

EVALUACIÓN DEL EMPLEO DE BIOCIDAS NATURALES EN MEZCLAS ADHESIVAS DE BASE PROTEICA

Susana Martin-Rey, Yu Lee y Teresa Doménech-Carbó
Instituto Universitario de Restauración del Patrimonio de la Universitat Politècnica de València

AUTOR DE CONTACTO: Susana Martin-Rey, smartin1@crbc.upv.es

RESUMEN: *Los adhesivos naturales empleados en la consolidación de estratos pictóricos, son fácilmente deteriorados por microorganismos y bacterias debido a su composición orgánica. Las soluciones empleadas hasta el momento para su conservación, se fundamentan en la adición de un biocida, que otorgue mayor estabilidad a la mezcla, mejorando así su estabilidad física y química.*

Estos biocidas, habitualmente son agentes desinfectantes o pesticidas de amplio uso industrial, con graves problemas de toxicidad y peligrosidad para el usuario y su entorno. Progresivamente se han ido mejorando estas formulaciones, adaptándolas a los requerimientos exigidos en intervención del Patrimonio Cultural, pero sin detenerse en el riesgo que su empleo supone para el restaurador.

En este estudio, se valoran diferentes bactericidas naturales como alternativa a los materiales más tóxicos empleados actualmente, analizando el poder insecticida o fungistático de cada uno de ellos y su miscibilidad con consolidantes pictóricos de tipo proteico. Concretamente se ha desarrollado el análisis comparativo entre cinco biocidas (Extracto de equinácea, propóleo, esencia de citronella, esencia de ajo y esencia de alcanfor), adicionados a dos tipos de gelatinas animales. Se ha valorado su empleo para los trabajos de consolidación de las policromías sobre madera del Templo Longshan (Lukang, Taiwán), con problemas puntuales de desconsolidación en algunas zonas y en otros casos de cohesión entre sustratos. El objetivo principal se ha fundamentado en la obtención de mezclas adhesivas estables desde el punto de vista de la Conservación y Restauración de los Bienes Culturales, a la vez que atóxicas para el restaurador y el medioambiente

PALABRAS CLAVE: adhesivos, consolidación, biocidas, policromías sobre madera, *Templo Longshan*

1. INTRODUCCIÓN

El importante desarrollo industrial de los últimos siglos ha provocado impactos muy dañinos para el medio ambiente, agravando de forma preocupante el entorno del hombre y los seres vivos. La destrucción de la capa de ozono, la alteración de la biodiversidad y la peligrosa contaminación del aire, agua y suelo, ha inducido a riesgos saludables en el bienestar de la sociedad, por lo que día a día debemos preocuparnos por preservar nuestro entorno medioambiental.

Hasta hace unas décadas, se prefería el uso de adhesivos sintéticos por su estabilidad ante agentes patógenos, sin valorar el daño que éstos producían en el restaurador y su hábitat. Vistos los problemas de la salud que muchos de estos materiales han ocasionado, los restauradores se han ido posicionando de nuevo ante el empleo de sustancias naturales de tipo orgánico, aunque estabilizadas de forma habitual mediante plaguicidas tóxicos como conservantes de las mezclas adhesivas. Los desinfectantes empleados inicialmente eran pesticidas de uso industrial, hasta que de forma progresiva se fueron reformulando para ser adaptados en su empleo en la Conservación y Restauración de obras artísticas.

En su mayoría, los conservantes empleados por los restauradores han sido siempre de efecto tóxico, provocando graves riesgos de tipo cancerígeno. Se ha tratado en su mayoría de plaguicidas de uso no agrícola, cuya mezcla de sustancias que los componen, pueden provocar diferentes efectos adversos en la salud de los seres vivos. No debe obviarse, que en su diseño se persigue su potencia y resistencia ante virus y bacterias, lo cual les otorga grandes proporciones de peligrosidad para el hombre y el medio ambiente. Los más empleados han sido compuestos químicos de tipo organometálico, fenoles, derivados de amonio cuaternario y grupos nitrogenados.

