



## ESTUDIO DEL ESTADO DE BIODETERIORO DE ELEMENTOS PATRIMONIALES DE MADERA MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA

### STUDY OF WOODEN HERITAGE ASSETS BIODETERIORATION STATE BY MICROSCOPY OPTICS

Alfieri, Paula V. <sup>(1)\*</sup>; Alves, Daniel <sup>(2)</sup>; Traversa, Luis P. <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Dra. Investigadora Adjunta CIC. LEMIT. La Plata, Argentina

<sup>(2)</sup> Técnico, LEMIT. La Plata, Argentina

<sup>(3)</sup> Investigador Emérito CIC, LEMIT. La Plata, Argentina

\* Contacto: [paulaalfieri@gmail.com](mailto:paulaalfieri@gmail.com)

CÓDIGO: 4609785

#### Resumen

Se desarrolló una técnica de preparación de cortes delgados que permita plasmar sin modificaciones del material deteriorándose. Este estudio permitirá no solo saber cómo se está degradando el material sino también permitirá generar nuevas técnicas de protección y conservación del mismo.

El estudio del biodeterioro de bienes patrimoniales de madera es de suma importancia para evitar la pérdida completa del mismo. Este proceso es muy complejo y depende de variados factores: cada organismo particular, la interacción con otros organismos que están degradando contemporáneamente, el material, el estado del mismo, la humedad relativa, porosidad, entorno donde se encuentra el material, entre tanto factores más. Por lo tanto, podemos decir que cada material con un proceso de biodegradación es un ecosistema diferente. Es por ello, que el objetivo de este trabajo es el estudio por imágenes de microscopía óptica del mecanismo físico de la degradación. Para esto se desarrolló una técnica de preparación de cortes delgados que permita plasmar sin modificaciones la madera deteriorándose. Este estudio permitirá no solo saber cómo se está degradando el material ya que permite obtener la mejor calidad de imagen en el microscopio óptico sin modificar la estructura molecular del material ni del organismo sino también permitirá generar nuevas técnicas de protección y conservación del mismo.

*Palabras-clave: biodeterioro-maderas- patrimonio-microscopía.*

#### Abstract

A technique for the preparation of ultrathin cuts was developed, which allows the study of the wood biodeterioration process. This study will allow not only knowing how the material is degraded nonetheless also to generate new protection and conservation techniques.

The study of wooden heritage assets biodeterioration is one of utmost importance to avoid the complete loss of it. This process is very complex and depends on several factors: each particular organism, the interaction with other organisms that are degrading at the same time, the material, the state of the same, the relative humidity, porosity, environment where the material found, among other factors. Therefore, we can say that each material with a biodegradation process is a different ecosystem. That is why; the objective of this paper was the study by optical microscopy images of the physical mechanism of biodegradation. For this, a technique of preparation of ultra-thin cuts was developed to allow reflecting the wood decay without any modification in process. This study will allow not only knowing how the material is degraded since it allows obtaining the best image quality in the optical microscope without modifying the molecular structure of the material or the organism. It also will allow generating new techniques of protection and conservation of the same.

*Keywords: biodeterioration-wood-heritage- microscopy.*



## 1. INTRODUCCIÓN

El estudio del biodeterioro de materiales es de suma importancia para evitar la pérdida completa del mismo. Este proceso es muy complejo y depende de variados factores: cada organismo particular, la interacción con otros organismos que están degradando contemporáneamente, el material, el estado del mismo, la humedad relativa, porosidad, entorno donde se encuentra el material, entre tanto factores más. Por lo tanto, podemos decir que cada material con un proceso de biodegradación es un ecosistema diferente. Es por ello, que el objetivo de este trabajo es el estudio por imágenes de microscopía óptica del mecanismo físico de la degradación. Para esto se desarrolló una técnica de preparación de cortes delgados que permita plasmar sin modificaciones el material deteriorándose.

Este estudio permitirá no solo saber cómo se está degradando el material sino también permitirá generar nuevas técnicas de protección y conservación del mismo.

