

Biodeteriorament

ELIMINACIÓ DE TAQUES DE FONGS EN SUPORT DE PAPER



Autor/a: Mariona Calabuig Martínez

TREBALL FINAL DE GRAU

Grau de Conservació-Restauració de Béns Culturals

Tutora: Sonia Angeles Berrocal Seisdedos

Curs: 2018/19



Índex

1.	Resum	2
2.	Introducció	3
3.	Fongs.....	4
3.1	Fongs conidials	7
3.1.1	Cicle reproductiu dels fongs conidials	10
3.1.2	Factors que influencien la germinació	11
3.2	Composició i productes.....	12
3.2.1	Estructura de la paret cel·lular de les hifes	13
3.2.2	Productes metabòlics.....	14
4.	Taques de color	19
4.1	Identificació de colorants.....	23
4.1.1	Policètids	24
4.1.2	Carotenoides	27
5.	Tractaments.....	29
5.1	Mètodes d'alteració de taques.....	31
5.1.1	Blanquejants.....	31
5.2	Mètodes d'eliminació de taques.....	34
5.2.1	Làser.....	34
5.2.2	Eliminació electroquímica	37
5.2.3	Dissolvents orgànics.....	40
5.2.4	Solucions alcalines	42
5.2.5	Enzims	43
6.	Resultats i conclusions	45
7.	Glossari	50
8.	Bibliografia.....	52

1. Resum

L'atac biològic produït per microorganismes fúngics en suport de paper provoquen alteracions tant mecàniques com visuals. Aquesta segona és causada principalment per la deposició de metabòlits secundaris cromòfors entre les fibres del substrat. Els compostos, classificables en Policètids i Carotenoides, produeixen taques que romanen en el substrat tot hi haver estat eliminat l'organisme fúngic.

Tot i la reversibilitat d'aquests productes la seva eliminació és difícil i potencialment invasiva, raó per la qual només es considera el seu tractament en situacions extremes. Entre les intervencions utilitzades al llarg del temps es troben els mètodes d'alteració de les taques i els d'eliminació. Els primers consisteixen bàsicament en la modificació química del producte a través del blanqueig, mentre que els segons tenen l'objectiu de trencar enllaços químics per tal d'aconseguir la solubilització i/o extracció dels productes del substrat. El mètode d'alteració de taques comú és el blanqueig amb productes com el peròxid d'hidrogen, el borohidrur de sodi o el blanqueig per llum, aquests però no aconsegueixen l'eliminació de les taques que sovint acaben reapareixent. Entre els mètodes d'eliminació de taques s'han utilitzat popularment dissolvents orgànics o solucions alcalines. De manera més recent s'han realitzat proves amb diversos mètodes com el làser, els enzims o els circuits electroquímics, aquests últims a resultats prometedors.

Biodegradació | Metabòlits secundaris | Compostos cromòfors | Mètodes d'eliminació de taques fúngiques

Abstract

The biological attack produced by fungal microorganisms in paper support causes both mechanical and visual alterations. This visual alteration is caused mainly by the deposition of chromophore secondary metabolites between the fibres of the substrate. Said compounds can be classified in Polyketides and Carotenoids and produce spots which remain in the substrate after the fungal organism has been eliminated.

Despite the reversibility of these products, their elimination is difficult and potentially invasive, reason why their treatment is only considered in extreme situations. Among the interventions used over time two different methods can be found: alteration of the spots and those of elimination. The first ones basically consist on a colour modification of the product through bleaching, while the second ones aim to break chemical bonds in order to achieve solubilization and/or extraction. The common method for alteration of spots is bleaching using products such as hydrogen peroxide, sodium borohydride or bleaching by light, these tough do not remove the spots which often end up reappearing. Amongst the methods of fungal spot removal have been popularly used organic solvents or alkaline solutions. Over the past few years tough tests have been carried out with various methods such as laser, enzymes or electrochemical circuits, these last ones with promising results.

Biodegradation | Secondary metabolites | Chromophore compounds | Removal of fungal stains

2. Introducció

El biodeteriorament és un procés pràcticament inevitable en la trajectòria vital d'una obra orgànica. En especial el paper es veu greument afectat per aquest mecanisme de degradació. La naturalesa del substrat es presenta òptima per al creixement i desenvolupament dels milers de microorganismes.

Tot i els esforços de prevenció l'aparició de fongs és usual. Davant d'aquests escenaris s'han desenvolupat processos d'actuació que garanteixen la seva eliminació i aïllen el factor riscs per a la salut del conservador-restaurador. Un cop el cos visible és erradicat i l'estructura del suport estabilitzada en la mesura del possible, sovint queden taques en el substrat.

Un efecte secundari comú i no desitjat del creixement microbià a les superfícies és l'aparició de pigments no presents originàriament en el substrat. Per als organismes heteròtrofs, com ara els fongs, els pigments es sintetitzen com a resposta a l'estrès ambiental. Per exemple, la presència d'un d'aquests pigments, la melanina a la paret cel·lular, protegeix els seus components de la digestió enzimàtica.

Usualment degut a la dificultat d'eliminació que presenten, les taques produïdes per els fongs no són considerades un element primordial de preocupació. És freqüent trobar documents tractats amb taques fúngiques encara presents.

Donada la gran tipologia de fongs, la seva interacció amb els substrat i la gran variabilitat de taques que creen, els tractaments utilitzats no presenten un 100% d'efectivitat. Obviant mètodes de notable agressivitat per al substrat com són l'ús de blanquejants, làser, dissolvents orgànics o enzims, els mètodes més emprats han estat l'ús de dissolvents àlcalis i de manera innovadora l'eliminació electroquímica.

Així doncs, aquest treball pretén:

- Aprofundir en la morfologia, el funcionament i el desenvolupament dels microorganismes fúngics responsables d'atacs en suport de paper.
- Identificar els compostos cromòfors responsables de les taques, així com la seva causa, ubicació i eliminació.
- Navegar a través de la bibliografia a fi de determinar els mètodes emprats al llarg del temps en intervencions d'eliminació de taques fúngiques en suport de paper.
- Analitzar i comparar els pros i contres dels mètodes utilitzats per a l'eliminació d'aquestes taques.
- Considerar la validesa de la popular declaració: “*Les taques de fongs són irreversibles*” a través d'un anàlisi crític dels tractaments revisats i valorant la seva efectivitat.

A continuació queden reflectits els objectius tractats al llarg dels diferents apartats del treball, que finalitza amb un petit glossari per tal de contextualitzar l'especificitat de diversos termes emprats.

3. Fongs

Per a la transmissió del coneixement i la difusió de la informació s'han creat estandarditzacions i nomenclatures que cal conèixer. Els éssers vius s'agrupen i classifiquen segons similituds genètiques en set distincions diferents. Aquestes distincions (Regne, filum, classe, ordre, família, gènere i espècie) divideixen éssers permetent la demostració de l'evolució o jerarquitització d'una espècie.

Un espècie, doncs, consta d'un grup d'individus amb similituds genètiques i estructurals amb nom únic. El nom de l'espècie és una nomenclatura binominal llatina. El primer epítet és el nom genèric i el segon representa un grup particular en el gènere (Florian M.-L. E., 2004).

Actualment es reconeixen cinc regnes diferents: *Monera* -terme en desús en el qual s'engloben arqueobacteris i bacteris tant eucariotes com procariotes unicel·lulars-, *Protista* -que inclouen un grup divers d'organismes eucariotes amb o sense cloroplasts, com els ciliats, flagel·lats, microsporidis i tres filums de fongs flagel·lats-, *Plantae*, *Animalia* i *Eumicots*. Ambdós regnes *Protista* i *Eumicots* contenen espècies de fongs degut a que aquests es defineixen funcionalment o ecològicament però no filogenèticament (Florian M.-L. E., 2004).

Els Protists es diferencien dels fongs reals (*Eumicots*) pel fet de poder, o no, tenir hifes, de presentar un estadi flagel·lat d'una cèl·lula i espores i un estadi ameboide en els seu cicle vital. Per altra banda, no mantenen relació amb el deteriorament d'objectes de béns cultural o amb infestacions de superfícies per espores aèries.

Els fongs (*Eumicots*) són éssers eucariòtics caracteritzats pel fet de posseir parets cel·lulars de composició variable. Són organismes heteròtrofs, que no tenen plastis i que, per tant, no poden fer la fotosíntesi. És a dir que l'energia necessària per sobreviure la capten per oxidació de la matèria orgànica, com restes vegetals o animals en el cas dels fongs sapròfits, o d'organismes vius en el cas dels paràsits. Alguns obtenen aliment a partir d'altres organismes per mitjà d'una relació simbiòtica, com l'associació d'alguns fongs a certes arrels (micorrizes) o a algues (líquens) (Llimona, et al., 1991).

Hi ha espècies unicel·lulars tot i que la majoria són pluricel·lulars. Es caracteritzen per una obtenció de l'aliment similar a la dels bacteris heteròtrofs, per digestió externa. Aquesta consisteix en l'emissió d'enzims digestius fora del cos, amb una absorció posterior. Així es requereix d'un mínim d'aigua per que els enzims arribin, per difusió, fins al substrat alimentari i els digereixin. La digestió externa provoca l'obtenció de molècules més petites i solubles que són absorbides pel fong. Per aquest motiu els fongs cerquen un contacte màxim amb el substrat i tendeixen a augmentar la superfície d'intercanvi (Llimona, et al., 1991).

El regne *Eumicots* es pot subdividir en *Zygomycota* i *Dikarya* (Florian M.-L. E., 2004) -*figura 01*:-

Zygomycota | presenten reproducció sexual per fusió de cèl·lules somàtiques, hifes tubulars de paret prima cenocítiques (sense septes o divisions cel·lulars), requereixen

d'ambients humits saturats, presenten espores aèries i s'alimenten de sucres i midons, així que no ataquen materials proteics o cel·lulòsics.

Dikarya | Són de major importància en la conservació del patrimoni cultural. Presenten hifes estretes i septades, viuen en un ampli rang ecològic, presenten reproducció sexual per fusió de nuclis que té lloc en hifes específiques anomenades cèl·lules dicariòtiques i, tot i la seva nutrició heteròtrofa, amb una font de nitrogen són capaços d'utilitzar els seus aminoàcids per formar proteïnes. Dins d'aquesta subdivisió es diferencien els *Ascomicots* (principals productors de creixement vegetatiu en les superfícies del patrimoni cultural) i els *Basidiomicots* (principals atacants de la fusta).

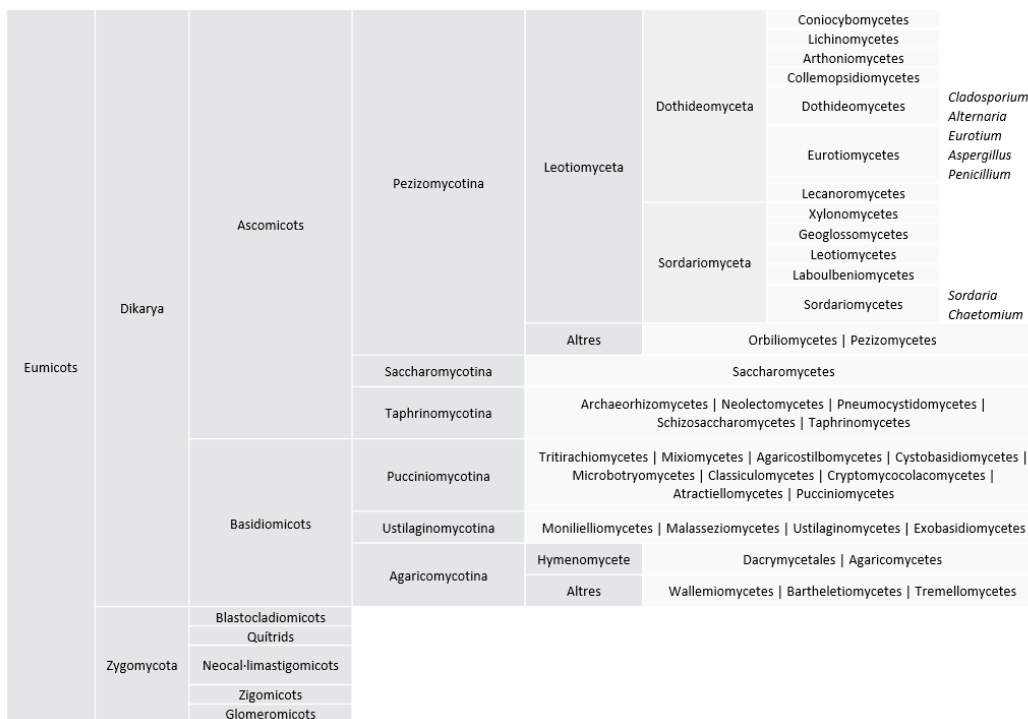


Figura 01 Esquema classificatòria dels fongs.

El grup transcendent en quant a infestacions del patrimoni gràfic són els Ascomicots. Aquest és divideix en 44 ordres separats segons el seu ascocarp, la seva morfologia i la seva biologia (Florian M.-L. E., 2004). En la *figura 02* es pot observar el percentatge dels principals gèneres de fongs reportats que causen taques en el paper. Entre aquests ordres els trobats en objectes culturals són 3:

Ordre *Dothideals* | L'ordre es caracteritza per una ascostroma immersa, eruptiva o superficial, uniloculada o multiloculada, amb o sense àpex papil·lar, ascòspores bitunicats i normalment ascòspores septades, simètriques o asimètriques longitudinalment, de vegades muriformes, hialines o pigmentades (Hyde, et al., 2013). Conté principalment

espècies sapròfites o paràsites de plantes. Entre les quals cal destacar les espècies *Cladosporium* i *Alternaria*. Aquesta última conforma el grup de contaminants aeris més comuns, multicel·lulars i de fàcil identificació (Florian M.-L. E., 2004).

Ordre Sordarial | Són un grup taxonòmicament divers que ha inclòs entre set i 14 famílies en els últims anys. L'ordre és un grup coherent amb morfologies que varien al llarg de línies ben definides, incloent-hi grans ascocarps amb parets de grans cel·les membranoses o coriàcies i ascòspores que mostren una variació en aspectes distintius de desenvolupament, sovint amb apèndixs o beines (Huhndorf, Miller, & Fernández, 2004). Conté com a espècies aïllades de béns les espècies *Sordaria* i *Chaetomium*. La primera creix en superfície i és teleomorf (produeix ascus que alliberen ascòspores), la segona present ascus deliqüescents (es dissolen en absorbir humitat de l'aire), les ascòspores formen pèls enrotllats en l'ascoma i poden danyar teixits i fibres de paper (Florian M.-L. E., 2004).

Ordre Eurotial | Aquest ordre consisteix en les famílies *Trichocomaceae* i *Elaphomycetaceae*. La majoria de les espècies que pertanyen a les Trichocomaceae són ascomicets filamentosos sapròfits, que a la natura creixen predominantment en el sòl o en material vegetal en descomposició. Les Elaphomycetaceae comporta una família de fongs subterranis, sapròfits o formadors de micorrizes. La família Trichocomaceae inclou els coneguts gèneres de *Penicillium* i *Aspergillus* (Battaglia, et al., 2011). Aquest ordre conté els fongs conidials anamòrfics més recurrents, com són les espècies *Eurotium*, *Penicillium* i *Aspergillus*, que conformen les floridures comunes, blaves i verdes, trobades en materials d'arxiu, i que produeixen conidis de forma massiva (Florian M.-L. E., 2004).

FONGS IDENTIFICATS

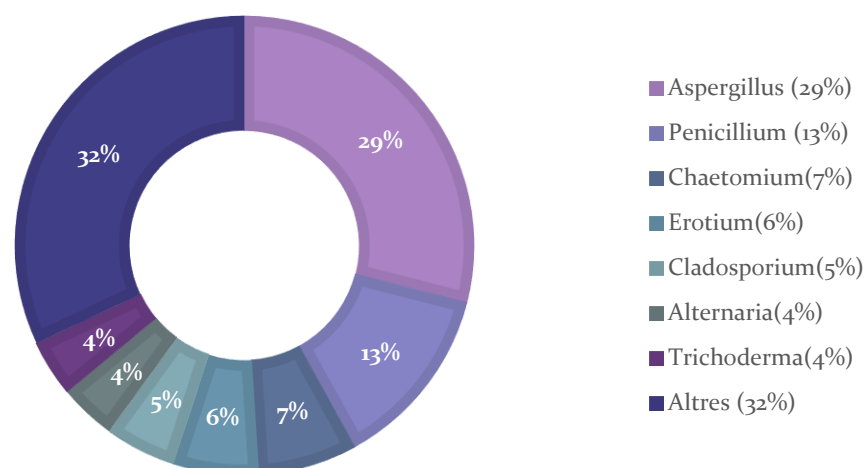


Figura 02 Gràfic amb els percentatges dels principals fongs, causants de taques en paper, reportats (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

Una de les distincions del regne *Eumicots* és la seva versatilitat reproductiva. El fongs tenen la capacitat de reproduir-se de manera sexual i asexual fet que els dona un cert avantatge adaptatiu al medi.

La reproducció sexual és un procés que es dona en escasses ocasions. No existeix diferència morfològica entre estructures o individus mascle i femella en la majoria de grups fúngics. La reproducció sexual es produeix per fusió de dos nuclis haploides (cariogàmia), seguit de la divisió meiòtica del nucli diploide. La unió de dos protoplasts hifals (plasmogàmia) pot comportar una cariogàmia immediata, o presentar un espai temporal entre els dos estadis (Cole, 1996).

La reproducció asexual en canvi, es produeix mitjançant la divisió dels nuclis a través de la mitosi. Amb l'absència de meiosi, altres mecanismes associats al cicle nuclear resulten en la recombinació de propietats hereditàries i de variació genètica (Cole, 1996). Pot presentar diverses formes:

- Partició del miceli.
- Divisió cel·lular per fongs unicel·lulars, ja sigui per fissió (divisió relativament simètrica d'una cèl·lula en dos) o per gemmació (divisió asimètrica en la que es produeix una cèl·lula filla més petita).
- Producció d'espores haploides en esporangis.
- Producció d'espores haploides en les puntes de les hifes (no contingudes en esporangis). Aquestes espores s'anomenen conidis (del grec *konis*, "pols").

Els fongs es desenvolupen formant colònies, constituïdes pel miceli o conjunt d'hifes, en el cas dels fongs miceliars, a partir de les quals es diferencien els conidiòfors i les cèl·lules conidiògenes. A partir d'aquestes s'originen les estructures de reproducció asexual denominades conidis (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006).

La forma circular dels fongs és deguda al creixement concèntric de les hifes des del l'espora germinant central o conidi. El creixement també té lloc en profunditat en el substrat. Les hifes es poden introduir en espais entre les fibres o per mitjà de secreció d'enzims que digereixen les substàncies amorfes entre fibres, o arribant a digerir les pròpies fibres creant perforacions (Florian M.-L. E., 2004).