Como puede imaginarse, la salud y la seguridad del restaurador, se ha visto seriamente afectada por la toxicidad de este tipo de materiales. La exposición prolongada a los vapores nocivos emitidos por estas primeras sustancias conservantes (y también por las empleadas en la actualidad), no es una excepción. Este es el motivo por el desde 2006 se están desarrollando diferentes estudios desde proyectos y líneas de investigación en el área de intervención de Pintura de Caballete del Instituto Universitario de Restauración del Patrimonio (IRP) de la Universidad Politécnica de Valencia. Estos trabajos permiten ya hoy, evaluar, controlar y erradicar parámetros de toxicidad en diferentes procesos restaurativos, que hasta el momento llevan implícito el empleo en mayor o menor medida de materiales muy nocivos para la salud del restaurador.

Mediante la línea de investigación del IRP, *Estudio de alternativas no carcinógenas en tratamientos restaurativos en pintura de caballete*, se evalúan diferentes opciones de baja toxicidad tanto en materia de disolventes, adhesivos y biocidas, que permitan el trabajo seguro del restaurador, minimizando los riesgos provocados por la emisión de vapores dañinos en su entorno laboral y medioambiental.

Somos conscientes de que la erradicación de biocidas tóxicos a favor de otros inocuos, debe ser impulsada y promovida por los restauradores, quienes juegan un papel fundamental en la eliminación de estas sustancias, si bien este esfuerzo no será efectivo si no está apoyado por la empresa o los responsables del centro de trabajo. En primer lugar, este cambio a favor de materiales más inocuos debe producirse por nuestra propia seguridad y salud, y en segundo lugar, no debe pasarse por alto que los restauradores tenemos la posibilidad de participar de forma activa en los intereses más importantes del conjunto de la sociedad, en cuanto a la sostenibilidad y reducción de residuos peligrosos se refiere.

2. LOS BIOCIDAS Y EL MARCO LEGAL ACTUAL

La Legislación Europea supervisa el empleo de sustancias conservantes tóxicas mediante diferentes códigos y normativas, destacando entre ellos la *DIRECTIVA 98/8/EC* del Parlamento y Consejo Europeo del 16 de Febrero de 1998, valorando la necesidad del control de organismos perjudiciales para la salud del hombre y de los animales, pero analizando el riesgo que estos conservantes pueden implicar en los seres vivos y su medio ambiente. Se evaluaban sus propiedades específicas y su forma de empleo. Posteriormente, esta normativa se revisó y mejoró mediante el *REGLAMENTO CE N° 1896/2000* (Comisión de 7 de Septiembre de 2000), relativo a la primera fase del Programa sobre comercialización de biocidas, (apartado 2 del artículo 16 de la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre biocidas).

En la actualidad, en España se regula el proceso de registro y marketing de biocidas, mediante el *REAL DECRETO 1054/2002 de 11 de octubre* (BOE de 15 de octubre de 2002), donde se especifican de forma detallada los conservantes autorizados en nuestro país. También se determinan las condiciones de su empleo, composición interna, etc, no estando autorizada la comercialización o empleo en el ámbito español de cualquier otro plaguicida de uso no agrícola que no se encuentre registrado en este documento.

Posteriormente, años después se incorporaron mejoras al Real Decreto anterior, mediante la *ORDEN PRE/1982/2007*, de 29 de junio, por la que se modifican los anexos IVA y IVB del Real Decreto 1054/2002 de 11 de octubre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas. De igual forma, se indica que siempre debe evitarse el empleo de conservantes peligrosos por otros de menor riesgo, y en el caso de no ser posible su sustitución, su empleo se realizará siguiendo de forma escrupulosa las normas de protección y seguridad de las personas involucradas en su uso.

3. BIOQUÍMICA Y MECANISMOS DE DETERIORO EN LOS COMPUESTOS PROTEICOS

Los procesos vitales por los que puede pasar un material de tipo orgánico, son muy numerosos e significativos, debido a la interacción de sustancias que proporcionan importantes reacciones coordinadas. En los materiales adhesivos de tipo proteico, será su carácter enzimático el que le determine su mayor o menor capacidad para llevar a cabo reacciones de tipo bioquímico en la mezcla adhesiva.