La técnica tiene como objetivo en la realización de un corte delgado para obtener la mejor calidad de imagen en el microscopio óptico sin modificar la estructura molecular del material ni del organismo.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

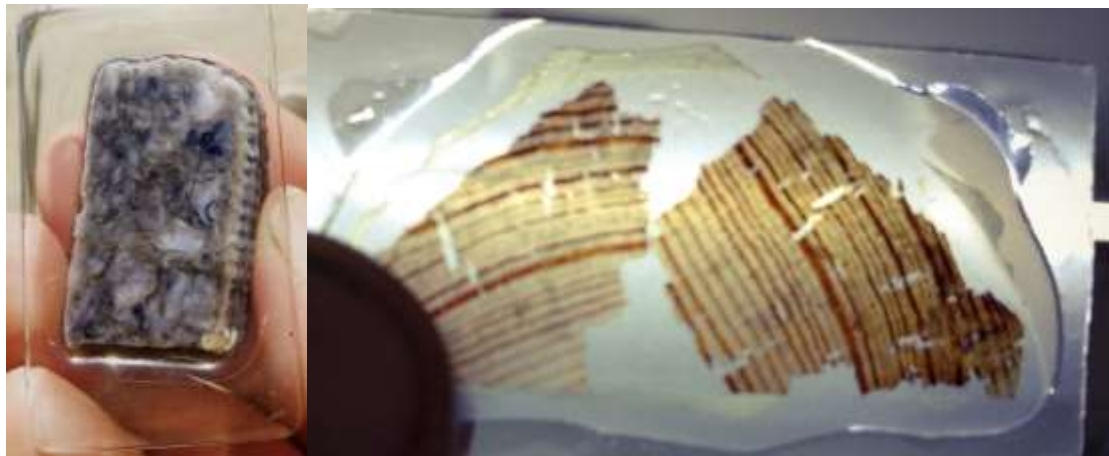
En este estudio se utilizaron muestras de madera, mampostería y recubrimiento protectores. Para todos se pudo implementar el mismo proceso de preparación de muestra, siendo esto relevante, ya que, es una técnica de fácil aplicación para cualquier tipo de material y además, el tamaño de muestra necesario es mínimo, por lo que la hace una técnica muy atractiva para el estudio de biodeterioro de bienes patrimoniales.

Sintéticamente el proceso de preparación de la muestra está conformado por las siguientes etapas (Humphries, 1992):

- Secado
- Impregnación (estabilización)
- Desbaste y pulido (I)
- Pegado en portaobjetos
- Desbaste y pulido (II)
- Pegado de cubreobjetos

El proceso de preparación de la muestra se inicia con un secado en estufa a 80 °C del material durante 24 h, con el fin de obtener una humedad relativa del material que se encuentre entre 5 y 10%. Ya con la muestra seca, se continúa con la impregnación con resina epoxi mediante aplicación de vacío (tamaño mínimo 1 mm<sup>2</sup>).

La resina es vertida sobre la muestra en condiciones de alto vacío (15 µHg). Este paso es el que preserva el estado original de la muestra y le da la estabilidad estructural necesaria para los pasos siguientes. El comportamiento mecánico es muy similar al de una roca de dureza media (5 en escala de mohs) (Figura 1).



*Figura 1. Estado de la muestra posterior a la impregnación al vacío con resina epoxi. El comportamiento mecánico de la misma queda muy similar al de una roca de dureza media.*