3.1 FONGS CONIDIALS

La major part dels fongs que es desenvolupen sobre el patrimoni cultural material i produeixen floridures superficials són els anomenats fongs conidials (Florian, 1997). Reben aquest nom degut a la seva capacitat de producció de conidis aeris. Aquests, aixecats i desplaçats per corrents d'aire són dipositats sobre les superfícies on, en condicions favorables, inicien el seu creixement.

El cicle vital dels fongs de l'ordre *Eurotial* inicia amb un conidi que germina en la superfície, produeix un tub germinatiu que es desenvolupa en una hifa i que inicia un

creixement vegetatiu. El miceli produeix hifes que produeixen masses de conidis asexuals que esdevenen aeris. Els conidis es formen en la superfície del miceli i s'observen com a cercles acolorits pulverulents, aquesta coloració però no taca el substrat. Quan la superfície és seca es pot eliminar mecànicament (Florian M.-L. E., 2004).

Els fongs conidials engloben diverses espècies de fongs però totes presenten un estructura i composició similar del conidi -*figura 03*- (Florian, 1997):

- Presenta una estructura esfèrica d'uns 5-50mm de diàmetre.
- Es componen d'una única cèl·lula o d'un conjunt de cèl·lules de baixa activitat metabòlica.
- Presenten una funció reproductiva i de supervivència.
- Conformen la principal unitat de dispersió de les espores.
- El conidi té una paret cel·lular rígida i no viva que envolta la membrana i el citoplasma respectivament.
 - La paret cel·lular està formada per hidrats de carboni de glucosa i quitina. Aquesta última és hidrofòbica i dota a la cèl·lula de protecció contra agents químics i biològics de deterioració.
 - El citoplasma conté els orgànuls encarregats del funcionament metabòlic de la cèl·lula, conté la informació genètica (nucli), conté substàncies de reserva (lípidis, proteïnes i hidrats de carboni) i una solució d'aigua amb gran quantitat d'enzims.
- La cèl·lula té unes marques característiques que sovint són específiques a l'espècie que poden ser utilitzades per a la identificació del fong.

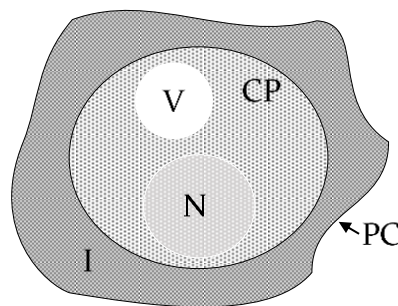


Figura 03 Esquema reproduït a partir de la imatge de micrografia de transmissió electrònica de creuament d'un conidi d'*Aspergillus niger*. PC =paret cel·lular, I =capa osmofílica interna de la paret cel·lular, CP =citoplasma, V =vacúol, N =nucli (Florian, 1997)

La quantitat d'aigua, esmentada amb anterioritat, present en els conidis en estat de latència varia segons l'espècie. Es diferencien els conidis amb baix contingut d'aigua en el aquesta representa entre un 6-25% del seu pes sec, i els d'alt contingut d'aigua equivalent a un 52-75% del seu pes sec. La quantitat d'aigua dotarà a l'espora de capacitat

de germinació amb ambients més hostils amb valors d'humitat relativa inferiors al 60% i reben el nom de xeròfiles (Arai, 1987) (Griffin, 1981).

Algunes floridures (masses de conidis) presenten coloració verda, negra o rosa. Aquestes però, no tenyeixen el substrat i per tant, quan la superfície seca i el fong entra en estat de latència poden ser enretirades mecànicament sense deixar taca.

El conidi presenta diverses etapes des de la deposició fins a la germinació -*figura 04*-.

Prèvia o posterior a la deposició té lloc la maduració. Consisteix en el desenvolupament intern necessari per esdevindrà morfològicament i fisiològicament complet, i inclou una deshidratació.

En aquest moment el conidi es troba en estat de latència, un estat caracteritzat per una baixa activitat metabòlica que es dona tot hi trobar-se en un ambient de condicions òptimes. Es tracta d'un estat reversible abans de que comenci el procés d'inflament de germinació. Els conidis en estat de latència poden sobreviure gelades, deshidratacions, temperatures extremes i canvis de pressió osmòtica. L'estat de latència pot ser causat per factors externs o interns (causada per inhibidors propis, per impermeabilitat de la paret cel·lular o per bloquejants metabòlics).

A continuació el conidi passa a la fase d'activació. Aquesta consta d'un tractament químic o físic (o d'ambdós) que provoca la sortida de l'estat de latència. No inicia el procés de germinació, el conidi no germina fins que no es troba en unes condicions ambientals òptimes ja que els conidis germinats són susceptibles a gelades o temperatures extremes.

I finalment la germinació. Es tracta d'un procés irreversible que provoca canvis morfològics com l'inflament del conidi, la formació d'hifes i esporangis i l'augment de l'activitat metabòlica (que provoca un augment del consum d'oxigen). Els nutrients exògens no són indispensables per a la germinació del conidi però si que ho són per al seu posterior creixement.

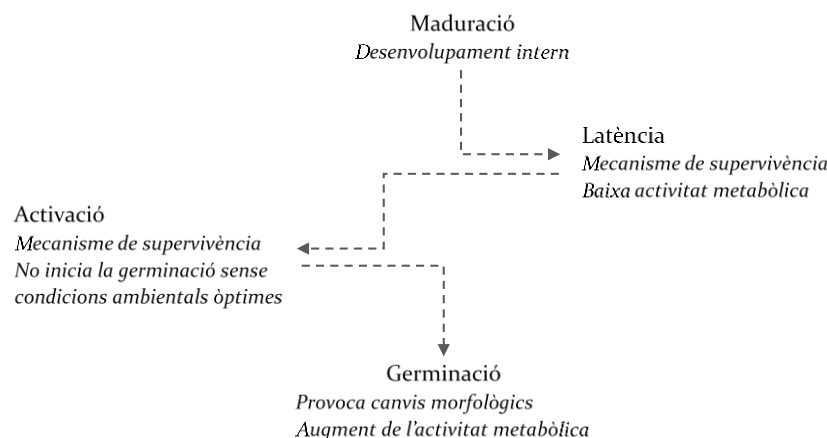


Figura 04 Esquema dels processos de desenvolupament del conidi

3.1.1 Cicle reproductiu dels fongs conidials

Els fongs conidials són organismes anamòrfics (asexuals) caracteritzats per la formació de conidis d'ús reproductiu -*figura 05*-. Dins d'aquest grup es troben principalment els ascomicets i certs basidiomicets, que també són capaços de produir conidis.

Tal i com s'ha esmentat en l'apartat anterior, s'anomenen així perquè el seu creixement s'inicia d'un conidi aeri -una espóra que es dispersa per l'aire i creix sobre les superfícies humides en les que és dipositada- i produeix un estat vegetatiu en el substrat en el que es desenvolupa. Els organismes derivats d'aquest tipus de reproducció són genèticament idèntiques.

Els fongs conidials però, també tenen una capacitat reproductora sexual -*figura 05*-, de la qual en fan ús únicament en condicions ambientals adverses. En aquests casos l'organisme produeix espores sexuals per mitjà de la fusió de cèl·lules que dota als descendents de diversitat genètica. Les espores en qüestió es formen al talús, rarament són aèries i prenen el nom del fong que les produeix: ascòspores, basidiòspores, etc.

El desenvolupament de l'organisme es dona en la superfície del miceli. En els fongs conidials les hifes tenen forma de fil (d'uns 5mm d'espessor aproximats), i són estructures multicel·lulars que creixen per allargament de la punta i que presenten abundant ramificació. El miceli, en canvis, pren una forma difusa formant una espècie de xarxa de feltre sobre el substrat. Apareixen en cercles d'aspecte polsós-esponjós sobre les superfícies d'objectes orgànics.

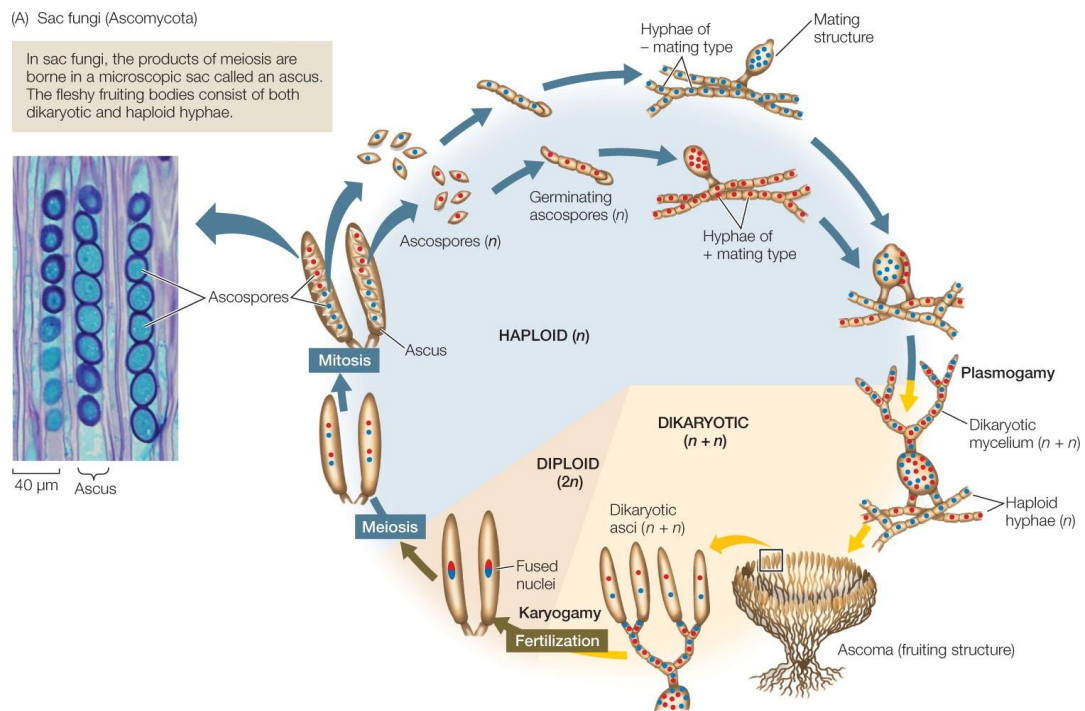


Figura 05 Esquema del cicle reproductiu asexual i sexual de fongs conidials. (A): Cicle reproductiu dels ascomicets. [imatge de (Macmillan Learning, 2018)]

La forma de creixement del fong, així com els efectes que provoca en el substrat, varia segons la tipologia de fong i de substrat. Es poden presentar tant en petits cercles com en grans extensions amb o sense aspecte cotonós, i poden provocar des d'un lleuger descoloriment a una total solubilització enzimàtica. Si el fong creix sobre la brutícia superficial a través d'una neteja mecànica es poden eliminar qualsevol indici de la seva presència, sense deixar residus. Si en canvi hi ha descoloriment, és signe de que el fong ha penetrat en el substrat en el que romanen restes de conidis, hifes pigmentades, escleroci o secrecions pigmentades -*apartat 2.1.3*- atrapades entre les fibres.

3.1.2 Factors que influeixen la germinació

A partir de diversos estudis realitzats al llarg del temps (Kowalik i Sadurska 1957, Florian i Dudley 1976, Gallo 1993 entre d'altres) s'ha pogut determinar l'existència d'una selectivitat de fongs per substrat, tot i que rarament una especificitat. És a dir, a través de la comparació de les espores aèries presents en l'aire i aquelles desenvolupades en papers i llibres, s'observa que els fongs presents en els substrats es troben en l'aire però en canvi, no tots els fongs presents en l'aire creixen en els materials. I a la vegada, un mateix paper pot ser atacat per gran diversitat de fongs de la mateixa manera que un fong pot atacar diverses tipologies de paper.

La contaminació dels substrats pot ser causada per dos fonts diferents: del propi material o d'agents externs. En el primer cas (escenari més escàs però possible), la infestació de fongs és produïda per el creixement de conidis presents en els productes de fabricació del paper o introduïts en el mateix a través de productes usats en tractaments de conservació-restauració. En el segon cas (d'ocurrència més usual), la infestació és produïda per la deposició de les espores aèries o per el contacte amb objectes contaminats (Florian, 1997).

L'origen d'infestació juntament amb el substrat en el que es troba i les condicions ambientals determinen la forma i creixement que pren el fong. El conidi està proveït amb els elements necessaris per germinar però necessita poder captar nutrients del medi per desenvolupar-se. Aquests són sucres simples, aminoàcids i àcids grassos que poden trobar-se lliures en el substrat formant part de cadenes complexes que els fongs són capaços de trencar enzimàticament (Florian, 1997).

Així, els factors que influeixen la germinació del conidi activat és la presència d'un ambient adequat. És a dir, valors d'aigua, temperatura, oxigen, pH, llum i nutrients necessaris per a la seva supervivència:

Necessiten uns valors d'humitat constant, menor però al dels bacteris (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006). Els valors adequats d'aigua són determinats tant per el vapor d'aigua en l'ambient (HR inferior al 70%), el contingut d'aigua en el conidi i les hifes i el contingut d'aigua en el substrat. Aquest últim ha estat utilitzat per Griffin (1981) per a la classificació de fongs. Griffin distingeix els Xeròfils, que necessiten poca activitat d'aigua per créixer, i els Xero-tolerants, que poden

sobreviure amb poca aigua tot i que en requereixen per a un desenvolupament òptim (Florian, 1993).

Pel que fa a la temperatura, aquest influència en el ritme de l'activitat metabòlica. Trobant una temperatura òptima entre el 23-28°C (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006) tot i que arribant a sobreviure temperatures extremes, mínimes d'entre 0-10°C i màximes entre els 34-36°C.

Majoritàriament són aerobis, tot i que alguns gèneres es desenvolupen en ambients anaerobis (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006). Les concentracions mínimes d'oxigen per poder dur a terme la respiració oxidativa és d'un 25% (Florian, 1997).

El pH del medi, és a dir la concentració d'ions H⁺ en aquest, és ampli amb un pH=3-7 i en ocasions fins i tot pH=2-9. Es desenvolupen, en general, de forma òptima a pH àcid, al voltant de 5 (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006). En qualsevol cas, l'acció dels fongs canvia el pH del substrat degut a la formació de productes metabòlics com àcids orgànics que l'acaben acidificant (Florian, 1997).

La llum inhibeix, generalment el creixement micelial però a la vegada estimula l' esporulació (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006).

I finalment, els nutrients necessaris per a la seva supervivència són els abans esmentats hidrats de carboni, aminoàcids i polialcohols, així com aigua, ions, enzims, inhibidors i estimulants entre d'altres (Florian, 1997). És a dir que requereixen d'una font de carboni (sucres, cel·lulosa, lignina, queratina, àcids grassos o hidrocarburs), d'una font de nitrogen (ja sigui inorgànic com nitrats o amoni, o orgànic com aminoàcids o proteïnes) i altres fonts que aportin sofre, fòsfor i ions específics (Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural, 2006).

3.2 COMPOSICIÓ I PRODUCTES

Les taques presents en els documents poden ser causades per tres factors diferents de manera independent o, sovint, de manera interrelacionada:

- Taques causades per la presència d'hifes pigmentades
- Taques resultants de productes metabòlics orgànics com els pigments
- Taques causades per espores i associades a la digestió cel·lulòsica

Així, a l'hora de plantejar-se l'eliminació de taques produïdes per fongs cal, primerament identificar on es localitza el pigment -en el substrat, associat a la paret cel·lular de les hifes, intern a la paret cel·lular de las hifes, en conidis- aquest pas es pot determinar per microscòpia (Kost, 1989 i Neil 1987), i a continuació cal tenir present la composició tant dels productes metabòlics excretats com de les estructures fúngiques que poden quedar atrapades en el substrat per tal de poder actuar conseqüentment.

3.2.1 Estructura de la paret cel·lular de les hifes

La paret cel·lular de les hifes s'assimila estructuralment a la de les plantes però difereix en quant a composició química (Florian M.-L. , 1997). Cal tenir en compte però que la quantitat de productes químics en la paret cel·lular d'una hifa varia amb l'espècie (Florian M.-L. , 1997). Segons Bartnicki-Garcia (1968) hi ha 8 categories químiques taxonòmiques de paret cel·lular en les que es poden categoritzar els fongs. El grup taxonòmic dels Ascomicots tenen parets cel·lulars de complexos quitina-glucans. Així es presenten hifes compostes principalment per diverses combinacions de quitina i beta-glucans. La quitina és el principal component estructural de la paret cel·lular. Es tracta d'un polímer lineal d'unió β -(1,4), insoluble de N-acetilglucosamina (GlcNac). És un dels polisacàrids més abundats en la natura. Els beta-glucans per altra banda, són residus de glucosa no cel·lulòsics amb unió β -(1,3). La variació i la complexitat del complex glucan-quitina, amb glucans, glicoproteïnes i quitina, dificulta la solubilitat de restes d'hifes en el substrat (Florian M.-L. E., 2004).

La paret cel·lular madura de les hifes fúngiques està composta per 4 capes -*figura o6*- de diferent gruix i amb diferent quantitat de beta-glucans amorfs en els que s'entrellacen microfibril·les de quitina disposades en diversos angles (Florian M.-L. E., 2004).

La capa més externa està composta per una mucosa a base de polisacàrids que conté α -(1,3) glucans i manosa, que són solubles en aigua i solucions alcalines. En algunes hifes pot haver petites partícules marrons (30-150nm) de melanina que poden arribar a cobrir el 50% de la capa (Florian M.-L. E., 2004).

La segona capa està formada per complexos β -(1,3) glucans i proteïnes, que en volta una capa de proteïnes (Florian M.-L. E., 2004).

La capa més interna, que conforma dos terços de la paret, es compon per microfibril·les de quitina entrelaçades en una matriu de β -(1,3) glucans associats a proteïnes en forma de glicoproteïnes.

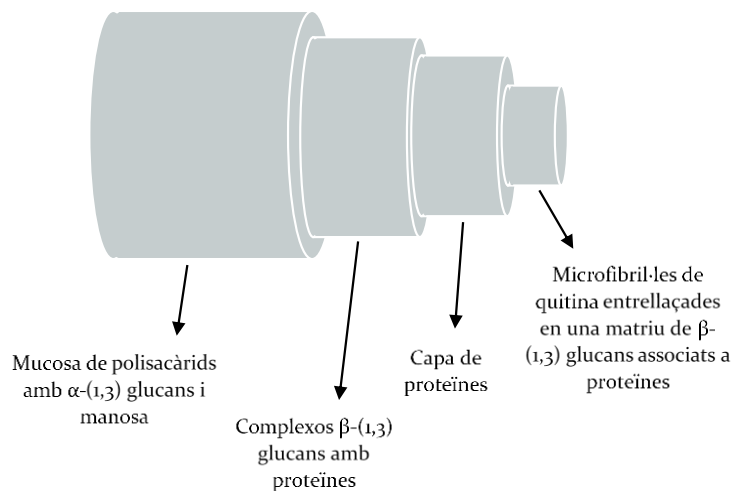


Figura o6 Esquema de l'estructura i composició de la paret cel·lular de les hifes. Reproducció de l'esquema extret de (Florian M.-L. , Heritage eaters: Insects & Fungi in Heritage Collections, 1997)

3.2.2 Productes metabòlics

Hi ha dos parts en una infestació, una relacionada al propi fong i l'altra al canvi en la matèria de l'objecte contaminat. Una infestació fúngica conté les estructures del fong i productes metabòlics que l'organisme excreta ja sigui per digestió o per estabilització de les condicions ambientals en les que es troba. En aquest procés, el material pot patir canvis químics, físics o cromàtics (Florian M.-L. E., 2004). En el procés digestiu es secreten diverses substàncies metabòliques que poden tenyir el substrat ja sigui per coloració pròpia o per interacció amb el mateix substrat (Florian M.-L. , 1997). D'entre aquests productes es troben els àcids orgànics, els enzims, les proteïnes, els lípids, els metalls quelants i els pigments pròpiament dits. En la *figura 09* apareixen llistats les estructures fúngiques amb els seus component químics i productes metabòlics excretats.