Compuestos endógenos o metabolitos

En los materiales de tipo orgánico se producen numerosas reacciones bioquímicas provocadas por el entorno que rodea al material y los diferentes compuestos endógenos o metabolitos (como bacterias y animales superiores), que al generar estas reacciones obtienen la energía necesaria para sus procesos vitales de supervivencia. Mediante estos procesos de síntesis se produce la biotransformación del material, modificando sustancialmente sus propiedades iniciales.

En las mezclas adhesivas de tipo proteico, básicamente hablaremos de microorganismos de tipo heterótrofo, que necesitan como medio de cultivo fuentes de carbono orgánico para su desarrollo. Los hongos serán descomponedores generales de este tipo de materiales, manteniendo relaciones simbióticas con otros organismos y parásitos, cuya alianza suponga un beneficio mutuo. Pero no puede obviarse su función como descomponedores de la materia, al cumplir así una labor ecológica de relevancia, garantizando el reciclaje de residuos orgánicos del ecosistema.

Los adhesivos de tipo proteico empleados habitualmente en consolidación de policromías en pintura de caballete, pueden manifestar frecuentemente ataques de *penicillium chrysogenum* y

aspergillus. De forma general en ambos casos se ocasiona una alta producción de enzimas degradadoras, y una fuerte acidificación del tejido en el que se asientan, derivado de la alta concentración de ácido glucónico.

Penicillium chrysogenum: Se trata de un tipo de hongo filamentosos que presenta ramificados finales con forma de botella. El aspecto de la colonia es blanco azulado o verde azulado, crecen pobremente por debajo de 37°C, teniendo como temperatura óptima de crecimiento los 23°C. En ocasiones presentan gotas de exudado sobre la superficie de la colonia y una esporulación abundante. Los ácaros *Siro* y *Tyrophagus putrescentiae*, mantienen una estrecha relación trófica con este tipo de hongos. Puede provocar riesgos tóxicos en humanos, al producir alergia en las vías respiratorias e irritación cutánea de la epidermis.

4. FISIOLÓGIA Y RIESGO TOXICOLÓGICO EN EL EMPLEO DE BIOCIDAS

Debe atenderse a la estructura y funcionamiento que permite el ingreso, transformación y excreción del tóxico en el organismo del individuo. Corrientemente las vías de acceso que tendrán los tóxicos emitidos por los biocidas, son los pulmones (mediante la respiración) y la epidermis (por contacto o impregnación de vapores nocivos).

Cuando la vía de acceso se encuentra en los pulmones, bronquios y bronquiolos, éstos se encargan de mover el aire hacia dentro y fuera, produciéndose una absorción de los gases existentes en los vapores de los líquidos (como ocurre con el empleo de sustancias como por ejemplo benceno, tetracloruro de carbono, fenol...), de ahí la necesidad de erradicar el empleo de este tipo de productos.

Serán el hígado y los riñones, los órganos del cuerpo más involucrados en la transformación y expulsión de nuestro organismo de este tipo de agentes deletéreos. El hígado estará directamente implicado en la metabolización de estas sustancias para evitar su toxicidad, transformándolas en metabolitos hidrosolubles expulsados mediante la orina (transportada por la circulación sanguínea hacia los riñones y la vejiga urinaria) o las heces (secretada por medio de la bilis hacia el intestino grueso).

Al tratarse de entorno laboral, debe tenerse en cuenta que el tipo de exposición al que se somete el individuo es el enmarcado dentro del grupo de tipo crónico (exposición entre un 10 y un 100% del periodo de su vida), al desarrollarse a lo largo de toda su trayectoria profesional, por lo que la erradicación de biocidas tóxicos debe ser un factor esencial.

De igual forma, debe resaltarse que cada individuo tiene una estabilidad genética distinta ante la misma exposición y absorción de sustancias nocivas, de tal forma que no puede generalizarse la capacidad de reacción de cada uno de nosotros ante un mismo riesgo tóxico, mostrando respuestas biológicas muy diferentes. Hay estudios que han verificado como en algunos casos, ante exposiciones iguales se han observado respuestas idénticas, pero en otros casos no. Por lo que será la diferencia metabólica de cada organismo, la que determine su mayor o menor tenacidad ante un agente tóxico.

Actualmente se desarrollan las denominadas áreas de Restauración Ambiental (ERLB), que tienen como fin reducir y/o eliminar los riesgos existentes para la salud humana y su medioambiente.