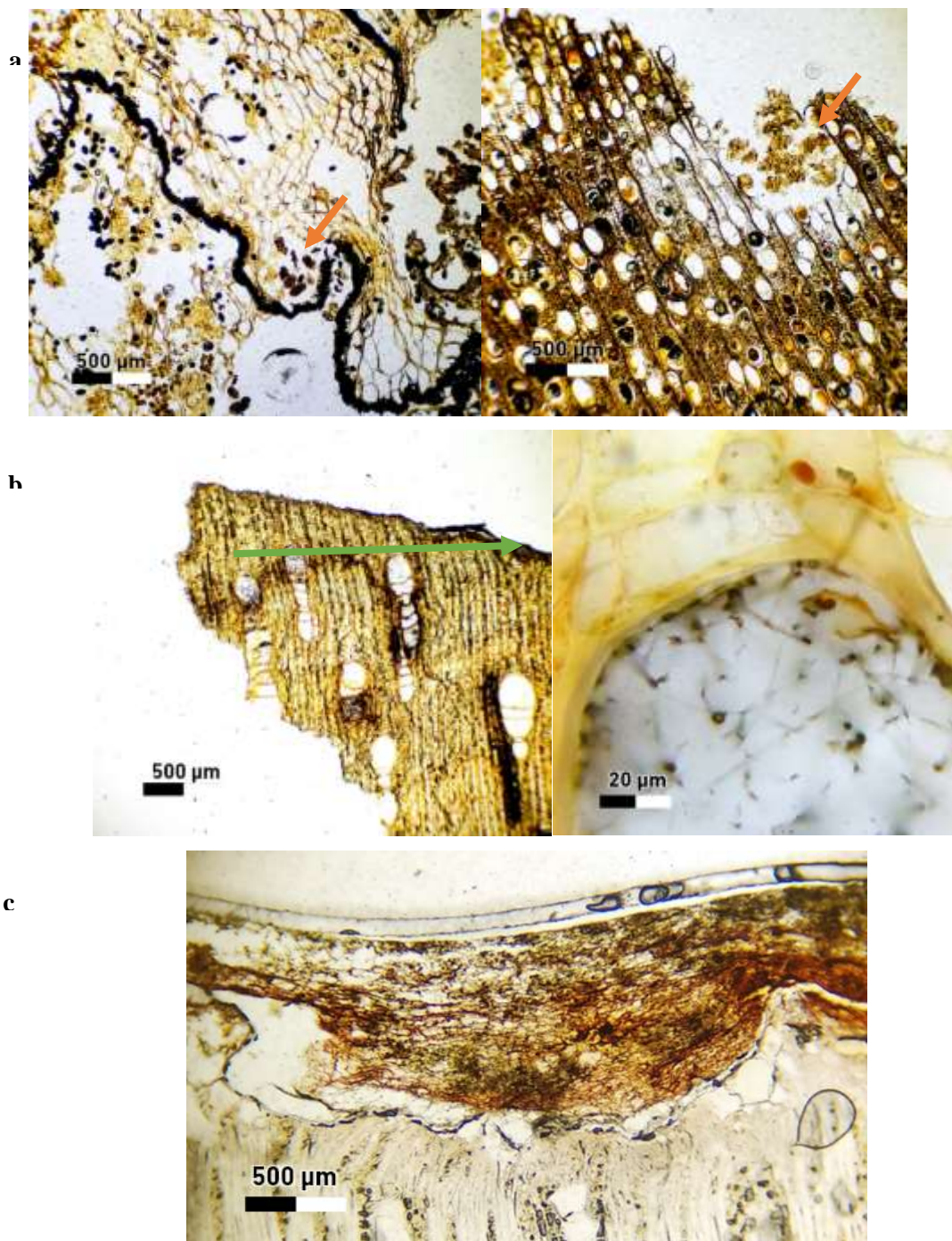
Luego, se somete a la muestra a sucesivos desbastes sobre disco rotativos de acero rectificadas. La primera etapa de desbaste es en húmedo, con el cual se busca obtener una superficie plana y pulida. Para ello se utilizan abrasivos de SiC (carburo de silicio) y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (alúmina) en diferentes granulometrías.

Finalizada la primera etapa de desbaste, se procede a pegar la muestra sobre un portaobjetos, y mediante una segunda etapa de desbaste del mismo modo que el antes citado, obteniendo se obtiene una lámina delgada de aproximadamente 15  $\mu$ m, espesor ideal para el análisis de materiales biológicos. Por último, se vuelve a secar la muestra pulida y se procede a pegar un cubreobjetos usando un pegamento de metacrilato con endurecimiento mediante luz ultravioleta. La elección de este pegamento en particular se basó en acortar los tiempos de realización del corte delgado ya que el procedimiento tiene muchas etapas y lleva varios días. Por otra parte, la experiencia en la manipulación del mismo influye en la duración del preparado. Realizada esta última etapa, la muestra ya está lista para ser observada al microscopio (Humphries, 1992).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta técnica desarrollada fue probada en una gran cantidad de materiales de diferente naturaleza, dando resultados exitosos en la estabilización estructural de los materiales así como también logrando una excelente la calidad óptica del corte delgado para su análisis microscópico (Lei, 2019).