Àcids orgànics | Durant la germinació es produeixen productes metabòlics necessaris per al creixement i desenvolupament de l'organisme. En aquest procés s'excreten enzims necessaris per a la digestió del substrat així com àcids orgànics, intermediaris de la respiració oxidativa. Aquesta àcids orgànics es produeixen en els mitocondris per mitjà del cicle de Krebs (Florian M.-L. E., 2004). El cicle de Krebs (anomenat amb el nom del seu descobridor Hans Krebs), també conegut com a cicle d'àcid cítric o cicle d'àcid tricarbòxilic (TAC), és el conductor central de la respiració cel·lular. Aquest procés té lloc en la matriu del mitocondri i és la porta d'entrada al metabolisme aeròbic de qualsevol molècula (hidrat de carboni, proteïnes, lípids...). En els fongs presents en el substrat cel·lulòsic del paper, aquestes molècules es tracten de sucres (glucosa) (Berg JM, 2002).

En els dos estadis preparatoris al cicle de Krebs tenen lloc la glicòlisi i l'oxidació de l'àcid pirúvic. La glicòlisi consisteix en la descomposició d'un hidrat de carboni, la glucosa (molècula de 6 carbonis) en dos trioses, l'àcid pirúvic (molècula de 3 carbonis). En el pas següent, a través de l'oxidació de l'àcid pirúvic s'obté Acetil CoA (molècula de 2 carbonis).

A partir d'aquesta molècula s'inicia el cicle de Krebs, un conjunt de reaccions catalitzades per enzims. Tal i com s'ha esmentat anteriorment, aquest cicle consisteix en l'oxidació de l'àcid cítric -obtingut a partir de la condensació de l'acetil CoA i l'àcid oxalacètic (molècula de 4 carbonis)- fins a obtenir de nou àcid oxalacètic. Cada cicle allibera una sèrie de molècules com NADH i FADH₂, que posteriorment són utilitzades en la cadena de transport d'electrons per a l'obtenció d'energia (ATP), de CO₂ i d'ATP. El cicle de l'àcid cítric elimina els electrons de l'acetil CoA i els utilitza per formar NADH i FADH₂ (Berg JM, 2002).

Quan l'àcid pirúvic entra en el cicle de Krebs forma una seqüència d'àcids orgànica necessaris per al funcionament del metabolisme. Els àcids orgànics comuns són el cítric, l'oxàlic, succínic, glutàmic, fumàric, màlic i acètic -*figura 07*-.

Si el fong es desenvolupa en una substrat amb excés de glucosa, es formen més àcids orgànics dels necessaris i aquests són alliberats en el substrat com a productes metabòlics secundaris (Florian M.-L. E., 2004).

Aquest procés pot tenir un possible rol en els descoloriment en taques de fongs (Arai, 1987 i Arai et al. 1988, 1990).

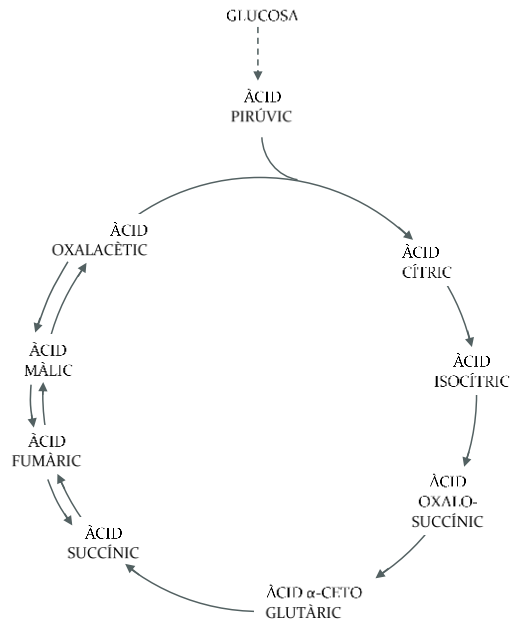


Figura 07 Esquema del cicle de Krebs dut a terme en la respiració cel·lular dels fongs (Florian M.-L. E., 2004)

Enzims | Els enzims necessaris per a la digestió del substrat són secretats en les taques de fongs en els que poden haver productes com aminoàcids lliures, sucres simples, glicerol i àcids grassos (Florian M.-L. , 1997). Els enzims són utilitzats per al trencament de pèptids i disacàrids en aminoàcids i sucres simples (Florian M.-L. E., 2004).

Així els fongs comprenen una font rica d'enzims de diversa tipologia i complexitat. Per tal de compensar la seva incapacitat de desplaçament, els fongs han desenvolupat mecanismes, entre ells diversos enzims secretats extracel·lulars, necessaris per fer front a les condicions ambientals canviants durant el seu cicle vital (ibwif, 2017).

Els enzims es classifiquen segons el tipus de reacció que catalitzen en oxidoreductases (enzims que catalitzen oxidoreduccions. La classificació es basa en donant-receptor. El nom comú és deshidrogenasa), transferases (enzims que transfereixen un grup, per exemple, el grup metil o un grup glucosil, d'un compost (anomenat donant) a un altre (el receptor), sovint el donant és un cofactor (coenzim) que transporta el substrat a ser transferit), hidrolases (catalitzen la hidròlisi de diverses unions), liases (enzims que separen enllaços C-C, C-O, C-N i d'altres per mitjans diversos a la hidròlisi o l'oxidació. Comporten la participació de dos o més substrats en una direcció de la reacció però fan ús d'un substrat menys en la direcció contrària. Quan actuen en substrats sols s'elimina una molècula que genera enllaços dobles o anells nous), isomerases (catalitzen canvis dins d'una mateixa molècula), ligases (catalitzen la unió de dos molècules o dos parts de

la mateixa molècula amb una inevitable hidròlisi de l'enllaç difosfat en l'ATP o trifosfats similars) i translocases (catalitzen el moviment d'ions o molècules a través de membranes o la seva separació dins de membranes) (BRENDA©, 2019).

Els enzims d'importància en la degradació del substrat en béns culturals són les hidrolases. El nom comú de cada un d'aquests enzims està format per el nom del substrat sobre el que actuen seguit del sufix -asa (BRENDA©, 2019). Sovint les hidrolases presenten un gran rang d'especificitat i per tant són capaces de catalitzar la hidròlisi de diverses molècules de naturalesa similar.

Concretament cal centrar-se en la glucosilases que catalitzen la hidròlisi d'enllaços glicosídics en sucres complexos (Bourne & Henrissat, 2001) (Henrissat & Davies, 2001). Aquests enzims són comuns en la degradació de biomassa com la cel·lulosa (cel·lulasa) -*figura o8*-, la hemicel·lulosa i el midó (amilasa). Les glucosilases es subdivideixen en glucosidases, enzims que hidrolitzen enllaços O i S-glicosídics, i les que hidrolitzen enllaços N-glicosídics (BRENDA©, 2019) (ExPASy, 2018).

Hi ha espècies com la *Chaetomium* o *Trichoderma* que presenten cel·lulases, tot i que el primer recurs sempre són els sucres simples. Només produeixen l'enzim en períodes de fam, presència de cel·lulosa al substrat i condicions ambientals necessàries (Florian M.-L. E., 2004). Estudis realitzats per Appel i Schikhorra (1906) van trobar els *Fusarium* capaços de solubilitzar entre el 50 i el 80% de la cel·lulosa en forma de paper de filtre (YOGESWARI, 1948).

De la mateixa manera, els fongs fan ús d'aminoàcids que absorbeixen del substrat en els que es troben lliures o els creen a partir de productes nitrogenats (Florian M.-L. E., 2004).

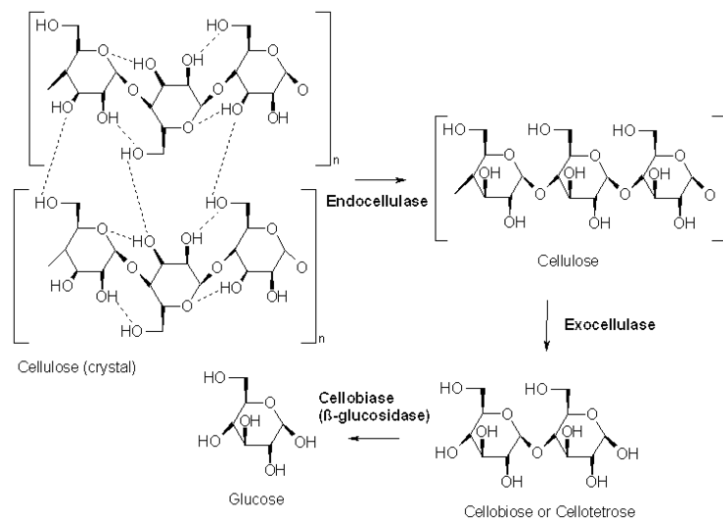


Figura o8 Els tres tipus de reacció catalitzats per cel·lulases: 1. Trencament de les interaccions no covalents, enllaços β -1,4, presents en l'estructura cristal·lina de la cel·lulosa donant lloc a llargs fragments solubles (oligosacàrids), (enzim: endo- β -1,4-glucanasa) 2. Hidròlisi de les fibres individuals de cel·lulosa per a trencar-les en sucres més petits, cel·lobiosa des dels extrems de la molècula (enzim: exo- β -1,4-glucanasa) 3. Hidròlisi de la cel·lobiosa en glucosa (enzim: β -glucosidasa) (wikipedia, 2012).

Lípids | En les taques també hi són presents els lípids i les seves formes reduïdes, àcids grassos i glicerol (Smith i Brody, 1976). S'ha documentat que un 16% del pes sec dels conidis equival a lípids. Aquests lípids pateixen processos d'autooxidació amb gran facilitat formant radicals lliures d'alta energia i peròxids destructius (Florian M.-L. E., 2004). L'acció autooxidativa dels lípids no són iniciades per altes temperatures, són autooxidatives, són acompanyades per productes fluorescents, usualment tenen lloc en medis ambientals de poca activitat hídrica i poden causar el trencament de proteïnes fúngiques en aminoàcids solubles, així com la decoloració del substrat (Florian M.-L. E., 2004). Els fongs sota condicions d'estrès produeixen poliols: sucres alcohòlic (glucitol), arabitol, eritriol i mannitol (Florian M.-L. E., 2004). La autooxidació que pateixen aquestes substàncies poden ser causa del descoloriment cel·lulòsic (Florian M.-L. , 1997).

En la mort del fong el glicerol actua com a humectant de la zona. Augmenta el contingut d'humitat que provoca l'activació i germinació del conidi. Aquest fet dóna explicació al motiu per el qual tornen a sorgir fongs en zones anteriorment atacades (Arai, 1987). Els residus de glicerol presents en el substrat creen condicions òptimes per a la germinació de nous conidis dipositats, de diferents espècies (Florian M.-L. , 1997).

Metalls quelants | El metabolisme dels fongs és substancialment únic. Aquests organismes heterotròfics recullen els nutrients del substrat a través de tota la superfície del miceli. Tal i com s'ha esmentat amb anterioritat, els nutrients s'obtenen a través de la descomposició de la matèria orgànica mitjançant una gran varietat d'enzims, incloent-hi metalls complexos. El sistema d'enzims també participa en la formació de compostos orgànics en els quals molts elements estan units com a quelats o en el grup -SH d'aminoàcids. Com a conseqüència d'aquests processos, s'acumulen molts oligoelements essencials i/o tòxics, aquesta sent dependent de l'espècie i també fortament influenciada per la composició del substrat (Randa & Kucera, 2004).

Així els fongs requereixen d'oligoelements, elements químics imprescindibles per al correcte funcionament de les cèl·lules. Aquests oligoelements són emmagatzemats com a reserva per a futures translacions o per alleujar medis tòxics (Florian M.-L. E., 2004). Diversos estudis realitzats al llarg del temps han donat llistes d'oligoelements útils per al desenvolupament de diferents espècies. Steinberg (1942), després d'un treball exhaustiu sobre la nutrició d'*Aspergillus niger*, va concloure que els oligoelements jugaven un paper específic en l'ús de CO₂ per part del fong. Es va considerar l'ús del zinc en l'oxidació i la reducció vitals i també participava adversament en l'acumulació d'àcids orgànics en cultius de fongs (Foster, 1939) (YOGESWARI, 1948). Stiles (1946) va enumerar els microelements amb efecte favorable sobre diferents espècies de fongs d'interès particular, entre els que es trobaven el zinc, manganès, coure, molibdè i gal·li (YOGESWARI, 1948). I en un estudi posterior realitzat el 1977 dels quinze elements provats el Fe, Zn i Mn es van trobar essencials per al creixement i l'esperulació de les espècies *Fusarium* i *Penicillium* (Thind & Madan, 1977).

Els metalls són enllaçats a la paret cel·lular de la hifa en la que el complex quitina-glucan actua com a polímer quelant de metalls. Aquesta activitat, a més, es veu magnificada per la presència de melanina (Florian M.-L. E., 2004).

Pigments | Els pigments que donen color tant a la colònia com a les taques produïdes per aquesta són diversos. En el punt següent (3) es desenvolupa de manera més detallada la naturalesa química de les taques trobades en suport de paper. A simple vista però, es poden distingir dos tipus de taques diferents, les marrons i les acolorides.

Els pigments de coloració marró-negre, tal i com s'ha esmentat amb anterioritat, són resultat de la presència de melanina. La melanina és present en les parets cel·lulars de les hifes, que pot ser granulada o amorfa, i està formada per la polimerització oxidativa de fenols no nitrogenats, és a dir, pigments polimèrics quinoides. La seva funció principal és la de protecció de l'organisme contra la radiació UV, la degradació del sòl i la biodegradació (Florian M.-L. , 1997). Tot i que les taques de pigmentacions marrons també poden estar formades per la hidròlisi de l'aminoàcid tirosina a través de tirosinasa secretada (Florian M.-L. E., 2004).

Els pigments de colors són presents tant en les hifes, com en els conidis o secretats en el substrat. La forma més comuna però és en els conidis pigmentats. La producció de pigments és específic per espècie, tot i que la quantitat es veu influenciada per els nutrients i metalls presents en el substrat, les radiacions UV i altres factors ambientals que limiten el creixement. Els conidis però es poden eliminar de manera mecànica per aspiració, així que un cop eliminats no deixen residus pigmentats en es substrat. L'eliminació dels pigments secretats en el substrat en canvi, requereix la determinació de la seva solubilitat (sovint sense saber la naturalesa química del pigment) (Florian M.-L. E., 2004), per això s'ha dedicat un punt diferent (3) per al seu ampli desenvolupament.

Estructures fúngiques	Hifes fúngiques – productes metabòlics	Productes metabòlics excretats
<ul style="list-style-type: none"> – Conidis – Ascòspores – Escleroci – Hifes – vegetatives i reproductives 	<ul style="list-style-type: none"> – Proteïnes – aminoàcids lliures – Àcids orgànics – Lípids – ADN i ARN nuclear – Enzims – Pigments – Beta-glucans o Amino sucre – Aigua 	<ul style="list-style-type: none"> – Enzims – Glicerol – Biofilm – beta-glucans i/o amino sucres – Àcids orgànics – excés del cicle de Krebs – Pigments

Figura 09 Estructures fúngiques, els seus compostos químics i productes metabòlics excretats (Florian M.-L. E., 2004).

4. Taques de color

Els fongs poden produir colorants orgànics de diferent coloració durant el seu desenvolupament. Aquests colorants són definits com a metabòlits secundaris i estan compostos de diverses substàncies químiques complexes formades durant el procés metabòlic. Tal i com s'ha esmentat en el punt anterior, el colorant és característic de diferents espècies, però el color de la taca varia segons (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017):

- Composició del colorant
- Reacció del colorant amb el substrat
- Reacció amb possibles elements metàl·lics residuals
- Presència de nutrients
- Acidesa o alcalinitat del paper
- Condicions ambientals
- Presència d'altres espècies microbiòtiques

Respecta a aquest últim punt, el creixement de dos o més fongs en un mateix lloc provoca la intensificació del color o l'obtenció d'un de diferent. En altres ocasions només el dominant mostra coloració (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

Segons un estudi realitzat el 2017 (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017), les coloracions de taques més comunes associades a l'activitat fúngica eren taques de color marró, seguides de tons negre i groc a verdós -*figura 10*-. El color marró és freqüentment associat amb fenòmens de fòxing descrits en la literatura (Melo D. C., 2017). Les coloracions negres-marronoses s'associen a la presència de melanina i que poden ser degudes a la combinació de diferents colorants. Per exemple l'espècie *Aspergillus Niger* produeix conidis negres resultat de la combinació de melanines marró fosc amb pigments verds hexahidroxil pentacíclics quinoïdes. Així que la coloració final és resultat

COLORS DE TAQUES

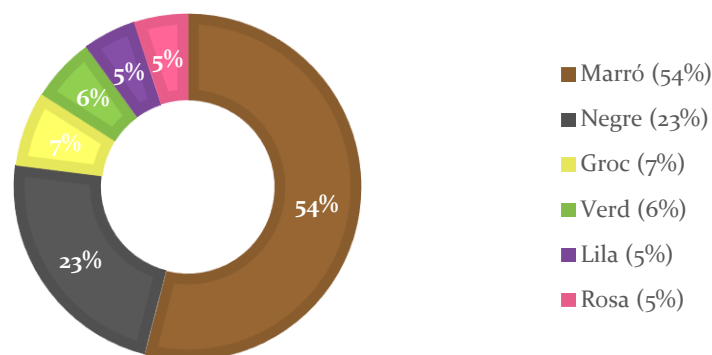


Figura 10 Coloracions més comunes de les taques produïdes per fongs (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017)

de la combinació d'ambdues. De la mateixa manera la coloració resultant pot ser deguda a l'oxidació del colorant en el medi, causant el seu enfosquiment -per exemple l'esoropol-lenina és un producte marró de la polimerització oxidativa del β -carotè groc-. Per altra banda, molt dels colorants identificats són precursors biosintètics d'altres -per exemple el dopacrom i melanocrom, els intermedis rosa i lila de la formació de la melanina en d'*Aspergillus nidulans*-. I finalment, diferents coloracions poden donar modificacions del mateix colorant segons les diferents reaccions amb el medi (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017). En la *figura 11* (taula que es mostra a continuació) es fa referència a les dades obtingudes de diferents estudis en les quals apareixen les espècies de fong i les diverses coloracions de taques a que les que s'han relacionat.