5. MATERIALES TESTADOS

Conservantes analizados

La aplicación de biocidas de origen natural a partir de extractos vegetales, surge en este estudio como alternativa saludable para el control del deterioro microbiano en las mezclas adhesivas de tipo orgánico, con el fin de prolongar su estabilidad y comportamiento

futuro. Estos materiales 100% naturales, aventajan a los elaborados en laboratorio en importantes aspectos: son totalmente respetuosos con el medioambiente, son fácilmente accesibles y de bajo coste, y no resultan peligrosos por acumulación. De forma general no presentan efectos secundarios, ni reacciones alérgicas en nuestro organismo, si bien en determinados individuos pueden provocar leves reacciones alérgicas en la epidermis.

Mediante estas sustancias se ha perseguido el control preventivo sobre los hongos, microbios y bacterias que puedan destruir o alterar las propiedades iniciales de las mezclas adhesivas empleadas en la consolidación de policromías al aceite. Los requerimientos fundamentales exigidos fueron los siguientes:

- Nula toxicidad y estabilidad ante la actividad antimicrobiana.
- Homogeneidad y buena capacidad de miscibilidad con los materiales adhesivos consolidantes.
- Estabilidad colorimétrica y físico-mecánica.

Se valoró el grado de actuación de un grupo de cinco biocidas naturales (*Esencia de alcanfor, esencia de citronella, esencia de ajo, extracto de equinácea y propóleo*), su nivel de inhibición, la capacidad de disuasión ante microorganismos y la conservación de las mezclas adhesivas.

Las esencias testadas o aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles producto del metabolismo secundario de las plantas. Las esencias son más o menos complejas en función a la porción de hidrocarburos de serie polimetilénica que presenten. Se les denomina aceites por su apariencia física y consistencia (muy semejante a los aceites grasos), pero se distinguen de ellos al tener una alta capacidad volátil y evaporarse sin dejar huella ni marcas grasas en la superficie donde se depositen.

A continuación se detalla formalmente cada uno de los insecticidas analizados y sus principales compuestos:

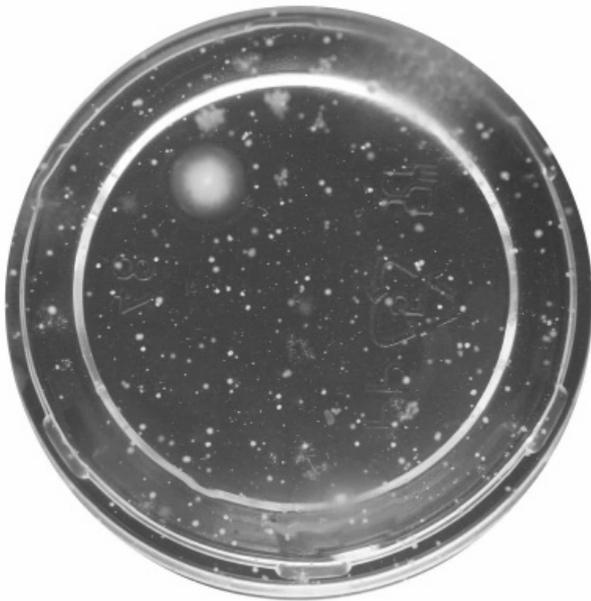


Figura 1. Espécimen IØ (2g cola de pescado en 20ml H₂O 48H HR 87% T° 27,5°C)

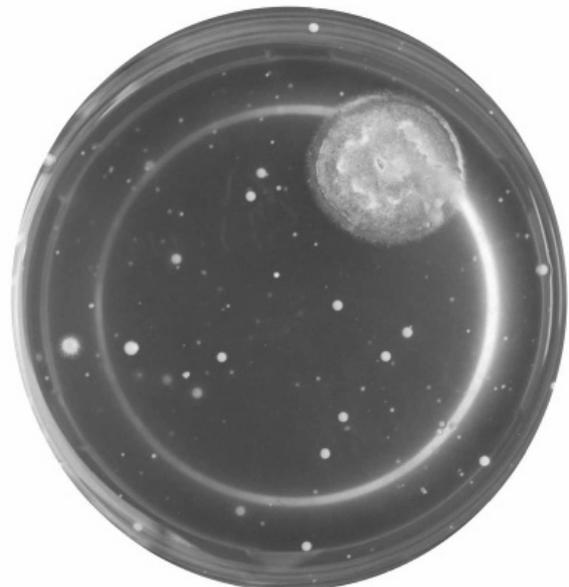


Figura 2. Espécimen IE (2g cola de pescado en 20ml H₂O + 1ml Equinácea . 48H HR 87% T° 27,5°C)