*Figura 2. Maderas patrimoniales biodeterioradas: a) Madera del primer monumento Nacional, b) Madera de la casa de Benoit quien diseño la Ciudad de La Plata y c) Madera de la Estación de trenes Meridiano V de la Ciudad de La Plata*

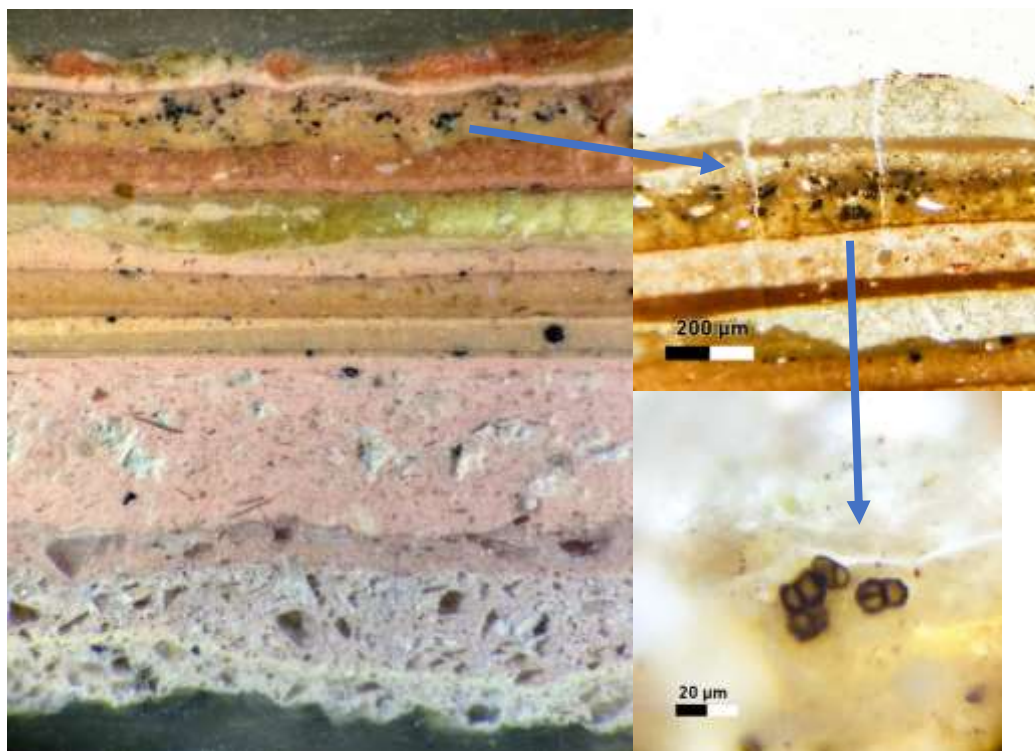


Figura 3. Mampostería y recubrimientos patrimoniales deteriorados: se puede observar claramente en que capa de recubrimiento se encuentran las estructuras fúngicas dando una indirecta idea de la composición carbónica de algunos componentes de esta.

En las Figuras 2 y 3 se muestran algunas muestras de diversos materiales obtenidos de diferentes bienes patrimoniales biodeteriorados estudiados por esta técnica. En la Figura 2 se observan diferentes maderas: en la Figura 2 a imagen se observa un corte de una viga de madera obtenido del centro de la pirámide de mayo, primer monumento nacional realizado en 1811 en homenaje a la Revolución de Mayo en su primer aniversario. Con esta imagen se pudo obtener la identificación de la especie de madera en cuestión (*Prosopis sp.*) y la identificación de algunos de los hongos xilófagos que estaban degradándola (*Oideodendron sp.*, *Aureobasidium pullulans*, *Pleruostomophora sp.*, y *Acremonium sp.*, entre otros).