Fong	Color de la taca	Colorant
<i>Alternaria sp.</i>	Vermell, lila, groc, marró, negre, etc.	—
<i>Alternaria solant</i>	Negre Taques negres fortament adherides al paper	Pigments negres
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Vermell-marronós	—
<i>Aspergillus</i>	Marró	—
<i>Aspergillus carneus</i>	Groc clar a marró-vermellós Marró	—
<i>Aspergillus flavus</i>	Groc clar a marró-vermellós Marró	—
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Marró-negre Negre difús en tota la superfície	—
<i>Aspergillus japonicus</i>	Negre i rosa Groc clar a marró-vermellós	—
<i>Aspergillus melleus</i>	Marró Groc-verdós	—
<i>Aspergillus nidulans (Emericella)</i>	Lila	Lila-marró
<i>Aspergillus niger</i>	Groc clar a marró-vermellós Negre	—
<i>Aspergillus oryzae</i>	Marró Groc-verdós	—
<i>Aspergillus penicilloides</i>	Marró	Melanoidines
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	Marró pàl·lid	—
<i>Aspergillus tamarii</i>	Groc clar a marró-vermellós	—
<i>Aspergillus terreus var. Aureus</i>	Pigmentació marró, taques grogues i pigments grocs	—
<i>Aspergillus ustus</i>	Marró	—

Fong	Color de la taca	Colorant
<i>Aspergillus versicolor</i>	Lila Capa groc clar	Rosa-taronja (Versicolorine) Pigments groguencs secretats en el medi de cultiu
<i>Bjerkandera adusta</i>	Marró	—
<i>Chaetomium</i> (fong <i>Demataceous</i>)	Cossos fructífers de pigmentacions fosques	Melanina
	Negre	Estructures fructíferes amb melanina
<i>Chaetomium globosum</i>	Gris-marronós Negre Marró Groc (3 dies); esdevé gris-marronós en 2 dies	—
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Negre	Melanoidines (parets cel·lulars amb melanina)
	Marró	
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Marró pàl·lid	—
<i>Doratomyces album</i>	Taques marrons	—
<i>Aurotium spp. (repens o rubrum)</i>	Taques negre-verdoses	—
<i>Eurotium amstelodami</i>	Fòxing	—
<i>Eurotium halophilicum</i>	Fòxing	—
<i>Eurotium herbariorum</i>	Marró	Melanoidines
<i>Eurotium repens</i>	Capa groc clar	Pigments groguencs secretats
<i>Eurotium rubrum</i>	Capa groc clar	Pigments groguencs secretats
<i>Fusarium sp.</i>	Vermell, lila, marró, negre, etc.	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	Rosat Rosa-lilós	—
<i>Geomyces pannorum</i>	Vermell-marronós	Fusarubina
<i>Geosmithia putterillii</i>	Vermell-marronós	—
<i>Gliocladium roseum</i>	Groc clar a marró-vermellós	—
<i>Gleotinia temulenta</i>	Marró	—
<i>Hypocrea lixii</i>	Verd	—
<i>Mucor recemosus</i>	Gris fosc	—
<i>Mucor spinosus</i>	Negre	—
<i>Myxotricum delfexum</i>	Vermell clar	Pigmentació vermella
<i>Paecilomyces variotii</i>	Taca marró	—

Fong	Color de la taca	Colorant
<i>Penicillium</i> spp.	Fòxing	—
<i>Penicillium atrovenetum</i>	Taca negre-verdosa	—
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Verd-groguenc	—
<i>Penicillium citrinum</i>	Marró	—
<i>Penicillium commune</i>	Marró-negre	—
<i>Penicillium coralligerum</i>	Taca negre-verdosa	—
<i>Penicillium funiculosum</i>	Fòxing	—
<i>Penicillium islandicum</i>	Marró	—
<i>Penicillium minioluteum</i>	Marró	—
<i>Penicillium notatum</i>	Verd clar Verd-groguenc	Pigments gros secretats
Fong	Color de la taca	Colorant
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Marró-groguenc Vermell	—
<i>Penicillium raistrickii</i>	Vermell	—
<i>Penicillium restrictum</i>	Vermell-marronós	—
<i>Penicillium spinulosum</i>	Vermell-marronós	—
<i>Phoma herbarum</i>	Marró-negre Negre	—
<i>Polyporus brumalis</i>	Marró	—
<i>Ramichoridium apiculatum</i>	Taques negres-verdoses	—
<i>Saccharicola bicolor</i>	Marró	—
<i>Stachobotrys chartarum</i>	Negre	—
<i>Taeniolella</i> sp.	Negre	Melanines
<i>Trichoderma citrinoviride</i>	Marró	—
<i>Trichoderma koningii</i>	Marró	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	Vermell-marronós	—
<i>Ulocladium chartarum</i>	Marró Marró-negre	—
<i>Ulocladium curcubitae</i>	Marró	—

Figura 11 Gèneres o espècies de fongs trobats en taques sobre paper, juntament amb el color de les taques i els colorants (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017)

Una revisió de la literatura en el camp de la conservació del paper de 1970 a 2015 va ser recopilada en 26 estudis centrats en la identificació d'espècies de fongs de les taques en

paper biodeteriorat. Segons aquesta revisió, les taques de fongs es poden dividir en tres grups principals: taques de diverses coloracions; taques melanitzades (taques de color marró fosc o negre causades per la melanina) i fòxing (taques petites i de forma rodona amb un color vermellós o groguenc procedent de l'envelliment i/o oxidació dels residus fúngics) (Melo D. C., 2017).

4.1 IDENTIFICACIÓ DE COLORANTS

En l'article de 2017 (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017) esmentat en l'apartat anterior, només un petit percentatge (al voltant del 13%) dels autors associen les taques de color amb colorants específics produïts per fongs. La majoria d'aquests colorants eren Policètids (al voltant del 96%) i només el 4% eren carotenoides -*figura 12*-. En aquests estudis no es realitzen anàlisis per confirmar la presència d'aquests colorants (Melo D. C., 2017).

Per tant es fa necessària un cerca fora de l'abast de la conservació del paper per entendre quins estructures químics podrien ser causa d'aquest danys. En l'article de 2017 (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017) es fa una recerca d'identificació de colorants en camps alternatius a la conservació ja que aquest no aborda la temàtica. Es recull informació compresa des de 1934 fins a 2019 sobre els colorants produïts únicament per espècies de fongs trobades en biodeteriorament del paper causat per fongs.

Els microorganismes produeixen una gamma extraordinària de pigments que inclouen diverses classes químiques com carotenoides, melanines, quinones, monascines, etc. (Pombeiro-Sponchiado, Sousa, Andrade, Lisboa, & Gonçalves, 2017).

Els resultats obtinguts de l'estudi de 2017 permeten la classificació dels colorants en dos grups químics diferents: Policètids i Carotenoides. Aquests colorants, tal i com s'ha esmentat amb anterioritat, responsables de les coloracions en qüestió, de manera

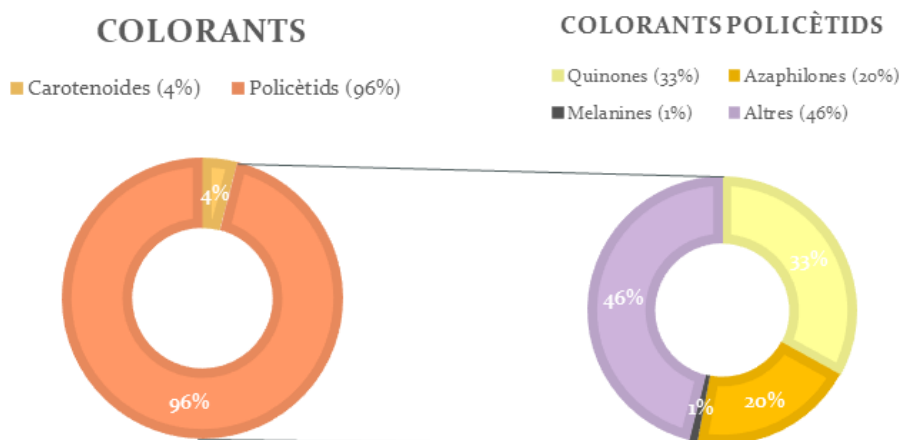


Figura 12 Colorants identificats en les taques produïdes per fongs (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017)

general tenen un rol biològic anti-bacterial i de protecció davant les radiacions UV (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

4.1.1 Policètids

Els Policètids representen un grup molt diversificat de productes naturals amb esquelets de carboni estructuralment distintius que es reuneixen a partir de simples blocs d'acil (Hertweck, 2009).

Els Policètids constitueixen una de les principals classes de productes naturals. Molts d'aquests compostos o derivats d'aquests components han esdevingut una important font terapèutica per a l'ús clínic; en canvi, diversos Policètids són toxines inflamables o factors de virulència. El que destaca especialment d'aquest grup heterogeni de compostos que consta de polièters, polians, polifenols, macròlids i enediïnes és que es deriven principalment d'un dels blocs d'edificació més senzills disponibles a la natura: l'àcid acètic (Hertweck, 2009).

Els Policètids són sintetitzats per enzims multifuncionals de Policètids-sintasa (PKS). Els PKS catalitzen cicles de condensació repetits entre els tioèsters d'acil (normalment acetil, propionil, malonil o metilmalonil). Cada cicle té com a resultat la formació d'un grup de p-ceto que pot patir o no, de manera completa o parcial, una sèrie de passos reductors (Tsoi & Khosla, 1995).

La majoria dels colorants produïts pels fongs són Policètids. Entre aquests en destaquen les Azaphilones, les Quinones, les Melanines i d'Altres (de coloracions grogues, marrons roses, liles i vermelles (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017)) (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

Azaphilones | Els Azaphilones són una família de pigments de fongs caracteritzats per un nucli bicíclic de piran-quinona altament oxigenat (Weiyi , et al., 2018). Es tracten de productes naturals pertanyents a una família estructuralment diversa amb el nucli bicíclic oxigenat anteriorment esmentat i un centre quaternari. Posseeixen grans grups de piran-quinones i tenen propietats cromofòriques. El seu color depèn de la seva estructura química (Khurana, Sharma, Jafri, & Sharma, 2017). Poden ser incolores o de color -responsables dels colors groc, vermell o verd de micelis- (Melo D. C., 2017).

El nom Azaphilona va sorgir com a resultat de la seva afinitat per a l'amoníac: els pigments reaccionen les amb amines -com proteïnes, aminoàcids i àcids nucleics- per formar c-piridines viniloses vermelles o porpres a l'intercanvi d'oxigen piran per nitrogen (Osmanova, Schultze, & Ayoub, 2010). Aquests compostos són solubles en aigua i etanol (Wanping, et al., 2017).

Per a la majoria de les Azaphilones, l'espectre d'absorció es troba dins del rang visible (Khurana, Sharma, Jafri, & Sharma, 2017). Els derivats Azaphilones de colors es produeixen per espècies de fongs ascomicets i basidiomicets, incloent els gèneres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Talaomyces*, *Emericella*, *Epicoccum*, *Pestalotiopsis*, *Phomopsis*, *Monascus* i *Hypoxylon* -figura 13- (Weiyi , et al., 2018).

Les estructures d'Azaphilona es poden classificar en deu grups estructurals diferents:

- Azaphilones bicíclics
- Azaphilones bicíclics amb cadena lateral alifàtica
- Azaphilones bicíclics amb cadena lateral alifàtica i anell aromàtic
- Azaphilones dimèriques
- Azaphilones bicíclics amb àcid o-orselínic i derivats de l'àcid o-orselínic
- Azaphilones bicíclics amb esquelet "ergostane" i àcid o-orselínic
- Azaphilones dimèriques amb un grup d'àcid o-orselínic
- Espiro-Azaphilones bicíclics
- Espiro-Azaphilones dimèriques
- Azaphilones amb anell de lactona

Diverses Azaphilones són úniques per a una espècie i es consideren indicadors quimiotaòxics (Weiyi, et al., 2018), però sovint una espècie pot produir més d'un tipus de compost. Per exemple, els Pigments Azaphilones de *Monascus* (MonAzPs) estan formats per una gran família de metabòlits secundaris estructuralment relacionats produïts pels fongs *Monascus*. Els MonAzPs són una barreja complexa de compostos amb un esquelet d'Azaphilona comú. Tradicionalment es classifiquen en pigments vermells, taronja i grocs basats en els seus màxims d'absorbància a 490–530, 460–480 i 330–450 nm, respectivament (Wanping, et al., 2017).

"Entre 1930 i 1980, es van identificar sis components MonAzP, incloent dos grocs (monascina 1 i ankaflavina 2), dos taronja (rubropunctatina 3 i monascorubrina 4) i dos pigments vermells (rubropunctamina 5 i monascorubramina 6). s'han identificat membres de la família i, segons el nostre coneixement, inclouen 44 pigments grocs, 8 taronja i 42 vermells " (Wanping, et al., 2017)

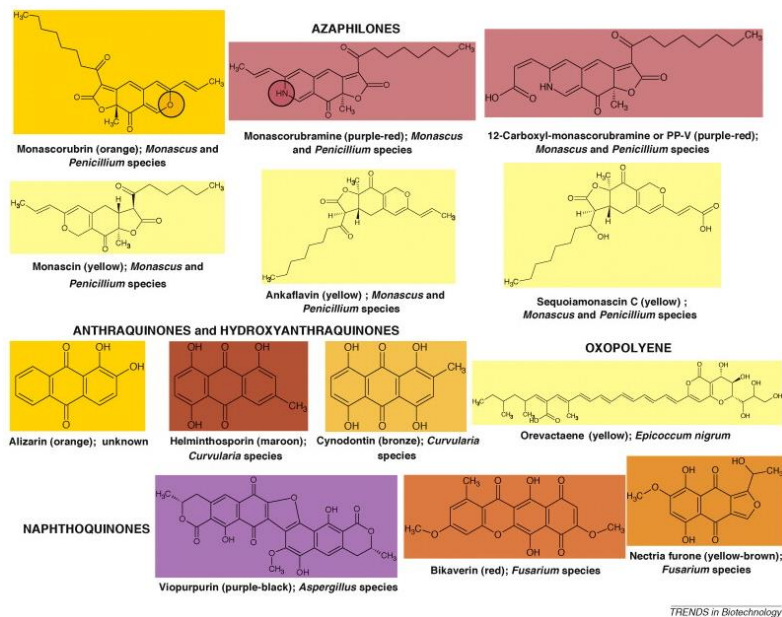


Figura 13 Pigments de Policètics d'Azaphilona (Mapari, Thrane, & Meyer, 2010).

Quinones | Les quinones estan constituïdes per qualsevol membre d'una classe de compostos orgànics cíclics que continguin dos grups carbonil, $-C = O$, adjacents o separats per un grup vinílic, $-CH = CH-$, en un anell insaturat de sis membres. En algunes quinones, els grups carbonil es localitzen en diferents anells. El terme quinona també denota el compost específic para- (p-) benzoquinona ($C_6H_4O_2$) (Kim, et al., 2019).

Les coloracions grogues, taronges o vermelles depenen de la posició en la que es troba el grup cetona (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017) (Melo D. C., 2017). Les quinones inclouen les benzoquinones, naftoquinones, antraquinones i quinones policíclics.

- Benzoquinones: es produeixen en certs fongs i en plantes superiors, dels quals poden recuperar-se com cristalls de color groc, taronja, vermell, violeta o de color fosc. No proporcionen cap coloració recognoscible a un organisme a causa de les petites concentracions en les que es troba; però, juguen un paper important com a enzims respiratoris per catalitzar les oxidacions cel·lulars (Dandawate, Vyas, Padhye, Singh, & Baruah, 2010).
- Naftoquinones: es poden recuperar com a cristalls grocs, taronja, vermell o porpra. Són solubles en dissolvents orgànics i s'han utilitzat àmpliament com a colorants per a teixits. Entre les naftoquinones de importància bioquímica i fisiològica hi ha les vitamines K. Les Naftoquinones són les més comunes en els fongs, es tracten dels colorants predominants més identificats, tal i com s'observa en la *figura 12* (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017). Dos isòmers són comuns per a les naftoquinones: 1,2-naftochinona i 1,4-naftochinona (Akiyama, Inoue, Tajima, Kuroda, & Imai, 2014).
- Antraquinones: es produeixen àmpliament a les plantes, però només en alguns animals. Aquests compostos de colors brillants han trobat una àmplia aplicació com a indicadors químics de pH (Simpson & Amos, 2017).
- Quinones policíclics: es produeixen en alguns bacteris, fongs i parts de plantes superiors (Shigeyasu, et al., 2007).

Les benzoquinones i les naftoquinones es troben majoritàriament en forma lliure; i les antraquinones existeixen en forma vinculant com els glucòsids. Els antracens lliures i els derivats de quinona es poden dissoldre en metanol, etanol, acetat d'etil, etil èter, benzè, cloroform i altres dissolvents orgànics, poc solubles o insolubles en aigua. Després de combinar-se en glucòsids, amb l'augment de la polaritat, les quinones es poden dissoldre fàcilment en metanol, etanol i solubles en aigua calenta, però poc solubles en aigua freda, i gairebé insolubles en benzè, èter, cloroform i altres dissolvents orgànics no polars (ChemicalBook, 2006).

Melanines | Les melanines es classifiquen com un dels grans pigments naturals, ja que són sintetitzats per membres de tots els regnes biològics (Nosanchuk, Stark, & Casadevall, 2015). Es tracten de macromolècules hidrofòbiques carregades negativament, d'alt pes molecular (Pombeiro-Sponchiado, Sousa, Andrade, Lisboa, & Gonçalves, 2017) i formades per la polimerització oxidativa de compostos fenòlics o indòlics (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017). Els criteris de descripció bàsics són: Substància negra, insoluble en aigua i dissolvents orgànics, resistent a blanquejant i

soluble en solucions alcalines. Degut a la seva gran resistència fisico-química la seva eliminació del paper és molt problemàtica.

La melanina en fongs, bacteris i helmints es produeix a través de la via policètid sintasa o catalitzada per fenol oxidases (Wheeler & Bell, 1988). Les melanines formades per la via de policètid sintasa s'anomenen melanines de dihidroxinaftalè (DHN) (denominada per un dels intermediaris de la ruta, 1,8-dihidroxinaftalè-1,8-DHN). Una varietat de diversos enzims, incloent fenol oxidases, tirosinases, catecol-lases i laccases, poden generar melanines. La formació d'eumelanina és catalitzada per fenol oxidases a partir de substrats DOPA (el nom d'un dels precursors, la L_{3,4}-dihidroxifenilalanina) (Nosanchuk, Stark, & Casadevall, 2015) (Melo D. C., 2017). Tal i com s'ha explicat en apartats anteriors, la melanina fúngica se situa normalment a la paret cel·lular associada a quitina, tot i que la distribució i la quantitat varien àmpliament entre les espècies. En algunes espècies la melanina també es pot trobar fora de la cèl·lula fúngica, generalment en forma de grànuls. La majoria dels fongs d'Ascomicots sintetitzen DHN-melanina a partir de la via de policètid sintasa, mentre que poques espècies són capaces de produir melanina a través de L-DOPA, en una via que s'assembla a la biosíntesi de melanina dels mamífers (Pombeiro-Sponchiado, Sousa, Andrade, Lisboa, & Gonçalves, 2017).