Figura 3. Espécimen IIØ (2g gelatina técnica en 20ml H₂O 48H HR87% T° 27,5°C)



Imagen4. Espécimen IIE (2g Gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Equinácea . 48H HR 87% T° 27,5°C)

Esencia de alcanfor: Se trata de un terpenoide sólido, cristalino y volátil procedente de la madera del árbol alcanforero (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) y otras plantas lauráceas. La química del alcanfor es muy compleja, siendo empleado con asiduidad como antimicrobiano y agente balsámico anestésico leve. En 1980 la Agencia internacional de Alimentos y Medicamentos (FDA), alertó del peligro de su empleo en alimentación ya que su ingesta puede provocar hiperactividad neuro muscular. Sí que se ha seguido empleando en medicamentos de uso tópicos (como talcos), debido a sus buenas propiedades antisépticas.

Esencia de citronella (*Cymbopogon nardos*): Esta especie de la familia de las gramíneas se produce a partir de dos variedades. Una de ellas conocida como *lana batu*, suministra un aceite relativamente pobre en geraniol (55-65 %). La otra conocida es la variedad *maha pangiri*, de mejor calidad por su alto contenido en geraniol (hasta el 90 %). Los principales compuestos son el citronelal y el geraniol, l-limoneno, canfeno, dipenteno, citronelol, borneol, nerol, metileugenol, los cuales son utilizados en la preparación de insecticidas a base de aceites esenciales, o como aromatizante de algunos insecticidas empleados como repelentes de insectos para animales.

Esencia de ajo (*Allium cepa* Alliaceae): Para su obtención, se aísla al agente activo básico del ajo (la alliina), que cuando es liberada interactúa con una enzima llamada allinasa. De esta forma se genera la allicina, que es la sustancia que contiene el olor característico y penetrante del ajo. Otro principio activo en su composición es el *disulfuro de alipropilo*, que permite controlar las larvas de plagas de diferentes cultivos en agricultura. Se contabilizan hasta más de 20 componentes con propiedades antivirales y casi 40 componentes antibacterianos (Alicia, ajoeno, ácido cafeico, ácido ascórbico, ácido clorogénico, quercitina, etc.)

Extracto de equinácea (*Equinácea angustifolia*): El extracto se obtiene de las raíces de esta planta de la familia de las asteráceas (nativa de Norteamérica), con un fuerte componente tóxico con funciones disruptoras y repelentes en determinados insectos. Su rasgo principal radica en sus óptimas propiedades antimicrobianas contra bacterias, hongos y virus, configurando este material como una auténtica alternativa a los antibióticos químicos. Presenta en su composición un aceite esencial que supone el 1,5% del peso de la planta, compuesto principalmente por humuleno. También se



Figura 5 Espécimen IIA (2g gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Esencia de Alcanfor 288H)



Figura 6 Espécimen IIC (2g gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Esencia de Citronella 288H)

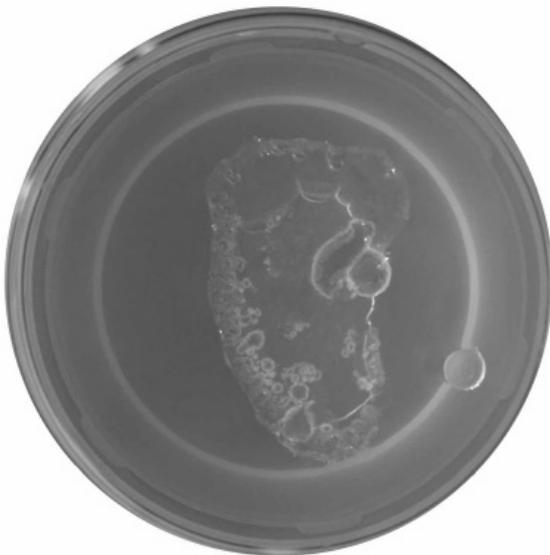


Figura 7 Espécimen IIAO (2g gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Esencia de Ajo 288H)