En la Figura 2 b se observa una muestra de madera obtenida de una casa de madera utilizada por Pedro Benoit, quien diseñó la ciudad de La Plata. Esta fue declarada Monumento Histórico Provincial por la Ley 10.926 en 1990. Se trata de una de las pocas viviendas de la época fundacional, importada desde los Estados Unidos, que se mantienen en pie.

Con esto también se pudo identificar la madera (*Quercus sp.*) (Geoffrey, 2016) y el tipo de biodeterioro mediante el análisis de las estructuras reproductivas de los mismos (*Trichocladium sp.*, *Acremonium sp.*, entre otros) (Hiscox, 2018)

Por último, en la Figura 2 c, se observa la estructura fructífera de un hongo xilófago (*Chaetomium globosum*) encontrado sobre una lápida de madera (*Aspidosperma Quebracho Blanco*) situado en el cementerio de Algarrobo, Carlos Casares, provincia de Buenos Aires (Geoffrey, 2016; Hiscox, 2018). El cementerio de Algarrobos fue fundado





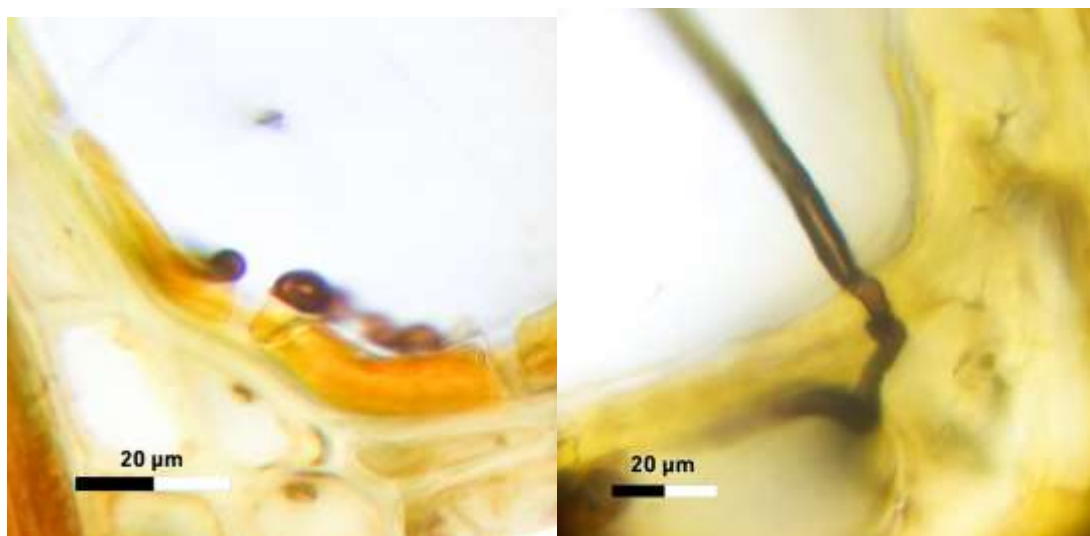
por la Asociación de Colonización Judía en 1891, y es un reflejo de un evento histórico importante: el establecimiento de los judíos en Argentina, que está vinculado a la inmigración judía masiva a Argentina, principalmente desde el Imperio ruso en el Finales del siglo XIX.

Por otro lado, en la Figura 3 se observa la mampostería y las capas de pinturas pertenecientes a un importante edificio gubernamental patrimonial de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. En esta se puede ver todas las intervenciones que se produjeron y como fueron cambiando los pigmentos y los espesores de pintura. Además, también se observó que capa de recubrimiento se está degradando y cual no, lo cual da indicios de que formulación tiene más contenido orgánico que otra, dado una datación aproximada e indirecta de cada formulación (Bing 2018).

En cuanto a los sistemas protectores, podemos observar también la interfase material-recubrimiento lo cual es de relevancia para el estudio de adhesión y compatibilidad del sistema.