S'ha trobat que el pigment actua com a "armadura fúngica" ja que presenta la capacitat de protegir els fongs de condicions adverses i de neutralitzar els oxidants generats en resposta a l'estrès. A més de l'activitat de sanejament, la melanina presenta altres activitats biològiques, com ara la termoregulació, la ràdio i la fotoprotecció, els antimicrobians, els antivirals, els citotòxics, els antiinflamatoris i els immunomoduladors (Pombeiro-Sponchiado, Sousa, Andrade, Lisboa, & Gonçalves, 2017).

4.1.2 Carotenoides

Els carotenoides són pigments terpenoides de 40 àtoms de carboni derivats de manera biosintètica de dues unitats de geraniol-geraniol difosfat de transferasa, solubles principalment en dissolvents no polars com el ciclohexà (Craft & Soares, 1992). Aquests pigments es troben agrupats en carotens i xantofil·les. Alguns carotens només tenen un carboni i hidrogen a la seva estructura química com el β -carotè; mentre que les xantofil·les també contenen oxigen. (Mata-Gómez, Montañez, Méndez-Zavala, & Noé Aguilar, 2014)

Els carotenoides són coneguts pels seus distintius colors, variant des del groc fins al vermell -*figura 14*-. La seva diversitat de colors es deu a petites variacions en la seva estructura química (Kohler, 1995). Tots els carotenoides comparteixen un esquelet format per una cadena poliènica que conté un nombre variable de dobles enllaços conjugats (Prado Cabrero, 2010).

En els fongs es troben en petites quantitats ja que no són organismes fotosintètics. En aquests actuen com a agents contra l'estrès oxidatiu o presenten funcions no essencials diferents, relacionades amb la síntesi de productes fisiològicament actius (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017) (Limón & Avalos, 2015). Tal i com s'ha esmentat abans,

contenen una cadena de poliè alifàtica normalment composta de vuit unitats d'isoprè que inclouen enllaços dobles conjugats que absorbeixen la llum, i que ofereixen colors característics de tonalitats grogues, taronges o vermelloses (Melo D. C., 2017) (Miura, et al., 1998).

La producció de carotenoides es veu afectada per diversos factors ambientals com (Mata-Gómez, Montañez, Méndez-Zavala, & Noé Aguilar, 2014):

- la font de carboni: molts autors esmenten que les fonts de carboni com l'etanol provoquen un augment de la síntesi de pigments.
- la presència de llum: que augmenta la carotenogènesi.
- la temperatura: afecta el creixement cel·lular i la producció de metabòlits, actua canviant les vies biosintètiques, incloent la carotenogènesi.
- la presència d'aire: ja que la carotenogènesi és un procés aeròbic. La disminució dels nivells d'oxigen influeix en la producció de carotens o xantofil·les, a causa de l'oxidació de carotens en astaxantina, cantaxantina i altres.
- La presència d'ions i sals metàl·liques (Ba, Fe, Mg, Ca, Zn i Co): han demostrat ser factors estimulants en la producció de carotenoides.

De manera general, els carotenoides es denominen segons les variacions estructurals dels anells laterals, especialment la posició de doble enllaç. Per als carotens s'utilitza el sufix -carotè; per a les xantofil·les en canvi, el sufix és -ina (Mata-Gómez, Montañez, Méndez-Zavala, & Noé Aguilar, 2014).

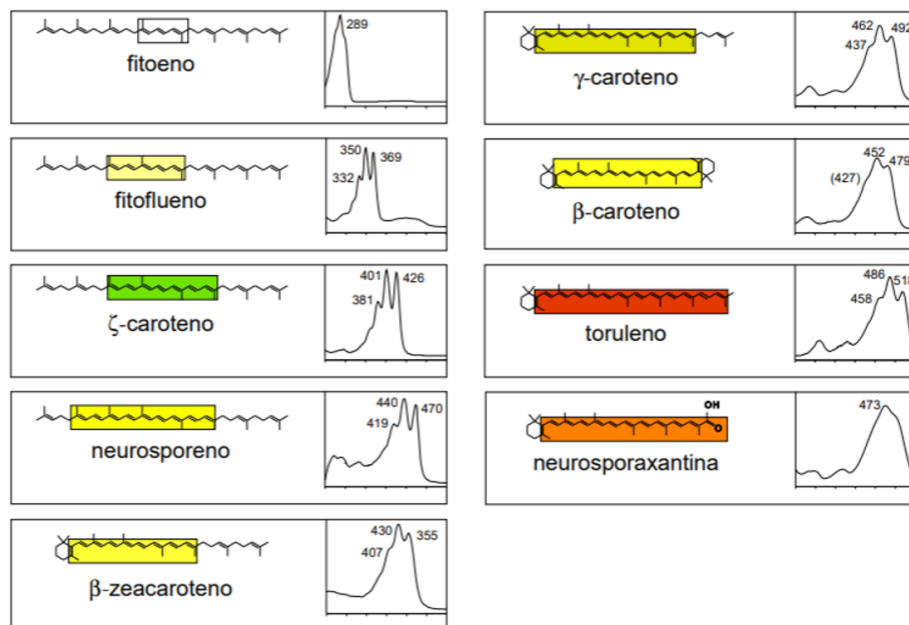


Figura 14 Carotenoides produïts per *Fusarium fujikuroi*. El requadre indica l'extensió del cromòfor. S'indica a més l'espectre d'absorció (250-550nm) així com la longitud d'ona de màxima d'absorció. (Prado Cabrero, 2010).

β-carotè | Els beta carotens són una provitamina composta de dos grups retinyl (Malhotra Pattani, 2010). Es tracten d'antioxidants liposolubles (Abrahão Machado, Ambrosano, Lage, Martinez Zugaib Abdalla, & Costa, 2017) que conformen un dels grups carotenoides més abundants en la natura, responsables de les coloracions grogues-taronges (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

Neurosporaxantina | És produït principalment pel fong ascomicet *Neurospora crassa*, del qual pren el seu nom, tot i que també s'han identificat en altres ascomicets, com *Fusarium* i *Verticillium*. Aquesta xantofil·la monocíclica està formada per 35 àtoms de carboni, i en l'extrem no-ciclat conté un grup àcid (LUMITOS AG, 2019).

De la mateixa manera que en altres vies de biosíntesi de carotenoides, la biosíntesi de la neurosporaxantina comença amb la formació del precursor incolor “phytoene” a través de la condensació de dues molècules de geraniol-geraniol difosfat. Quatre dessaturacions i una ciclació terminal, condueixen al c-carotè, a continuació dessaturat per produir torulè. Aquest carotè vermellós és tallat per l'oxigenasa CarT, per produir b-apo-4c-carotenal, que requereix d'una d'oxidació final per convertir aquest aldehyd en la neurosporaxantina àcida (Díaz-Sánchez, Estrada, Trautmann, Al-Babili, & Avalos, 2011).

La pigmentació taronja dels fongs ascomicets *Neurospora* i *Fusarium* es deu principalment a l'acumulació de neurosporaxantina (Avalos, Prado-Cabrero, & Estrada, 2012). Aquesta compost és més estable i presenten major capacitat de tinció (Melo, Sequeira, Lopes, & Macedo, 2017).

5. Tractaments

Tal i com s'ha vist al llarg de l'estudi, els efectes del creixement fúngic en paper són diversos, tant mecànics com estètics (Florian M.-L. E., 2004):

- Pèrdua d'elements solubles del substrat: disacàrids o pèptids
- Possible canvi en les fibres de cel·lulosa ja sigui força o color: col·lagen, queratina o cel·lulosa
- Creació de taques per el creixement d'hifes acolorides o l'excreció de pigments

La pèrdua de components químics en el substrat resulta en una pèrdua de força estructural (o integritat), depenent del grau d'hidròlisi (Florian M.-L. E., 2004). Aquesta cohesió pot ser restituïda per mètodes de restauració ben coneguts i establerts.

Les taques però, també poden danyar greument els artefactes no només en valor sinó en una possible corrosió. El creixement del fong no només deteriora l'estructura del paper, sinó que també restringeix de forma permanent l'aparença visual del bé en qüestió (Xingtang, et al., 2017).

En la pèrdua o alteració de la coloració del suport els tractaments són més difusos ja que la gran diversitat de productes i taques dificulta (o impossibilita) la seva efectiva

eliminació amb un mètode únic. Paral·lelament cal tenir en compte que usualment es tracta d'un problema estètic de petita importància i per tant es considera innecessària la intervenció.

Tal i com s'ha vist anteriorment les estructures i característiques físiques dels pigments és un tòpic immens i el mètode lògic d'eliminació recau en la solubilitat específica del compost en qüestió. Es troben (Florian M.-L. E., 2004):

- Pigments solubles en aigua: Antocianina i Xantè (Policètics), de coloracions vermelles.
- Pigments solubles en etanol o acetona: Carotenoides enllaçats a quitina
- Pigments solubles en dissolvents grassos: Carotenoides, de coloracions grogues i taronges
- Pigments solubles en solucions alcalines: Antraquinona i Scleritorina (Policètics), de coloracions vermelles i grogues respectivament.

Existeixen diversos estudis en els pigments fúngics o taques en materials que descriuen la dificultat d'eliminació de les taques de fongs en suport de paper. Per exemple en les taques negres-marrons usualment d'hifes fúngiques impregnades de melanina que ha crescut entre les fibres cel·lulòsiques. Aquestes no es poden eliminar de manera mecànica ja que es troben entrellaçades en les fibres del substrat. La paret quitinosa de les hifes és extremadament complicada d'hidrolitzar (apartat 2.2.1). Sohan fet proves amb enzims per trencar i alliberar les partícules negres de melanina, però fins a la data les proves no han estat exitoses (Florian i Purinton 1995) (Florian M.-L. E., 2004).

Així el pas principal per a la eliminació de les taques la localització del pigment (a través de microscòpia), ja es trobin en la paret cel·lular d'hifes, en conidis o en els substrat. I a continuació cal escollir el mètode adient.

Una revisió de la literatura permet la distinció d'un mètode principal d'alteració química de les taques i cinc mètodes d'eliminació diferents. Entre aquests sis mètodes resultants, diversos es consideren inapropiats segons la normativa ètica de la professió ja que causen més danys a l'obra que beneficis, i la majoria no han obtingut resultats de gran eficàcia.

Indubtablement, el mètode més popular per a l'eliminació de contaminants no desitjats en substrats de paper ha estat l'ús de dissolvents. No obstant això, la neteja mitjançant aquests dissolvents (orgànics o aquosos) presenta diversos problemes, com ara la difusió extensa de les substàncies dissoltes en àrees més profundes i més àmplies de l'artefacte o la notable decadència de les propietats mecàniques del paper a causa de l'absorció i evaporació del producte (Xingtang, et al., 2017).

5.1 MÈTODES D'ALTERACIÓ DE TAQUES

Aquests mètodes consisteixen en l'alteració química de les taques per tal de disminuir la tonalitat acolorida del pigment sense eliminar-lo de la superfície. Presenten diversos desavantatges ja que l'agressivitat dels tractaments posen en perill l'estabilitat del substrat sense garantir l'eliminació del producte acolorit. La cel·lulosa en aquestes zones es troba generalment més degradada que en les zones circumdants i l'efecte d'aquest tractament oxidatiu provoca un major debilitament (Derow & Owen, 1992).

I encara, sovint les taques acaben readquirint la seva tonalitat original amb el pas del temps. Per exemple en el blanqueig no s'eliminen possibles impureses metàl·liques que resulten en una degradació local catalitzada per els mateixos (Derow & Owen, 1992).

Entre els mètodes d'alteració química de les taques es troba principalment l'ús de blanquejants tal i com s'ha esmentat amb anterioritat.

5.1.1 Blanquejants

Un estudi realitzat el 2016 (Alexopoulou & Zervos, 2016) informa del volum percentual dels mètodes utilitzats en tractaments de document gràfic. Dins del 35'5% de freqüència amb la que les organitzacions implementen el blanqueig, els productes utilitzats principalment són -*figura 15*- el peròxid d'hidrogen, el blanqueig per llum i el borohidrur de sodi amb taxes del 35'5%, 25'8% i 24'2%, respectivament. Algunes organitzacions encara utilitzen productes químics obsolets i potencialment nocius, com el permanganat de potassi, l'hipoclorit de sodi i la cloramina.

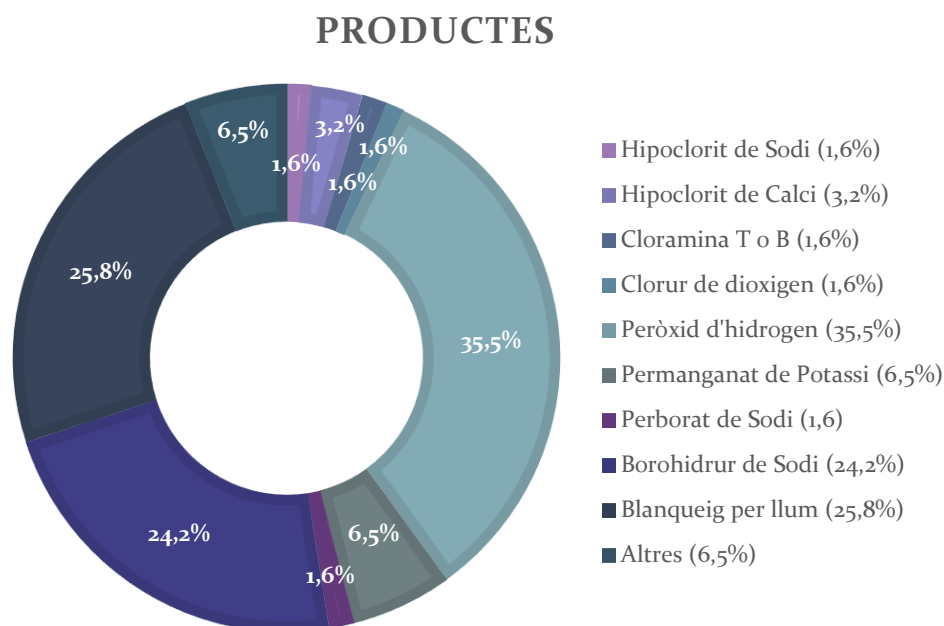


Figura 15 Productes utilitzats com a blanquejants en tractament de document gràfic (Derow & Owen, 1992).

Peròxid d'hidrogen | Es tracta d'un agent oxidant fort utilitzat en solució aquosa com a blanquejant. És relativament inestable i les solucions es deterioren amb el temps, llevat de ser estabilitzades per l'addició d'acetanilida o de materials orgànics similars (MeSH). La degradació del paper pot ser excessiva si s'utilitza peròxid d'hidrogen inestable. Els estabilitzadors del peròxid d'hidrogen ajuden a evitar la ruptura catalitzada del metall de la solució del blanquejant i, per tant, a disminuir la degradació de la cel·lulosa durant el procés. Estabilitzadors com silicats i hidròxids de magnesi utilitzats tenen funció de peròxid d'hidrogen semblant als agents quelants, ja que actuen sobre metalls complexos i impedeixen que participin en reaccions químiques (Derow & Owen, 1992). De totes maneres fins i tot el peròxid d'hidrogen estabilitzat no és recomanable d'utilitzar en paper amb taques amb presència de metalls pesants (per exemple, ferro, coure) o les seves sals o òxids (Derow & Owen, 1992).

Borohidrur de sodi | És un agent reductor suau que s'utilitza normalment per reduir els aldehids i les cetones als seus alcohols respectius. El NaBH_4 s'utilitza de vegades per reduir els èsters a alcohols, però la reacció és generalment lenta. Aquesta diferència de reactivitat normalment permet la reducció selectiva dels aldehids i les cetones en presència d'èsters (CommonOrganicChemistry).

Aquest blanquejant és un agent reductor moderat a feble. Generalment elimina les taques lleus, amb capacitat d'eliminar parcialment tincions severes. Es utilitza en tractaments en concentracions variant entre el 1 i 2%, de vegades en combinació amb un tractament amb peròxid d'hidrogen (Derow & Owen, 1992).

Blanqueig per llum | La radiació ultraviolada a la font de llum, combinada amb la humitat del paper, produeix peròxid que pot provocar la mort del fong (si existeix) i decoloracions per blanqueig. S'ha realitzat un treball amb blanqueig de llum localitzat utilitzant una font de llum de fibra òptica dirigida només a la taca que s'ha de blanquejar. L'exposició sota llum fluorescent ha obtingut un "blanqueig en 2-3 casos coneguts" (Derow & Owen, 1992).

En el blanqueig, s'aplicava de manera sistematitzada el blanquejant localment a les taques, seguit d'un blanqueig general o d'un esbandit (Derow & Owen, 1992). A continuació es presenten exemplificacions de casos extrets de l'estudi realitzat el 1992 per (Derow & Owen) en els que es posa en evidència la ineficàcia del mètode i les dificultats i perills que comporten per l'obra:

- Per a aplicacions locals, utilitzar borohidrur de sodi al 5-2% afegint un parell de gotes d'hidròxid per mantenir el pH, zones pre-humides amb hidròxid d'amoni (pH 9) i esbandit local amb el mateix. No causa aureoles. No utilitzar peròxid d'hidrogen si hi ha possible presència de ferro. Que a més, tendeix a causar aureoles.