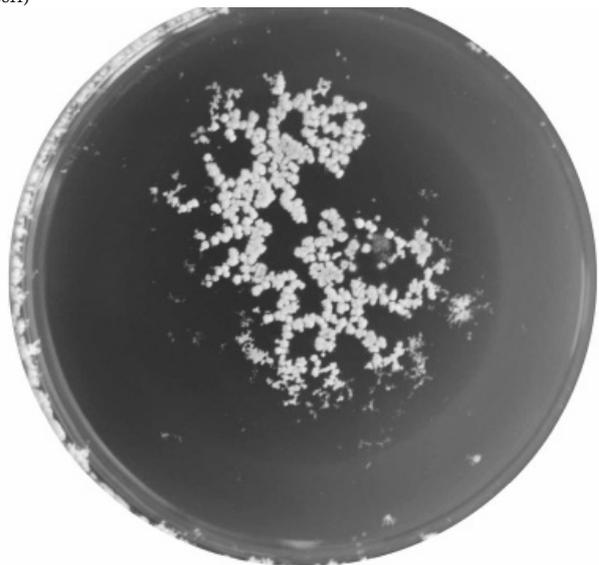


Figura 8 Espécimen IIE (2g gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Equinácea 288H)

encuentran polisacáridos de peso molecular elevado, compuestos fundamentalmente por ramosa, arabinosa, xilosa y galactosa, con un contenido fenólico total de 10.49 mg/g.

Propóleo (*Propolis*): Sustancia resinosa que se obtiene de las colmenas y productos de las abejas, proveniente principalmente de los brotes del álamo y de las coníferas. Está constatado su uso medicinal desde la época aristotélica, siendo usado ya entonces como medicina antiséptica para heridas y tumores. Es un buen agente antioxidante y biocida ante organismos unicelulares tipo fungi. Su composición química es compleja (con más de 250 elementos constitutivos), siendo rico en bioflavonoides, minerales, aminoácidos y aceites esenciales, pudiendo variar sustancialmente en función a la flora y clima de cada lugar.

Adhesivos naturales testados

En cuanto a las colas proteicas analizadas, se realizó un estudio comparativo entre colas de pescado y gelatinas animales, para valorar cuál de ellas mostraba una estabilidad mayor frente a microorganismos y bacterias. A la vez que una buena compatibilidad con los biocidas naturales testados.

En este estudio las dos colas analizadas son sustancias proteicas cuyo componente principal es el colágeno tipo I, de composición y estructura algo diferente, pero con tropocolágeno como asociación estructural básica común. Y con una red de proteínas fibrosas (colágeno y elastina principalmente) en un gel de polisacáridos hidratados. Cuentan en su composición con un 15% de agua, entre un 1-4% de sales inorgánicas y un pequeño porcentaje de grasa.

Es su estructura secundaria en triple hélice, el ensamblado de las unidades en fibras y su entrecruzamiento químico, lo que le confiere a este material óptimas propiedades adhesivas y de resistencia mecánica. Son capaces de formar soluciones coloidales acuosas de tipo reversible, lo que les hace muy óptimas en tratamientos fijativos del color en la Conservación de pinturas. Se trata de materiales muy estables frente la oxidación medioambiental, pero con gran sensibilidad a su deterioro por hongos y bacterias, en entornos medioambientales húmedos.



Figura 9 Espécimen IIP (2g gelatina técnica en 20ml H₂O + 1ml Propóleo 288H)

A continuación se describe someramente cada uno de los tipos de colas testadas:

Gelatina pura de pescado CTS®: Adhesivo proteico que proviene del lavado, desecado y cocción de capas internas de la vejiga natatoria y espinas de los peces. De adhesión moderada en comparación con otras colas de origen animal.

Gelatina técnica CTS®: Sustancia adhesiva de pura piel pulverizada, obtenida de tendones, huesos, cartílagos y láminas basales. Después de desengrasar los residuos, éstos se someten a una fuerte ebullición obteniendo así una cola de buena calidad, con propiedades muy adherentes, con un porcentaje muy reducido de residuos.