Como se observa, esta técnica permite ver el estado de la paredes celulares, lo cual son indicadores del tipo de pudrición presente (blanca, parda o blanda) por lo que es un indicador más que se obtiene: se puede saber indirectamente el estado estructural de la misma, ya que según el tipo de pudrición que se observa es el polímero que se está degradando en mayor proporción, además de ser otro dato relevante para la identificación de las especies degradativas involucradas (Li, 2019).

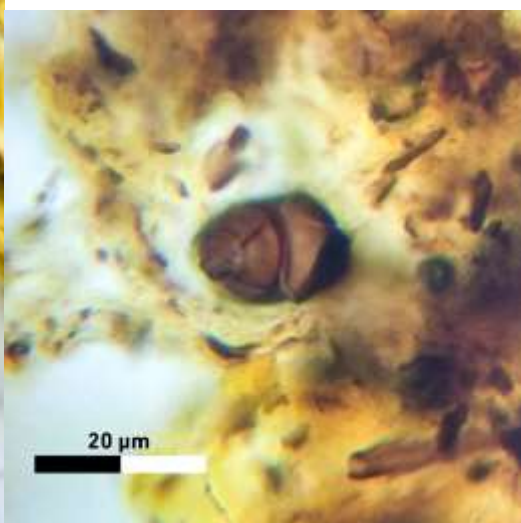
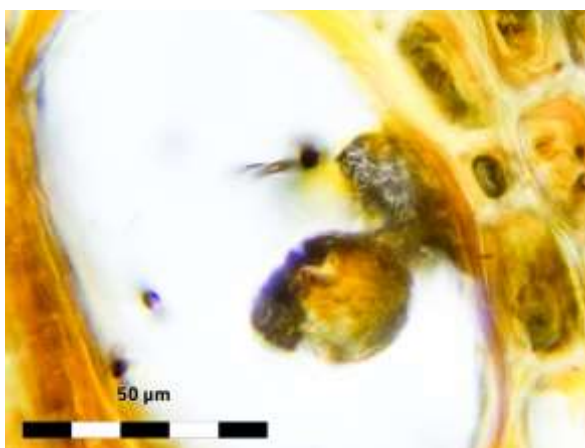
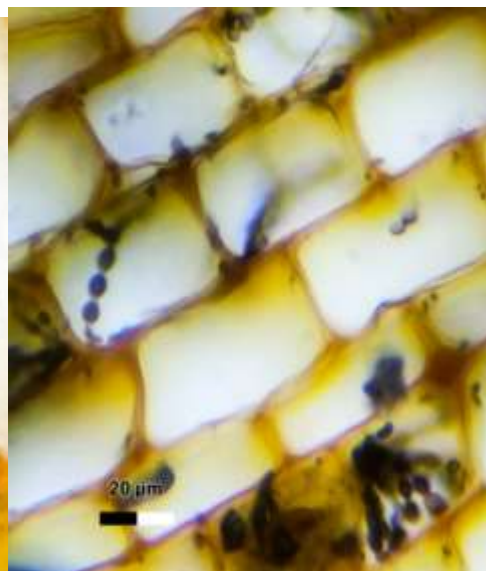
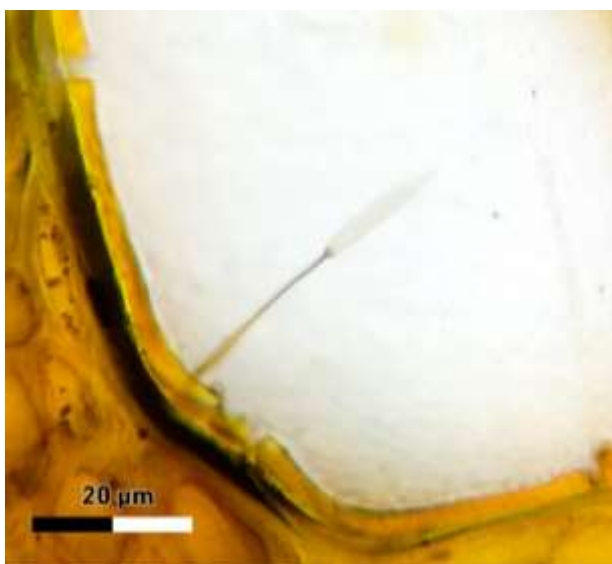
En cuanto a los mecanismos de acción, se observa como las hifas fúngicas penetran las células de la madera y se puede observar también como el depósito de las estructuras reproductivas, Figura 4. Esto permite corroborar por ejemplo el por qué los tratamientos de madera del tipo barrera (recubrimientos), no son eficientes (Loyd, 2018; Schwarze, 2007).