- Solució de borohidrur de sodi 5% i 1% aplicada localment en àrees tacades d'un document pre rentat de dibuix a llapis sobre paper. Ja que les taques estaven ja prou degradades, es va preferir l'ús d'un blanquejant reductor en lloc d'un d'oxidant. L'aplicació del borohidrur es va restringir, ja que es preveia que el pH elevat de la solució de borohidrur podria provocar un inflament de les fibres del paper a nivell local i donaria lloc a un alliberament major de cossos de color en l'aigua del bany. El tractament general del dibuix en blanquejant no es va considerar adequat, tant a causa del risc de delaminació del paper en petites butllofes i perquè les parts no tacades del paper van mostrar una tendència a descolorir-se considerablement en les proves realitzades.
- S'han donat casos de taques amb coloracions marró-vermelloses reduïdes amb una solució de borohidrur de sodi a un color brut d'aspecte gris clar. Aquesta però sense poder oxidar-se de nou a blanc amb peròxid.
- En documents de paper de suport dur, es deixa l'obra per flotació en un bany de peròxid. El blanquejant aflora a través de les taques, però no a través de la resta del full.
- Seguir el rentat alcalí (desacidificació) i l'assecat del full amb l'aplicació local a taques de peròxid d'hidrogen (3%, pH elevat a 9,0-9,5 amb hidròxid de calci) o borohidrur sòdic (5%). Deixar assecat. Repetir en cas necessari. Els anells menors que poden formar-se i les taques restants solen blanquejar-se quan en procedir amb un blanqueig per llum. Esbandir bé en banys d'aigua.
- Utilitzar peròxid d'hidrogen al 2% (pH 8,5 amb l'addició d'hidròxid d'amoni i hidròxid de calci). Utilitzar de 3 a 4 aplicacions amb una assecat entre cada aplicació. Utilitzar peròxid d'hidrogen fins que s'observi un lleuger bombolleig, llavors cal descartar la solució i utilitzar-ne una de nova en cas necessari.
- Utilitzar la llum del sol o llums solars en lloc de llums fluorescent. L'addició d'unes gotes de peròxid d'hidrogen a la safata sembla catalitzar l'efecte de la llum.
- S'ha utilitzat peròxid d'hidrogen a les barreges d'aigua-etanol a la taula de succió per a dibuixos de carbó blanc o de guix blanc afectades amb taques. S'ha blanquejat al sol una imatge calcada amb volants per Albers en un 75% d'etanol, i després netejada amb la mateixa solució per a major efecte.
- Per a obres d'art que no puguin ser submergides, rentar l'obra com sigui possible (taula d'aspiració, disc o flotant) i blanquejar les taques mitjançant una humectació localitzada de les àrees en qüestió i amb una exposició a una font de llum. Protegir zones sensibles. Esbandir bé. Una tècnica per un menor temps de blanqueig consisteix a blanquejar localment les taques amb peròxid d'hidrogen, esbandir-les i col·locar-les a la llum del sol. Sovint s'afegeixen unes gotes de peròxid d'hidrogen al bany usat en el blanqueig per llum.

5.2 MÈTODES D'ELIMINACIÓ DE TAQUES

Aquests mètodes actuen directament sobre la naturalesa química dels compostos que formen les taques per tal de poder solubilitzar-los i eliminar-los del substrat.

L'abast dels tractaments per eliminar les taques es veu sovint limitat per la condició del suport de paper severament danyat o fràgil.

Sovint es troben mètodes que poden resultar exitosos parcialment en un cas però que no té cap efecte sobre una taca similar en un altre cas. Usualment, la mala condició del document no permet el tractament extensiu de les taques i s'accepta l'estat tacat del suport.

Entre aquests mètodes es troben l'ús de làsers, de tractaments electroquímics, de dissolvents orgànics, de solucions alcalines o d'enzims.

5.2.1 Làser

El làser és una tècnica física alternativa que pot ser més específica i flexible. L'ablació amb làser és un dels efectes d'irradiació més importants que es poden induir en materials òpticament absorbents. Així, la neteja amb làser és un cas particular d'ablació amb làser que s'ha utilitzat per a la descoberta de substrats específics mitjançant l'eliminació de capes superiors no desitjades. La idea d'utilitzar l'ablació amb làser per a l'eliminació selectiva de les incrustacions de la superfície dels artefactes data de la dècada dels 70 (Zanini, Trafeli, & Bartoli, 2018).

L'ablació del làser té lloc quan la fluència d'irradiació del làser (energia polsada per unitat d'àrea) sobrepassa un llindar crític, que és una propietat intrínseca de l'estructura del material sota irradiació. El procés d'ablació del làser implica fenòmens òptics, fotomètrics i fotomecànics dependents dels paràmetres del làser i de les propietats dels materials. Els paràmetres de principal importància en la neteja amb làser són: la longitud d'ona i la durada i energia de polsada. El procés de neteja amb làser de manera simplificada s'explica per evaporació (mecanismes d'ablació fototèrmica) i efectes d'ablació/espallació (mecanismes d'ablació fotomecànics i fotoquímics) (Zanini, Trafeli, & Bartoli, 2018).

Els làsers, a diferència de les fonts de llum convencionals, produeixen un feix monocromàtic intens en forma de llapis capaç de vaporitzar materials de colors. Si la taca o el pigment absorbeix la llum del làser més eficaçment que el substrat, hauria de ser possible treure el pigment deixant el substrat en bon estat (Szczepanowska & Moomaw, 1994). Aquesta teoria de manera simplificada s'exemplifica amb el cas de la neteja d'una pedra blanca coberta per una crosta negra. L'acció del làser causa la completa evaporació/ablació de la crosta negra; a mesura que el feix del làser interactua amb la superfície blanca ja no hi ha material negre absorbint la llum del làser i aquest serà reflectit sense produir cap tipus de degradació en la pedra blanca -*figura 16*- (Zanini, Trafeli, & Bartoli, 2018).

No obstant això, en realitat els casos són molt més complexos degut a la gran varietat de substrats i incrustacions trobades en la conservació dels béns culturals. Un paràmetre

fonamental en el procés de neteja amb làser, tal i com s'ha esmentat amb anterioritat és el temps de polsada. L'eliminació de material presenta diferents "canals d'ablació", depenent tant en el temps com en l'energia de polsada: espall·lació, explosió tèrmica, vaporització ràpida o lenta... En la neteja d'objectes d'art històric s'utilitzen únicament els làsers polsats (Zanini, Trafeli, & Bartoli, 2018).

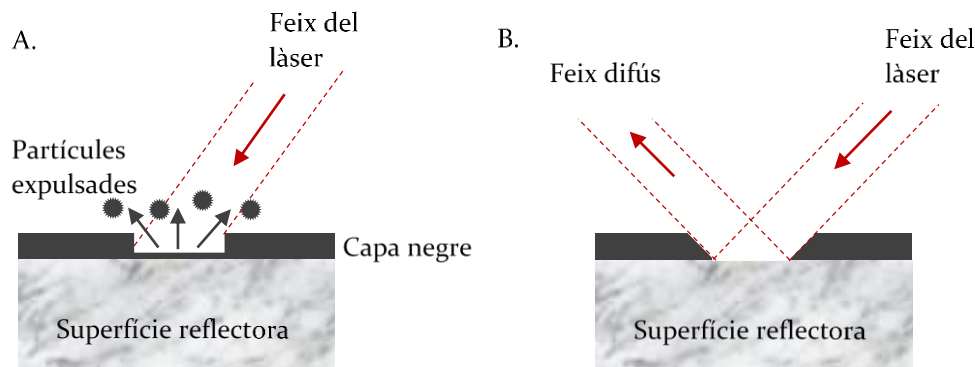


Figura 16 A. Feix del làser interactuant amb la crosta negra que causa l'expulsió de les partícules, B. A mesura que la capa negra és eliminada el feix entra en contacte amb la superfície que el reflecteix (Zanini, Trafeli, & Bartoli, 2018).

En molts estudis es descriu la influència de la radiació làser polsada (no contínua) amb diverses longituds d'ona i intensitats en paper tant vell com modern. En els inicis es va utilitzar amplies varietats de làsers per a neteges que a poc a poc es van anar acotant. Es van proposar làsers d'excímer polsats amb emissions de longituds d'ona de 248 nm, 266 nm, 308 nm i 355 nm per eliminar taques específiques causades per fongs, metall, tintes, cintes autoadhesives, etc. Malgrat la seva efectivitat, el tractament de taques amb aquestes longituds d'ona no són adequats per a la neteja de materials a base de cel·lulosa a causa dels efectes perjudicials causats per l'alta energia de la llum incident. L'absorció de fotons amb energies superiors a $\approx 3,6$ eV (electró-volts) -amb longituds d'ona inferiors a 340 nm- pot conduir a la fotòlisi directa, o pot induir una degradació foto-oxidativa de la cel·lulosa, que al seu torn condueix a una disminució immediata severa del grau de polimerització (Ciofini, Osticioli, Micheli, Montalbano, & Siano, 2013).

Els efectes secundaris d'aquest dany foto-oxidatiu es descriuen principalment en termes de decoloració (esgrogueïment o blanqueig) i es poden controlar més fàcilment a longituds d'ona més llargues, on la interacció es redueix. A 1064 nm i 532 nm, la llum làser interacciona amb la majoria de contaminants ambientals inorgànics i de manera feble amb la fibra mateixa (Londero, Corda, Ciofini, Giuntini, & Leona, 2016).

En làsers a longituds d'ona de 532 nm per sota del llindar d'ablació no s'observen canvis immediats detectables ni decoloracions visibles. A aquesta longitud d'ona, la interacció química amb la cel·lulosa és menys pronunciada i l'eliminació del làser sembla més prometedora respecte als mètodes convencionals de neteja. El millor resultat de neteja

es va realitzar amb una fluència làser de $0,8^{-1} \text{ J/cm}^2$ i una durada de polsada de 17ns. No obstant, els estudis sobre tractament amb làser de mostres tacades suggereixen fenòmens de decoloració i degradació causats per la descomposició fototèrmica de la cel·lulosa, així com un substancial blanqueig del paper acompanyat d'una oxidació (Ciofini, Osticioli, Micheli, Montalbano, & Siano, 2013).

En un estudi realitzat el 2003 per (Kolar, et al.) es van utilitzar mostres de paper de cel·lulosa de cotó purificada (paper de filtre Whatman; DP 2632 \pm 20) i sulfat de cel·lulosa (DP 2735 \pm 20) que es van irradiar per una cara amb un làser Nd: YAG a 532nm amb una fluència d'1.14 i 2,5 J cm^{-2} -el làser polsat Nd: YAG (Spectron Laser Systems, SL 852) a 532 nm té un temps de polsada de 13 ns, una velocitat de repetició de 1,25 Hz i la mida del punt de $r=0,8 \text{ mm}$ -. El tractament no va mostrar canvis immediats detectables amb el làser a 532 nm tot i que la irradiació sobre papers amb brutícia carbonosa va resultar en un notable descoloriment del substrat.

Ja que les mostres no presentaven metalls de transició o materials orgànics no cel·lulòsics, la decoloració observada es va atribuir a la degradació de la cel·lulosa, forçada per una transferència de calor de les partícules de carboni a la cel·lulosa (Kolar, et al., 2003).

En un estudi posterior realitzat el 2013 per (Ciofini, Osticioli, Micheli, Montalbano, & Siano, 2013) es van dur a terme proves per a la eliminació concreta de taques de fong i fòxing mitjançant l'aplicació de dos procediments sistemàtics: el primer va consistir a augmentar gradualment la fluència (de 50 a 1500 mJ/cm^2) i la freqüència de repetició (2-5-10 Hz) per a temps curts d'exposició (30-60 segons) per identificar els llindars d'ablació de les taques i el substrat; el segon, per temps molt més llargs (30-60 min.) amb valors més curts de fluència ($<500 \text{ mJ/cm}^2$) i freqüència (2-5 Hz):

- Es van investigar taques de fongs i fòxing de tres fragments de paper de drap del segle XIX pertanyents al Departament de Dibuixos i Gravats de l'Opificio delle Pietre Dure (OPD) a Florència. Es va utilitzar el làser Q-Switched Nd:YAG a 532nm amb durades de polsada variables, de 10ns a 30ns a energies de sortida més baixes. La desmagnificació del diàmetre del feix làser col·limat de 6mm a la fibra central d'1,5mm es va aconseguir amb un expansor de feixos Keplerian revertit. Dues lents pla-convexes amb una distància focal de 80mm i 20mm, respectivament, es van col·locar amb el seu pla focal nominalment coincident. L'alineació va permetre obtenir un factor reductor igual a $\frac{1}{4}$ i un acoblament màxim de l'energia de sortida de la fibra de 25-30mJ (valors energètics suficients per a aplicacions en materials a base de cel·lulosa).

L'ús del segon harmònic del làser QS Nd: YAG (532 nm) amb acoblament de fibres va permetre l'eliminació de taques de fòxing i de fongs sense produir danys estructurals en el substrat, tot i que si que es van observar esgrogueïments en suports de paper a base de polpa de fusta.

5.2.2 Eliminació electroquímica

En un estudi realitzat el 2017 per (Xingtang, et al.) es va crear un nou esquema per eliminar de manera eficient les taques, el fòxing, els colorants orgànics i els fongs de les obres de paper, incorporant reaccions electroquímiques en el procés de neteja basat en hidrogel.

En general, les reaccions electroquímiques tenen avantatges significatius respecte a les reaccions químiques tradicionals. El catalitzador/elèctrode està immobilitzat, reduint així la necessitat de separar el catalitzador de la barreja de reacció; els paràmetres variables en corrent i potencial són fàcilment controlats i, per tant, obtenen fàcilment la reacció desitjada; el principal reactiu és el radical hidroxil, que pot degradar de manera eficient les taques orgàniques però sense un producte perillós. Mentre que la zona de neteja pot ser regulada mitjançant l'ús d'un elèctrode d'hidrogel miniaturitzat (Xingtang, et al., 2017).

Inspirat per aquestes idees, el sistema d'elèctrodes es va utilitzar per netejar artefactes a base de paper. Aquest compost d'un elèctrode de PbO_2 com a ànode i una ploma d'hidrogel composta d'òxid de grafè/poliacrilamida/montmorillonita (rGPM) com a càtode (Xingtang, et al., 2017).

El paper amb taques es va intercalar entre els dos elèctrodes. Durant la neteja, es va carregar un corrent continu consistent al parell d'elèctrodes per generar una densitat de corrent establerta per a la neteja electroquímica -figura 17-. Després d'un període de temps acordat, la neteja es va donar per finalitzada i l'elèctrode rGPM es va poder enretirar fàcilment del paper (Xingtang, et al., 2017).

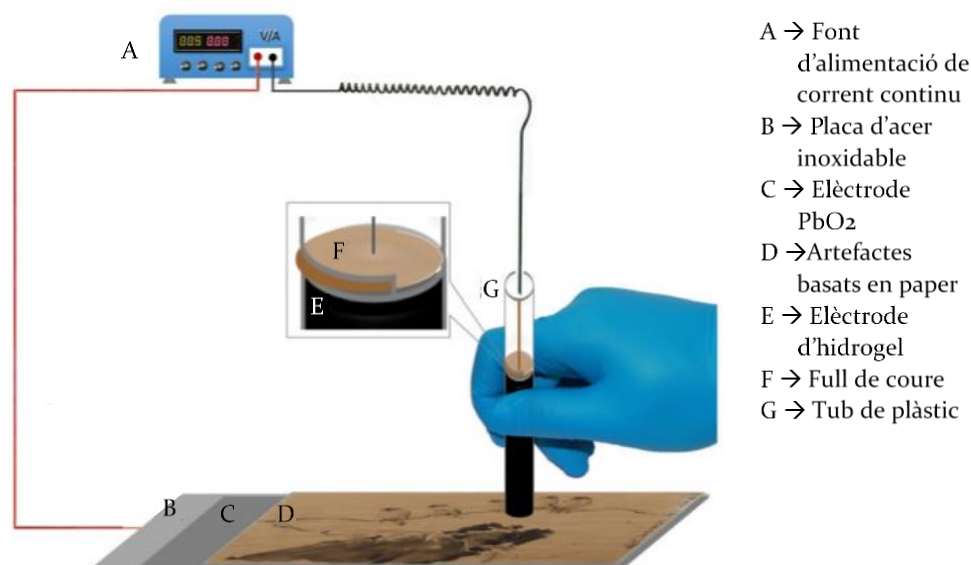


Figura 17 Il·lustració esquemàtica del mètode HPEC (Xingtang, et al., 2017).

Els resultats van mostrar que HPEC (hydrogel pen for electrochemical cleaning -llapis d'hidrogel per a la neteja electroquímica) tenia una capacitat excel·lent per netejar taques locals produïdes per contaminants orgànics sense una influència òbvia sobre la cel·lulosa i els pigments minerals originals -les taques de floridura negra i les taques de fòxing grogues van ser eliminades gairebé per complet a 8 mA/cm² durant 6 min-. A més, l'ànode preparat de PbO₂ i el càtode de rGPM poden ser reutilitzat diverses vegades sense perdre la seva eficiència (Xingtang, et al., 2017).

Components i interaccions en l'hidrogel compost reduït d'òxid de grafè/poliacrilamida/montmorillonita (rGPM): L'hidrogel compost d'òxid de grafè/poliacrilamida/montmorillonita (GPM) es va sintetitzar primer per polimerització de radicals lliures d'acrilamida (AM) i N,N'-Methylenbisacrylamide (BIS) en la dispersió d'òxid de grafè (GO) i de montmorillonita sòdica (MMT). El GPM preparat posseeix tant reticulació química com reticulació física. La reticulació química creada per el BIS dóna suport a un hidrogel estable, i la reticulació física basada principalment en les interaccions dels enllaços d'hidrogen entre les cadenes de poliactilamida (PAM) i les làmines nano de la MMT i la GO millora la resistència mecànica de l'hidrogel. Després, la GO en GPM es va reduir a partir d'àcid L-ascòrbic (VC) per formar un rGPM negre amb una electro-conductivitat millorada (Xingtang, et al., 2017).

L'òxid de grafè (GO) es va preparar segons el mètode modificat de Hummers:

“El GO es va preparar mitjançant l'oxidació de pols de grafit natural (malla 325, Qingdao Huatai Lubricant Sealing S&T Co. Ltd., Qingdao, Xina) segons el mètode Hummers modificat. Es va afegir grafit (3,0 g) a àcid sulfúric concentrat (70 ml) sota agitació a temperatura ambient, després es va afegir nitrat de sodi (1,5 g) i la barreja es va refredar a 0°C. Sota agitació vigorosa, es va afegir lentament permanganat de potassi (9,0 g) per mantenir la temperatura de la suspensió inferior a 20°C. Successivament, el sistema de reacció es va transferir a un bany d'aigua de 35-40°C durant aproximadament 0,5h, formant una pasta espessa. Després es van afegir 140 ml d'aigua i es va agitar la solució durant uns 15 minuts més. Es van afegir 500 ml d'aigua seguits d'una lenta incorporació de 20 ml d'H₂O₂ (30%), convertint el color de la solució de marró a groc. La barreja es va filtrar i es va rentar amb una solució aquosa de HCl 1:10 (250 ml) per eliminar ions metàl·lics seguits de diversos rentats amb aigua i centrifugació per eliminar l'àcid. El sòlid resultant es va dispersar en aigua per ultrasons durant 1h per fer una dispersió aquosa GO (0,5% en pes). La dispersió marró obtinguda es va sotmetre després a 30 minuts de centrifugació a 4000 rpm per eliminar els agregats. Finalment, es va purificar per diàlisi durant una setmana per eliminar les impureses de la sal restants.

Per a la preparació del grafè d'hidrogel autoensamblat (SGH), es va segellar una porció de 10 ml de 0,5, 1'o 2 mg/ml de dispersió aquosa GO homogènia en un

autoclau folrat de tefló de 16 ml i es va mantenir a 180°C entre 1-12 h. Aleshores, l'autoclau es va refredar de forma natural a temperatura ambient i les SGHs preparades es van treure amb una pinça i es van esborrar amb un paper de filtre per eliminar l'aigua adsorbida superficial. (Xu, Sheng, Li, & Shi, 2010).”