6. EXPERIMENTAL

Para conseguir un amplio espectro de identificación se realizó un estudio de la resistencia antibacteriana de los biocidas, utilizando la técnica del vertido en placa. Para ello se realizaron los vertidos de adhesivo por duplicado, con la adición o no de biocida. Se emplearon dos vertidos testigo sin fungicida (IØ, IIØ), para poder establecer relaciones entre los grados de deterioro observados.

Las muestras se introdujeron en una cámara de control climático, con condiciones ambientales constantes de humedad relativa de 85% ±5 y temperatura de 25°C ± 3, con una exposición total de 288 horas.

Durante el transcurso de polimerización del film, se fue analizando la infestación gradual de agentes contaminantes. De esta forma se pudo determinar la actividad antibacteriana concordante de los inhibidores, y su resistencia o sensibilidad frente a agentes bióticos de deterioro. Finalmente se cuantificó el ataque biológico obtenido, con el fin de fijar la efectividad de dichos extractos como antisépticos.

En la tabla adjunta se muestran las mezclas realizadas y el tipo de biocida empleado en cada caso:

TESTADO BIOCIDAS		
MEZCLAS REALIZADAS	GRUPO I Cola de Pescado (2g en 20ml H ₂ O)	GRUPO II Gelatina Técnica (2g en 20ml H ₂ O)
Sin fungicida	IØ	IIØ
<i>Esencia de Alcanfor</i> (1ml)	IA	IIA
<i>Esencia de Citronela</i> (1ml)	IC	IIC
<i>Esencia de ajo</i> (1ml)	IAO	IIAO
<i>Extracto de Equinácea</i> (1ml)	IE	IIE
<i>Propóleo</i> (1ml)	IP	IIP

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos, se tiene que el empleo de determinados biocidas naturales como agentes bactericidas en la formulación de films adhesivos consolidantes, puede ser considerado válido como alternativa de prevención de ataque biológico, frente a los conservantes patógenos empleados por los restauradores en la actualidad.

Cada uno de los biocidas testados ofrecen diferentes grados de resistencia, de esta forma el porcentaje de descomposición, en las muestras de cola de pescado (IE) es mayor que el de otros materiales, independientemente de la adición de un tipo de fungicida u otro. (Foto 1, 2) Las cepas de hongos aparecen en tiempos menores (48h), frente a adhesivos más resistentes al ataque fúngico como gelatina técnica (96h), con el mismo conservante (*Equinacea*) y tiempo de exposición. (Foto 3, 4)

De igual forma, se observó como cuatro de los films adhesivos testados, no manifestaron crecimiento de hongos transcurridas

las 288h del ensayo, permaneciendo totalmente estables ante el ataque biológico. Concretamente nos referimos a los especímenes IIA (Gelatina técnica + *Esencia de Alcanfor*), IIC (Gelatina técnica + *Esencia de Citronela*), IIAO (Gelatina técnica + *Esencia de ajo*), IIP (Gelatina técnica + *Propóleo*). (Foto 5 - 9)

7. CONCLUSIONES FINALES

- La peligrosidad de un tóxico es mayor si se repite de forma continuada, por lo que debe reducirse al máximo el periodo y frecuencia de exposición a agentes nocivos.

- La estructura genética de cada individuo será la que determine el tipo de respuesta metabólica y fisiológica ante idénticas exposiciones en ambientes tóxicos.

- Es necesaria la concienciación del restaurador para modificar el modelo actual de empleo de sustancias tóxicas, por otras más ambientalmente sanas y no dañinas que permitan revertir el riesgo actual existente en su salud laboral y medioambiental.

- Las ventajas inmediatas que se encuentran con el empleo de biocidas naturales son la reducción de los riesgos de salud laboral del restaurador, la correcta conservación de la obra artística, además de la erradicación de problemas para el medioambiente.

- Sea cual sea el método empleado, siempre debemos atenernos a que el empleo de cualquier sustancia biocida, plantea la existencia de beneficios y riesgos por mínimos que sean. Debemos siempre atenernos a la normativa recomendada para su uso y gestión de los residuos generados.

