios	Roma, Italia	P
21	Varios	Latino America	Q

Algunas bacterias Implicadas en la Biocorrosión

Genero y especie	Tipo de deterioro
Legionella pneumophila	Se les ha encontrado en tubos y sistemas de agua caliente
Desilfovibrio vulgaris Vibrio alignolyticus	Al adherirse al metal causan corrosión a los metales.
Tiobacillus sp. T.thiooxidans T. ferrooxidans T.intermedius T. novellus	Se les conoce por ser los productores principales de ácido sulfúrico a través de sus mecanismos de reducción de azufre
Nitrosomonas (Nitrosovibrio)	Se les conoce por ser la principales productoras de ácido nítrico.
Pseudomonas sp.	Desarrolla biofilms en superficies de acero inoxidable
Pseudoalteromonas atlantica	Tiene influencia en la corrosión del cobre

- Se obtuvieron de las referencias R,S y T.

BIBLIOGRAFÍA

- A** Detection of specific bacteria on stone using an enzyme-linked immunosorbent assay
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 155-167
S. Tayler and E. May
- B** Excretion of Organic Acids by Fungal Strains Isolated from decayed Sandstone
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 34, Issue 2, 1994, Pages 169-180
S. Tayler and E. May
- C** Algae and bacteria on historic monuments at Alcala de Henares, Spain
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 241-246
M. Flores, J. Lorenzo and G. Gómez-Alarcón
- D** Biodecay of cultural heritage as a space/time-related ecological situation an evaluation of a series of studies
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 261-270
Th. Dornieden, A. A. Gorbushina and W. E.
- E** Trevi Fountain: An evaluation of inhibition effect of water-repellents on cyanobacteria and algae
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 247-253
M. P. Nugari and A. M. Pietrini
- F** Lichens and higher plants on stone: a review
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 51, Issue 1, January 2003, Pages 1-17
Marcello Lisci, Michela Monte and Ettore Pacini
- G** Study of the biogenic weathering of calcareous litharenite stones caused by lichen and endolithic microorganisms
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 42, Issue 1, 1 July 1998, Pages 29-38
C. Ascaso, J. Wierzchos and R. Castello
- H** Calcium uptake in mosses and its role in stone biodeterioration
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 201-204
Antonella Altieri and Sandra Ricci
- I** Biodeterioration vs biodegradation: the role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 40, Issues 2-4, 1997, Pages 225-232
C. Saiz-Jimenez
- J** Influence of atmospheric pollutants on the biodeterioration of stone
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 45, Issues 1-2, 1 January 2000, Pages 35-42
E. Zanardini, P. Abbruscato, N. Ghedini, M. Realini and C. Sorlini
- K** Biodiversity of photosynthetic micro-organisms dwelling on stone monuments
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 3, October 2000, Pages 251-258
Luisa Tomaselli, Gioia Lamenti, Marco Bosco and Piero Tiano

- L** Enhancement of physical weathering of building stones by microbial populations
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 305-317
Sophia Papida, William Murphy and Eric May
- M** Investigations of the localisation of bacterial activity on sandstone from ancient monuments
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 327-333
Sally Tayler and Eric May
- N** Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 335-341
H. A. Videla, P. S. Guiamet and S. Gomez de Saravia
- O** Biodeterioration of stone: a review
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 46, Issue 4, December 2000, Pages 343-368
Th. Warscheid and J. Braams
- P** Lichens and higher plants on stone: a review
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 51, Issue 1, January 2003, Pages 1-17
Marcello Lischi, Michela Monte and Ettore Pacini
- Q** A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 55, Issue 2, March 2005, Pages 131-139
Christine C. Gaylarde and Peter M. Gaylard
- R** Biofilms in biodeterioration - a review
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 34, Issue 3-4, 1994, Pages 203-221
L.H.G. Morton and S.B. Surman
- S** Microbial mechanisms of deterioration of organic substrates - A general mechanistic overview
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 40, Issue 2-4, 1997, Pages 183-190
Wolfgang Sand
- T** Corrosion of technical materials in the presence of biofilms - current understanding and state-of-the-art methods of study
International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 53, Issue 3, April 2004, Pages 177-183
Iwona B. Beech