Mecanisme d'eliminació de taques de l'HPEC: El radical hidroxil (radicals hidroxil generats a través de la descàrrega anòdica d'aigua a la superfície de l'elèctrode PbO₂) és un potent oxidant que degrada diversos compostos orgànics. Durant aquest procés, els compostos orgànics es desglossen mitjançant una sèrie de reaccions incloent la hidroxilació, la descarboxilació, la deshidratació, la desmetilació, una reacció d'obertura d'anells i una mineralització. Basant-se en la investigació de 2017 per (Xingtang, et al.) i les conclusions de la literatura, en un mecanisme d'eliminació de taques d'HPEC els radicals hidroxil generats a la superfície de l'ànode PbO₂ es difonen en el paper brut entre els dos elèctrodes i reaccionen amb els contaminants per formar diversos productes incoloros. Per a l'alliberament local d'aigua de l'elèctrode rGPM, les reaccions de degradació només es produeixen a l'àrea connectada a l'elèctrode (Xingtang, et al., 2017).

Efectes de l'HPEC sobre les fibres de paper: Per avaluar el possible dany sobre el paper causat pels processos de neteja, s'ha investigat l'efecte de l'HPEC sobre les fibres del suport. Les imatges amb SEM dels documents tractats per HPEC a 4 mA cm² amb diferents durades van indicar que el HPEC no altera el grau de polimerització (DP) de la cel·lulosa del paper. No van aparèixer nous pics en els espectres FT-IR dels papers tractats, demostrant que no es van generar nous grups funcionals detectables durant l'HPEC. Els índexs de cristal·linitat total (TCI, I₁₃₇₂/I₂₉₀₃) per a totes les mostres de paper es van calcular sobre la base de la relació d'intensitat a 1372 cm⁻¹ i a 2903 cm⁻¹. Els nivells de TCI per als papers tractats eren aproximadament iguals al dels control, fet que suggereix que la dosi de HPEC no afecta la cristal·linitat de la cel·lulosa del paper. Aquesta conclusió es va veure reforçada pels experiments de la XRD (difracció de raigs X).

De fet, els radicals hidroxil poden degradar el paper mitjançant una reacció autocatalítica a llarg termini (anys). En el treball actual, però, el tractament és molt suau i la seva durada és de pocs minuts. Basant-se en els resultats i els informes experimentals de la literatura, és considera que la influència de l'HPEC en la cel·lulosa del paper és lleugera (Xingtang, et al., 2017).

Efecte de l'HPEC sobre el rendiment mecànic del paper: L'efecte del tractament HPEC sobre el rendiment mecànic és feble i aquest efecte s'origina principalment a partir de l'aigua en comptes del propi procés electroquímic. Ha esta comprovat que un cicle humectació-assecat, en major o menor mesura, provoca una menor superposició de les fibres i un major plegament, la qual cosa

resulta en una notable decadència en resistència a la tracció (σ) i un augment significatiu de la ruptura per tensió (ϵ). Així en l'experiment de 2017 per (Xingtang, et al., 2017) l'aigua alliberada (és a dir, l'increment de pes de la fulla de paper després del tractament, ΔW) de l'elèctrode rGPM va augmentar lleugerament amb l'augment del temps de tractament de l'HPEC. Per tant, el petit canvi de rendiment mecànic del paper tractat per HPEC es va atribuir a la diferència en l'assecat.

5.2.3 Dissolvents orgànics

S'han dut a terme diversos estudis per a l'ús de dissolvents orgànics en processos d'eliminació de taques de fongs en suport de paper. Entre aquestes es troba un realitzat el 2013 per (Szczepanowska & Lovett)

En aquest estudi es vena analitzar l'efectivitat de diversos dissolvents en l'eliminació de taques produïdes per les espècies de fongs: *Alternaria solani* (taques negres), *Penicillium notatum* (taques groguenques), *Fusarium oxysporum* (taques de color morat-rosa) i *Chaetomium globosum* (taques grogues marrons grisenques). Els efectes del tractament amb dissolvents sobre les taques produïdes pels fongs individuals van ser els següents: l'exposició a 1,4-dioxà de 24 hores va eliminar completament la taca produïda per *F. oxysporum* i va reduir significativament les taques produïdes per *P. notatum* i *C. globosum*. L'exposició a N, N-dimetil-formamida durant 24 hores va reduir significativament les taques produïdes per *C. globosum* i *P. notatum* i lleugerament la taca produïda per *F. oxysporum*. L'exposició a la piridina durant 24 hores va eliminar parcialment les taques produïdes per *C. globosum* i *F. oxysporum*.

L'exposició a curt termini del paper tacat als diversos dissolvents no va tenir cap efecte detectable sobre les decoloracions; no obstant, l'exposició durant 24 si que van produir canvis en les taques sense tenir cap efecte detectable sobre les característiques superficials del paper (Szczepanowska & Lovett, 2013).

Actualment però, no es fa ús d'aquestes solucions degut al grau de toxicitat que representen per als treballadors.

N,N-dimetilformamida | És un compost orgànic volàtil de fórmula C_3H_7NO . Comunament abreujat com a DMF. Com el seu nom indica es tracta d'un membre de la classe de formamides, l'amida de l'àcid fòrmic, una formamida en la qual els hidrògens amino són substituïts per grups metil. Té un paper com a dissolvent polar apròtic - hidròfil- (dissolvent amb una constant dielèctrica relativament alta i un moment dipolar permanent considerable, que no permet donar àtoms d'hidrogen per a la formació de ponts d'hidrogen forts) i com a agent hepatotòxic (European Bioinformatics Institute, 2016). Aquest líquid incolor és miscible amb l'aigua i la majoria de líquids orgànics. La dimetilformamida és inodora, tot i que les solucions comercials presenten sovint una olor similar a l'amoní a causa de les impureses que conté, i amb un alt punt d'ebullició.

Aquest compost presenta diversos perills per a la salut. Es tracta d'un producte inflamable i irritant. Cal evitar el contacte amb la pell ja que es tracta d'una substància fàcilment absorbible a través de la pell i que pot causar danys al fetsge i altres efectes adversos sobre la salut. No classificable com a carcinogen en humans però si amb efectes en la fertilitat i desenvolupament (National Institute for Occupational Safety and Health, 1990).

1,4-Dioxà | És un compost orgànic heterocíclic, classificat com a èter de fórmula $C_4H_8O_2$. Es tracta d'un dioxà amb àtoms d'oxigen en les posicions 1 i 4. Té un paper com a dissolvent no polar, un agent carcinogen i un metabòlit. És un compost orgànic volàtil i un dioxà. És un líquid clar i incolor amb una lleugera olor dolça similar a la del dietil èter. Lleugerament més dens que l'aigua i soluble en aigua. Susceptible a l'autooxidació per formar peròxids (National Center for Biotechnology Information, 2019).

Es tracta d'un líquid inflamable i potencialment explosiu en ser exposat a la llum o a l'aire (el 1,4-dioxà és inestable a temperatures i pressions elevades i pot formar mesclades explosives amb una exposició prolongada a la llum o a l'aire). Classificat per l'EPA amb alta probabilitat de ser carcinogènic per als humans per a qualsevol de les vies d'exposició (ingestió, contacte per via cutània o per inhalació de vapors) (EPA, 2017).

Piridina | És un compost orgànic heterocíclic bàsic de fórmula química C_5H_5N . És un azaareè que comprèn un nucli de benzè en el qual un grup -CH és substituït per un àtom de nitrogen. És el compost principal de la classe piridines (National Center for Biotechnology Information, 2019). La piridina és incolora, tot i que solucions antigues o impures poden aparèixer grogues. Té un paper com a contaminant ambiental. És un líquid molt inflamable, un àlcali feble i soluble en aigua.

Es tracta d'una substància irritant i tòxica que pot ser absorbida pel cos per inhalació, a través de contacte cutani i per ingestió (IARC MONOGRAPHS, 2018).

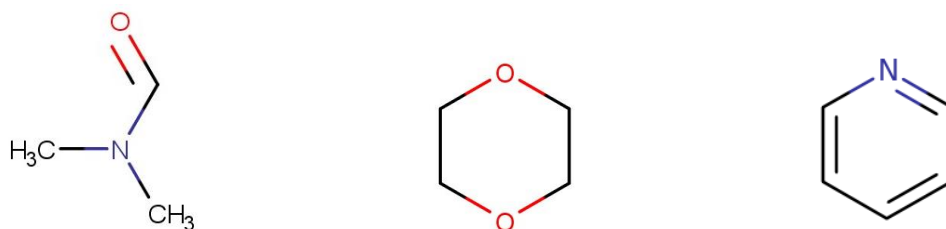


Figura 18 Estructura química dels dissolvents orgànics utilitzats en tractaments d'eliminació de taques de fongs. N,N-dimetilformamida, 1,4-dioxà i Piridina respectivament (European Chemicals Agency, 2018).

Tal i com s'ha esmentat anteriorment l'ús de dissolvents presenta diversos problemes, com ara la difusió extensa de les substàncies dissoltes o una decadència de les propietats mecàniques del substrat. En un estudi realitzat el 2015 per (Hassan) es va observar que els dissolvents acceleraven l'oxidació i la hidròlisi de les mostres de paper en envelliment tèrmic.

5.2.4 Solucions alcalines

Beckwith et al. van determinar que el contingut de material soluble en una base feble (solució aquosa d'hidròxid d'amoni del 4%) augmentava de manera considerable en les zones tacades en comparació amb les no afectades i que aquest material és higroscòpic (Derow & Owen, 1992). Gallo i Hey van trobar que el rentat amb aigua alcalina podia atenuar, si no eliminar completament, moltes marques. Proves posteriors de desacidificació amb una solució d'hidròxid de calci semi saturat, van ser encara més satisfactòries. No obstant això, el pH d'aquesta solució és considerat, avui en dia, massa elevat. Percentatges tan alts com el quatre per cent utilitzats per Beckwith et al. no es recomanen per al tractament d'obres d'art en paper, tot i que s'han trobat solucions alcalines menys concentrades útils per reduir les taques (Derow & Owen, 1992).

Tradicionalment s'han utilitzat les solucions següents per al rentat de taques o desacidificacions alcalines: carbonat i bicarbonat de calci o magnesi, hidròxid de calci o magnesi i hidròxid d'amoni (Derow & Owen, 1992).

En l'estudi realitzat el 1992 per (Derow & Owen) es mostren diversos exemples d'ús d'aquest mètode, molts d'ells utilitzats com a processos previs a blanquejos:

- Rentar totalment. Aplicar localment una solució d'hidròxid d'amoni pH 8,5 a les taques, netejar per eliminar la decoloració o restringir qualsevol propagació de la taca.
- Rentar totalment. Treure possibles inclusions metàl·liques evidents de manera mecànica. Pre-tractar localment les àrees de taca amb aigua desionitzada alcalinitzada (pH 8,5) mitjançant l'addició d'una solució d'hidròxid de calci. Deixi assecar-se i avaluar la necessitat de tractament posterior.
- Rentar l'obra en solucions d'aigua alcalina i bicarbonat. Utilitzar solucions d'hidròxid de calci, carbonat de magnesi, magnesi, bicarbonat i amoni.
- Reduir les taques al cel d'una aquarel·la en paper de Whatman, rentant-lo localment amb hidròxid d'amoni diluït en una taula de succió.
- Cal assenyalar que es pot produir una millora significativa amb l'hidròxid d'amoni. Aquest tractament previ augment l'eficàcia de blanquejos amb peròxid d'hidrogen o borohidrur de sodi.
- Hi ha hagut cert èxit amb l'aplicació local d'amoníac usant petits cataplasmes de cotó mullats en amoníac en les zones tacades. Amb molts papers de drap del segle XVII i XVIII s'ha trobat que el rentat alcalí sol ser suficient per treure o reduir les taques, de manera que el blanqueig no sigui necessari.

La majoria dels conservadors no han reportat cap èxit amb intents de disminuir la tinció mitjançant dissolvents no aquosos.

Si el paper es troba en condicions suficients per resistir el tractament, l'aplicació local d'una solució diluïda d'hidròxid d'amoni s'ha utilitzat amb èxit per disminuir algunes taques causades per fongs. Això pot ser degut a l'efecte de blanqueig general de la solució d'hidròxid d'amoni diluït en molts tipus de decoloracions.

Segons Beckwith, els residus produïts per fongs són solubles en solucions alcalines. Pot ser possible que alguna part de la tinció del paper causada per fongs sigui deguda a productes de rebuig i aquesta sigui la raó per la qual en alguns casos s'ha tingut èxit disminuint les taques amb una solució diluïda d'hidròxid d'amoni o hidròxid de calci (pH 7,5–8,5) localment, seguit d'un esbandit local o immersió.

5.2.5 Enzims

La melanina, tal i com s'ha vist anteriorment, provoca gran part de les taques negres i marrons en les superfícies de paper atacades per fongs, ja siguin adherides a les estructures de fongs o com a polímers "lliures" adherits al paper. L'eliminació del pigment de melanina sense danyar l'obra és problemàtica. En l'estudi realitzat el 2003 per (Nieto-Fernández, et al.) es va provar una aproximació a la ruptura de la melanina mitjançant enzims degradants de lignina. Aquests enzims són produïts per fongs de putrefacció blanca com a part del seu metabolisme secundari i s'han demostrat que descomponen amb èxit la melanina lliure. L'eficàcia del procés de tractament es va avaluar utilitzant colorimetria, SEM (microscòpia electrònica d'exploració), FTIR (espectroscòpia infraroja transformada de Fourier) i espectroscòpia Raman.

Estudis previs han provat proteases, quitinases, lipases i glucanases per trencar la paret cel·lular fúngica (Florian i Purinton, 1995; Bloomfield i Alexander, 1967). Cap d'aquests tractaments va tenir èxit en eliminar les estructures fúngiques pigmentades de la superfície del paper. L'estudi presentat per (Nieto-Fernández, et al., 2003) va proporcionar resultats preliminars sobre l'ús de ligninases per digerir les taques fúngiques melanitzades. Avui en dia però, es coneixen amb el nom d'enzims modificadors de la lignina (LME -*Lignin-modifying enzymes*), atès que aquests enzims no són hidrolítics sinó que són oxidatius (extreuen electrons) pels seus mecanismes enzimàtics. Les LME inclouen peroxidases, com la lignina peroxidasa (EC 1.11.1.14), la peroxidasa de manganès (EC 1.11.1.13), la peroxidasa versàtil (EC 1.11.1.16) i diverses fenol oxidases del tipus lacasa (SIB Swiss Institute of Bioinformatics, 2018).

Els enzims modificadors de lignina (LME) poden degradar una àmplia gamma de traces de contaminants orgànics (TrOC -*trace organic contaminants*-). Estudis recents han aplicat amb èxit aquests enzims per eliminar el TrOC de fases aquoses (Yang, et al., 2013).

En l'estudi es van utilitzar dues ligninases, una manganasa peroxidasa (MnP) i una lacasa. MnP és un enzim, dependent del peròxid d'hidrogen (H_2O_2), que conté un grup hemo i que utilitza Mn^{+2} com a mediador redox. L'enzim presenta un lloc d'unió a

manganès, i la seva funció principal és oxidar Mn^{+2} a Mn^{+3} . El Mn^{+3} és un oxidant eficaç dels substrats fenòlics (Hofrichter, 2002; Martínez, 2002). La lacasa és un fenol oxidasa que conté coure i que no requereix de H_2O_2 per oxidar els substrats; de manera alternativa, els electrons es transfereixen a l'oxigen molecular per formar aigua (Mayer i Staples, 2002).

Execució del tractament: Les mostres van ser sotmeses a un tractament solvent i un tractament enzimàtic de la següent manera:

Control 1: rentat amb aigua destil·lada únicament

Control 2: ús d'enzims i rentat amb aigua

Control 3: tractament amb dissolvents i rentat amb aigua

Tots els experiments (sis) van ser sotmesos a tractaments amb solvents i enzimàtics amb enzims lítics i quitinases. Les mostres 1-3 van ser tractades amb lacasa mentre que les mostres 4-6 es van tractar amb manganasa peroxidasa.

Tractament amb dissolvents: es va utilitzar una seqüència de dissolvents per proporcionar un ambient hidròfil favorable per al posterior atac enzimàtic amb quitinasa i altres enzims lítics. Els dissolvents escollits van ser: ciclohexà, dimetil·èter, trihidrofurà (THF), acetona i alcohol etílic. Es van aplicar seqüencialment de menys a més polar. Les mostres de paper es van submergir en cadascun dels dissolvents durant deu minuts, es van rentar en aigua destil·lada i després es van tractar enzimàticament. Tal i com s'ha esmentat anteriorment, en l'estudi en qüestió es van preparar tres controls diferents: el control 1 no va ser sotmès ni al dissolvent ni al tractament enzimàtic, el control 2 només es va sotmetre al tractament enzimàtic i el control 3 només es va sotmetre al tractament amb dissolvent.

Tractament enzimàtic: es van utilitzar dos conjunts d'enzims. El primer conjunt va ser escollit per digerir els principals components de la paret cel·lular fúngica dels basidiomicets, enzims que contenen activitat de glucanases (0,38 unitats), proteasa (0,85 unitats) i lítica cel·lular (2153 unitats, SIGMA L8757); i quitinasa (2,5 unitats; SIGMA C6137). El segon conjunt es va escollir per digerir de manera no específica la melanina de la paret cel·lular del fong, la manganasa peroxidasa (MnP, 600 unitats; Tienzymes, Inc.) o lacasa (1500 unitats; Tienzyme, Inc.). Els enzims es van aplicar seqüencialment a les mostres de paper afegint 1 ml d'enzim començant per enzims de lisis seguits de quitinasa i acabant amb el MnP (manganasa peroxidasa) o amb la lacasa. En el cas de MnP (manganasa peroxidasa), es van afegir també els següents reactius com a cofactors: 10 μM H_2O_2 , 0,2 M de tartrat de sodi i 0,1 M de sulfat de manganès. Per a cadascun dels tractaments enzimàtics, les mostres es van incubar en tubs d'1,5 ml durant 24 hores a 32°C.

L'estudi va concloure que l'aplicació de l'ús de ligninases en particular Manganasa peroxidasa (MnP) i la lacasa per trencar els punts fúngics pigmentats en les superfícies del paper. Tot i que l'avaluació del tractament enzimàtic proposat en l'estudi en qüestió mitjançant la colorimetria va indicar que es produïa un aclariment important de les taques fúngiques, les micrografies de SEM van mostrar que les ligninases també

produeixen una distorsió de l'estructura de la fibra del paper. Així, l'aspecte visual de les mostres després del tractament no era del tot satisfactori des del punt de vista del conservador.

6. Resultats i conclusions

Els criteris de conservació i restauració en documents d'obra gràfica i paper designen els tractaments d'eliminació de taques com a intervencions complementàries a dur a terme únicament en cas de necessitat extrema. En el cas de les taques produïdes per microorganismes com fongs, donades les característiques dels compostos pigmentaris, la dificultat en els seu procés d'eliminació i la fragilitat en la que usualment es troba el substrat, el criteri és la no intervenció.

Les taques però, també poden danyar greument els artefactes no només en valor sinó en una possible corrosió. El creixement del fong no només deteriora l'estructura del paper, sinó que també restringeix de forma permanent l'aparença visual del bé en qüestió. Per tant, la neteja d'aquests béns és necessària per disminuir els danys posteriors de la contaminació i millorar l'estètica de les obres.