- Las muestras de cola de pescado y gelatina técnica (IE y IIE), con *Extracto de Equinácea* (1ml) como conservante, expuestas en la cámara de control climático, (constantes de humedad relativa de 85% \pm 5 y temperatura de 25°C \pm 3), mostraron ataque fúngico a partir de las 48h de exposición. Por lo que la propiedad como fungicida de este material no ha funcionado positivamente en estos films adhesivos.

- En general, puede decirse que los conservantes que mejores propiedades han aportado a los films adhesivos, han sido *Esencia de ajo* (1ml), *Esencia de Alcanfor* (1ml) y *Esencia de Citronela* (1ml). Apreciándose un mejor estado de conservación, debido por una parte a su poder bacteriano (ya comprobado en el campo de investigación medicinal y alimenticia). Y además reforzado por el aceite propio de los biocidas, que al tener menor densidad que el agua y actúa como aislante en el film.

- Se observa como beneficio general el empleo de *esencia de citronella* como mitigador de la contaminación por descomposición del film orgánico. No supone problemas conservativos para la policromía, ni para la salud del restaurador.

- Se continuará la investigación sobre los efectos de los extractos naturales como biocontroladores de las mezclas adhesivas. El desarrollo de estos estudios permitirá reducir en gran medida la peligrosidad en el entorno laboral del restaurador, y los niveles de contaminación en su ecosistema.

BIBLIOGRAFÍA

Seydim, A. C., Sarikus, G. (2006): "Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils", *Food Research International* **39**(5) 639-644.

Benkeblia, N. (2004): "Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*)", *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **37**(2) 263-268.

Carpinella, M.C., Defago, M.T., Valladares, G., and Palacios S.M. (2003): "Antifeedant and insecticide properties of a Limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**(2) 369-374.

Liu C.H., Mishra A.K., Tan R.X., Tang C., Yang H., Shen Y.F. (2006): "Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean", *Bioresource Technology* **97**(15) 1969-1973.

Duke, S.O. (1990): "Natural pesticides from plants". in *Advances in New Crops*, eds J. Janick, and J.E. Simon, Timber Press, Portland, USA, 511-517.

Evans, W.C. (1991): *Farmacognosia No. 45*, Editorial Interamericana, 692-714.

Freemark K., Boutin C., (1995): "Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: A review with special reference to North America Agriculture", *Ecosystems and environment* **52**(25) 67-91.

Jacobson, M. (1989): "Botanical Pesticides: Past, present and future", in *Insecticides of Plant origin*, eds. Arnason, J.T. Philogène, B.J.R. Morand, P. *ACS Symposium Series No. 387*, American Chemical Society, Washington D.C., 95-109.

Sforzin, J.M. (2007): "Propolis and the immune system: a review", *Journal of Ethnopharmacology* **113**(1) 1-14.

Menjivar, R. (consultado con fecha 26 march 2013): "Insecticidas naturales. Riesgos y Beneficios", www.elsalvador.com/hablemos/Ediciones/290701/actualidad.htm [5/5/004].

Tzortzakakis, N.G., Economakis, C.D. (2007): "Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens", *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**(2) 253 - 258.

Origin. Arnason, J. T.; Philogene, B. J. R. y Morand, P. *ACS Symposium Series*, 387. 1-10.

Arnason, J.T., Philogene, B.J.R. and Morand, P., (eds.) (1989): *Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series, No. 387*, American Chemical Society, Washington D.C., 1-10.

Rao, P.J, Maresh Kumar, K., Singh, S. and Subrahmanyam, S. (1999): "Effect of *Artemisia annua* oil on development and reproduction of *Discercus koenigii* F. (Hem., Pyrrhocoridae)", *Journal of Applied Entomology*, **5** 315-318.

Silva, G., Lagunes, A., Rodríguez, J.C., y Rodríguez, D. (2002): "Insecticidas vegetales; Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas", *Manejo Integrado de Plagas (CATIE)*, Northland press. Flagstaff. Arizona. USA, 241.

De Billerbeck, V.G., Roques, C.G., Bessière, J.M., Fonvieille, J.L. and Dargent, R. (2001): "Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*" *Canadian Journal of Microbiology* **47** 9-17.