*Figura 4. Mecanismo de acción. Esta técnica permite ver en detalle la interacción organismo material. A la izquierda se observa como hay un canal abierto en la pared celular y el depósito*



*de los conidios en su entorno. A la derecha se puede observar como una hifa atraviesa el lumen celular de la madera sin modificar físicamente su estructura.*







*Figura 5. Conidiforos encontrados que permitieron identificar las diferentes especies mencionadas.*

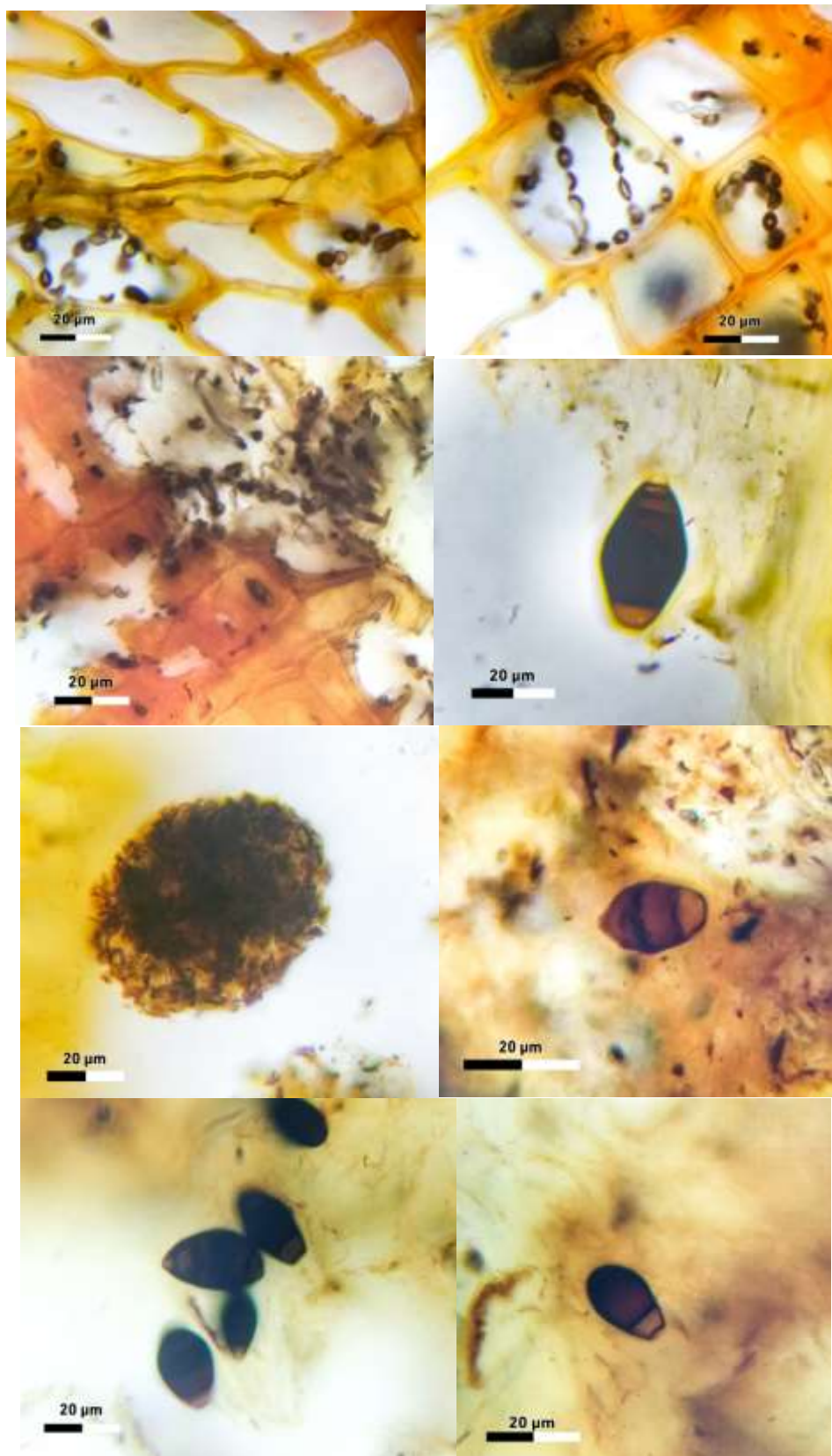






Figura 6. Algunos de los conidios encontrados que permitieron identificar las diferentes especies mencionadas.

Por último, la técnica permite obtener fotografías con una excelente definición en aumentos elevados (1500X), lo cual es importante a la hora de poder clasificar taxonómicamente a los agentes degradadores. Como se observa en la Figura 5 y 6, se puede obtener imágenes claras de las estructuras reproductivas (conidios y conidioforos) de los hongos xilófagos lo cual permite saber de que especie se trata y con ello, saber que enzimas están involucradas en el proceso degradativo y deteriorante, lo cual otorga datos de que polímero es el más atacado, lo cual también indirectamente da idea del estado estructural del mismo.

Es importante mencionar que estas muestras obtenidas también pueden ser utilizadas por otras técnicas como por ejemplo para hacer microscopía SEM o Espectroscopía de Infrarrojo.

#### 4. CONCLUSIONES

Se puede concluir entonces que esta técnica es de suma relevancia para el estudio de la degradación de materiales pertenecientes a bienes patrimoniales, ya que la información que esta revela es la necesaria para diagnosticar el estado de deterioro del bien con una mínima toma de muestra, teniendo en cuenta la ley de mínima intervención.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo realizado en el marco del Proyecto "Estado de conservación del patrimonio arquitectónico: Técnicas de reparación y promoción de posibles circuitos turísticos en localidades, pueblos y ciudades de la provincia de Buenos Aires" subvencionado por el CICPBA dentro del programa "Proyectos de Innovación y Transferencia en Áreas Prioritarias de la Provincia de Buenos Aires", resolución de directorio N° 428/16.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bing, D., Wang, Y., Bai, J., Du, R., Wu, G., Liu, L. (2018) Optical contrast for identifying the thickness of two-dimensional materials. *Optics Communications*, v. 406, pp. 128-138
- Geoffrey, D. (2016) *Microscope Techniques for Understanding Wood Cell Structure and Biodegradation*. Secondary Xylem Biology, pp. 309-343
- Hiscox, J., O'Leary, J. and Boddy, L. (2018) Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay. *Studies in Mycology*, v. 89, pp. 117-124



Humphries, D.W. (1992) The preparation of thin section rocks, minerals and ceramics. Royal Microscopy Society. Microscopy Handbooks, n.24, Oxford ; New York : Oxford University Press, p. 83.

Lei, J., Qu, J., Wang, P., Jiang, H., Shi, H., Sun, X. and Gao, B. (2019) A facile method for precise layer number identification of two-dimensional materials through optical images. Optics Communications, v. 440, p. 21-25

Li, Y., Kong, Y., Peng, J., Yu, C., Li, Z., L, P., Liu, P., Gao, C. and Wu, R. (2019) Rapid identification of two-dimensional materials via machine learning assisted optic microscopy. Journal of Materiomics, In Press, Corrected.

Loyd, A.L., Held, B.W., Linder, E.R., Smith, J.A. and Blanchette, R.A. (2018) Elucidating wood decomposition by four species of Ganoderma from the United States. Fungal Biology, v. 122, n. 4, pp. 254-263.

Schwarze, F. (2007) Wood decay under the microscope. Fungal Biology Reviews, v. 21, n. 4, p. 133-170