No obstant, la neteja d'artefactes de paper representa una de les operacions més delicades de restauració, ja que és potencialment invasiva per als materials originals, i és completament irreversible. El rentat per immersió, el procés tradicional, sol implicar un impacte substancial sobre l'estructura morfològica original del paper i pot ser perillós per a les tintes i pigments sensibles a l'aigua. A més, és important que el temps del procés de neteja estigui optimitzat per eliminar els contaminants, minimitzant així els tractaments invasius i els costos de temps (Michelia, Mazzuca, Palleschi, & Palleschi, 2016).

Així l'objectiu esdevé la cerca de processos de neteja, és a dir de l'eliminació de matèries alienes, sense l'afectació de l'original. Es fa necessària una acció de neteja controlada i selectiva.

A través d'una revisió bibliogràfica és possible traçar un recorregut històric de les diverses proves i errors per tal d'analitzar els punts forts i febles de cada procés i avançar fins a poder revertir els efectes pigmentaris d'aquests metabòlits secundaris.

A continuació es presenta una taula amb els resultats obtinguts d'aquest anàlisi bibliogràfic sobre els tractaments utilitzats per a l'eliminació de taques en paper causades per microorganismes fúngics:

Mètodes d'alteració

1. BLANQUEJANTS

<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Banys en productes oxidatius i reductor - Materials: Peròxid d'hidrogen, Borohidrur de sodi i/o blanqueig per llum - Temps: Diversos minuts, variable segons el cas 	<ul style="list-style-type: none"> × Reparació de les taques 	
---	---	--

Mètodes d'eliminació

1. LÀSER

<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Evaporació dels compostos pigmentaris per fenòmens fotomètrics i fotomecànics - Materials: Longituds d'ona de 532 nm - Incidència polsada - Temps: 30s-60min 	<ul style="list-style-type: none"> × Degradació per descomposició fotomètrica de la cel·lulosa 	
---	---	--

2. ELECTROQUÍMICA

<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Degradació de les taques orgàniques a partir de radicals hidroxil - Materials: Elèctrode de PbO₂ (ànode) i ploma d'hidrogel composta d'òxid de grafè/poliacrilamida / Montmoril·lonita (rGPM) - Temps: 6min a 8mA/cm² 	<ul style="list-style-type: none"> × Petit efecte en el rendiment mecànic del paper originat per l'aigua ! Mètode aquós 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Eliminació de taques orgàniques gairebé per complet sense alteració del suport o pigments minerals originals ✓ Ànode i càtode reutilitzables diverses vegades
---	---	--

3. DISSOLVENTS ORGÀNICS	<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Banys en dissolvents orgànics - Materials: N,N-dimetilformamida, 1,4-dioxà i/o Piridina - Temps: períodes llargs de 24h 	<ul style="list-style-type: none"> × Toxicitat × Difusió extensa de substàncies dissoltes × Decadència de les propietats mecàniques del substrat per acceleració d'oxidacions i hidròlisis 	
4. SOLUCIONS ALCALINES	<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Banys en solucions alcalines - Materials: hidròxid de calci o magnesi i/o hidròxid d'amoni - Temps: Diversos minuts, variable segons el cas 	<ul style="list-style-type: none"> × Ús de productes amb efecte blanquejant × Necessitat de pHs elevats per efectivitat ! Mètode aquós 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Força eficaços en la majoria de casos
5. ENZIMS	<ul style="list-style-type: none"> - Descripció: Ús d'enzims per a l'eliminació de taques melanitzades i traces de contaminants orgànics - Materials: Manganasa peroxidasa i/o Lacasa - Temps: Diversos minuts, variable segons el cas 	<ul style="list-style-type: none"> × Distorsió de l'estructura de la fibra del paper × Resultats no molt satisfactoris visualment ! Mètode aquós 	

Les taques produïdes per fongs són resultat de productes metabòlics secundaris dipositats entre les fibres del suport. Donada la seva procedència i naturalesa, aquests compostos haurien de poder ser eliminats mitjançant l'ús de dissolvents adequats. Revisant la bibliografia dels pigments, la seva òptima solubilitat es troba entre els dissolvents orgànics, en concret l'etanol en el cas de les Azaphilones i el ciclohexà per als carotenoides. Tot i això, els dissolvents orgànics usats per als tractaments de conservació i restauració en paper han estat la N,N-dimetilformamida, el 1,4-dioxà o la piridina principalment. Aquests dissolvents no només presenten inconvenients a nivell de salut per al conservador sinó que provoquen una decadència en les propietats mecàniques del substrat accelerant processos d'oxidació i hidròlisis. De la mateixa manera, l'escàs control en la manipulació del dissolvent i la necessitat de tractaments de

llarga durada augmenten el perill de difusió de substàncies dissoltes en el substrat i la creació d'aurèoles.

Amb l'objectiu de solucionar aquests inconvenients s'han cercat tractaments alternatius. Entre aquests es troben mètodes de major especificitat com l'ús d'enzims, amb la finalitat d'actuar únicament sobre els productes pigmentaris ometent una interacció amb el substrat o altres elements de l'obra. Concretament l'objectiu d'aquestes enzims han estat les molècules de melanina que presenten major resistència a la resta de tractaments. Tot i la coherència teòrica del procés, la pràctica no mostra resultats visualment prou satisfactoris a la vegada que produeix una distorsió de la fibra del paper.

Seguint els prometedors progressos de les neteges amb làser en el camp de la pedra, la pintura mural, l'arqueologia o fins i tot la pintura sobre tela, es dona una oportunitat a aquest mètode en la restauració de paper eliminant així el factor de contacte amb el substrat. Les neteges es duen a terme amb un làser polsat Nd: YAG (Spectron Laser Systems, SL 852) que a 532 nm té un temps de polsada de 13 ns, una velocitat de repetició de 1,25 Hz i la mida del punt de $r=0,8$ mm, sense sobrepassar el llindar d'ablació del substrat. Aquest mètode però, arriba a produir degradacions per descomposició fotomètrica de la cel·lulosa.

Tot i aquestes innovacions els tractaments més utilitzats han estat l'ús de solucions alcalines. Aquestes segueixen la línia dels dissolvents orgànics en quant a mètodes d'ús però amb l'avantatge de no ser tòxics i de no contribuir en l'acceleració de processos d'oxidació i hidròlisis. Les solucions en qüestió han estat l'hidròxid tant de calci com de magnesi i/o l'hidròxid d'amoni. Tots tres a un pH de 8'5. Donat aquest valor de pH elevat el tractament cal que sigui generalitzat en tot el document per evitar degradacions en punts de contacte entre zones tractades i no tractades, i de la mateixa manera que amb els dissolvents orgànics, evitar una difusió extensa de substàncies dissoltes i la formació d'aurèoles.

Tot i la notable efectivitat que ha demostrat aquest mètode en diversos casos el seu funcionament no és sistemàtic i els resultats poden venir donats de l'efecte blanquejant que presenten aquests productes. Així l'ús de solucions alcalines és un mètode atènyer en compte en l'eliminació de taques de fongs en casos d'extrema necessitat quan no es tenen els mitjans necessaris per a l'eliminació electroquímica.

El mètode d'eliminació de taques per mitja d'un circuit electroquímico ha demostrat ser el mètode més efectiu i amb menor impacte sobre l'obra original. Aquest es basa en la degradació dels compostos orgànics de les taques per mitjà de radicals hidroxil generats a través de la descàrrega anòdica d'aigua a la superfície de l'elèctrode de PbO_2 . La taca col·locada entre els dos elèctrodes (ànode i càtode) -*figura 17*- carregats amb corrent continu durant un temps establert es veu alterada per els radicals que trenquen els enllaços químics dels seus compostos i s'eliminen de la superfície.

L'obtenció dels radicals requereix del contacte amb aigua que provoca un petit efecte en el rendiment mecànic del paper. Tenint en compte però aquest efecte, propi de qualsevol procés aquós, l'eliminació de les taques orgàniques és du a terme gairebé per complet

sense alterar el suport o pigments minerals originals. A més es tracta d'un procés de neteja localitzat que presenta un gran control sobre la zona intervinguda, i sostenible, és a dir, que l'ànode i el càtode poden ser reutilitzats diverses vegades sense perdre efectivitat.

És evident per tant que les taques produïdes per fongs, donada la seva naturalesa orgànica i interacció amb el substrat, són teòricament reversibles. La dificultat del procés, i possiblement la raó per la qual s'obvia el tractament de les taques, rau en la combinació de diversos factors. Entre aquests les característiques morfològiques del substrat, en el qual queden atrapats els compostos cromòfors, i la combinació de substàncies solubles a través de tractaments mínimament agressius, amb un suport de naturalesa "delicada" debilitat per el creixement dels microorganismes ens qüestió.

El treball ha permès aprofundir en la temàtica de les alteracions produïdes per microorganismes fúngics, temàtica poc tractada en el grau, i la qual es presentava de gran interès personal. Així l'estudi ha ofert la possibilitat de donar resposta als diversos interrogants plantejats a l'inici com: la morfologia i desenvolupament dels fongs responsables d'atacs en paper, la naturalesa química dels productes cromòfors, el tractaments emprats per a la seva eliminació i la veracitat i/o justificació de la declaració d'irreversibilitat d'aquestes alteracions.

7. Glossari

Ablació làser: Procediment utilitzat per treure o extreure el material de la superfície d'un sòlid (de manera ocasional es pot usar en líquids) mitjançant la irradiació d'aquest amb un raig làser.

Ameboide: Terme referit a les cèl·lules que es mouen i alimenten mitjançant projeccions temporals anomenades pseudòpodes (falsos peus).

Àpex: Extrem superior, punta d'un òrgan, d'una part del cos.

Ascstroma: Estroma amb asc. Tipus d'ascocarp format per un estroma dins del qual es formen cambres que contenen els asc.

Biosorció: Unió d'ions metàl·lics amb proteïnes d'unió metàl·lica presents a la paret cel·lular. Es tracta d'un procés fisicoquímic que té lloc de manera natural en certes biomasses i que permet concentrar i lligar contaminants a la seva estructura cel·lular de manera passiva.

Bitunicat: Relatiu als asc que presenta una paret interna que s'estira per sobre de la paret externa en el moment d'alliberar les ascòspores.

Cariogàmia: Fase de la fecundació (o singàmia) en la qual té lloc la fusió dels nuclis genitors.

Cenòcit: Cèl·lula multinucleada resultat de múltiples divisions nuclears sense la seva citocinesi acompanyant, en contrast amb un sincici (cèl·lula multinucleada resultat de múltiples fusions cel·lulars de cèl·lules unicel·lulars) el qual resulta de l'agregació cel·lular seguida per la dissolució de la membrana cel·lular dins la massa.

Clade: També conegut com a grup monofilètic, és un grup d'organismes que consisteix en un avantpassat comú i tots els seus descendents lineals, i representa una sola " branca " al " arbre de la vida " .

Dicarió: Característica del nucli cel·lular present únicament en certs fongs, en els quals després de la plasmogàmia els dos nuclis compatibles de dues cèl·lules es desaparellen i cohabituen sense cariogàmia dins les cèl·lules de les hifes.

Escleroci: És una massa compacta de micelis de fong endurits que contenen reserves alimentàries. Una de les funcions dels esclerocis és la de sobreviure les condicions ambientals extremes.

Esporang: Òrgan reproductor present en determinats organismes amb la funció de produir i emmagatzemar les espores.

Estroma: Estructura fúngica somàtics compacta en la qual es formen fructificacions.

Expansor de feixos Keplerian (laser beam expander): Augmenta el diàmetre d'un feix d'entrada col·limat a un feix de sortida col·limat més gran.

Glucan: Tipus de polisacàrids formats específicament per unitats monomèriques del monosacàrid D-glucosa, units entre si per mitjà d'enllaços glicosídics.

Hialí: Transparent com el cristall, hialoide.

Llum col·limada: Llum amb els raigs paral·lels entre si. Es pot aconseguir de diferents formes sent la més senzilla fent-la incidir en un mirall còncav.

Melanoidines: Polímers heterogenis d'elevat pes molecular que es formen a través de la combinació de sucres i aminoàcids (a través de la reacció de Maillard) a altes temperatures i baixa activitat en aigua.

Micorriza: Relació simbiòtica (generalment del tipus mutualista, però ocasionalment feblement patogènica) que s'estableix entre un fong i les arrels de les plantes vasculars.

Monofilètic: Agrupació taxonòmica que conté exclusivament espècies que comparteixen un antecessor comú i que engloba totes les espècies que en descendeixen.

Oligoelements: Element químic necessari com a nutrient essencial per part dels organismes per realitzar funcions necessàries per a la vida que es troba però en l'organisme en proporcions baixes (<0,2% de la seva composició química).

Organotina: Compostos químics a base d'estany amb substituents d'hidrocarburs.

Parafiletisme: S'aplica a un grup tots els integrants de qual tenen un ancestre comú, però no tots els descendents d'aquest ancestre són presents al grup.

Plasmogàmia: Fase de la fecundació en la qual es produeix fusió dels citoplasmes dels dos gàmetes o de les dues cèl·lules somàtiques haploides.

Regió -específic: Reacció química en la que un isòmer estructural és produït exclusivament quan altres isòmers són també teòricament possibles.

Reologia: Estudi de la deformació i el flux de la matèria. S'ocupa principalment de l'estat líquid però també d'estats tous de la matèria o de sòlids sota condicions en les quals responen com un flux plàstic en lloc de deformar-se elàsticament en resposta a la força aplicada.

Sinapomorfa: Caràcter derivat (o apomòrfic), compartit per dos o més tàxons. El fet que estigui compartit per almenys dos tàxons certifica que la derivació no és simplement contingent sinó que és persistent i característica de noves espècies viables.

Solvatocromisme: Capacitat d'una substància química de canviar de color segons la polaritat química del dissolvent en la que està dissolta. Aquest pot ser negatiu (desplaçament a blau. Produeix longituds d'ona menors) o positiu (desplaçament a vermell. Produeix longituds d'ona majors)

Teleomorfe: Fase ascògena en els ascomicets en la qual es produeixen asc

Unilocular: Que es compon d'una sola cavitat.

8. Bibliografia

- Abrahão Machado, E. C., Ambrosano, L., Lage, R., Martinez Zugaib Abdalla, B., & Costa, A. (2017). Nutraceuticals for Healthy Skin Aging. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging*, Pages 273-281. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012805376800023X>
- Akiyama, H., Inoue, T., Tajima, N., Kuroda, R., & Imai, Y. (2014). Multiple optical properties of a naphthoquinone pigment: 2-methyl-3-(hydroxyphenylthio)-1,4-naphthalenedione. *Organic & Biomolecular Chemistry*(40), Page 7867 to 8101. Recuperado el abril de 2019, de <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ob/c40b01058b/unauth#!divAbstract>
- Alexopoulou, I., & Zervos, S. (2016). Paper conservation methods: An international survey. *Journal of Cultural Heritage*, 922-930. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1296207416300401?via%3Dihub>
- Antoni Aguilera i Palasí, A. A. (2004). *Diccionari de botànica*. València: Universitat de València. Recuperado el abril de 2019, de https://books.google.es/books?id=J_Dbxz_je2oC&pg=PA111&lpq=PA111&dq=conidi&source=bl&ots=dSbACZaocI&sig=ACfU3U14FOU4kuI4b5mD3jPxeaJXCOywfA&hl=ca&sa=X&ved=2ahUKEwixnZbLm4vhAhVBQxUIHfzGCo4Q6AEwDHoECAUQAQ#v=snippet&q=ascostromata&f=false
- Arai, H. (1987). *On the foxing-causing fungi*. Sydney: ICOM Comitee for Conservation, 8th Triennial Meeting.
- Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques (AFMB). (17 de abril de 2019). *Carbohydrate-Active Enzymes*. Recuperado el abril de 2019, de Glycoside Hydrolase family classification: <http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>
- Austin, M. B., & Noel, J. P. (2003). The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Royal Society of Chemistry*, 79-110. doi:10.1039/B100917F
- Avalos, J., Prado-Cabrero, A., & Estrada, A. F. (2012). Neurosporaxanthin Production by Neurospora and Fusarium. *Microbial Carotenoids From Fungi*, pp 263-274. Recuperado el abril de 2019, de https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-61779-918-1_18
- Battaglia, E., Visser, L., Nijssen, A., van Veluw, G., B.Wösten, H., & de Vries, R. (2011). Analysis of regulation of pentose utilisation in *Aspergillus niger* reveals evolutionary adaptations in Eurotiales. *Studies in Mycology*, Pages 31-38. Recuperado el abril de 2019, de <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0166061614600567?token=7F9FoF8A>

9BDCA4394A686D49333239140A7FBCFBF8ADB6D9F194C7C147E3118F3D2EE37
91221861F93C4158EA2732831

- Bello Urgellès, C., & Borrell Crehuet, À. (2007). *Protocol d'actuació en cas de desastre en els arxius*. Barcelona: Diputació de Barcelona. Recuperado el abril de 2019, de <https://www1.diba.cat/uliep/pdf/37955.pdf>
- Berg JM, T. J. (2002). The Citric Acid Cycle. En T. J. Berg JM, *Biochemistry* (5th edition ed., pág. chapter 17). New York: W H Freeman. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21163/>
- Biblioteca de Catalunya i Direcció general del Patrimoni Cultural. (2006). *La problemàtica dels fongs en el patrimoni documental*. Barcelona: T.G. Hostench.
- Bourne, Y., & Henrissat, B. (1 de setembre de 2001). Glycoside hydrolases and glycosyltransferases: families and functional modules. *Current Opinion in Structural Biology, Volume 11*(Issue 5), Pages 593-600. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959440X00002530?via%3Dihub>
- BRENDA©. (gener de 2019). *The Comprehensive Enzyme Information System*. Recuperado el abril de 2019, de EC Explorer: [https://www.brenda-enzymes.org/ecexplorer.php?browser=1&f\[nodes\]=170,192&f\[action\]=close&f\[change\]=170](https://www.brenda-enzymes.org/ecexplorer.php?browser=1&f[nodes]=170,192&f[action]=close&f[change]=170)
- Byrne, A., Ravnik, V., & Kosta, L. (1976). Trace element concentrations in higher fungi. *Science of the Total Environment, 6*(1), Pages 65-78. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048969776900073>
- Carme BELLO URGELLÈS, À. B. (2003). Conservació preventiva dels fons bibliogràfics Control i avaluació de l'estat del fons. *item revista de biblioteconomia i documentació*(35), 73-98. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.raco.cat/index.php/Item/article/viewFile/22607/22441>
- Caseri, W. (2014). Initial organotin chemistry. *Journal of Organometallic Chemistry, 751*, Pages 20-24. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022328X13006311>
- ChemicalBook. (2006). *ChemicalBook*. Recuperado el maig de 2019, de Quinones: https://www.chemicalbook.com/ProductCatalog_EN/1316.htm
- Ciofini, D., Osticioli, I., Micheli, S., Montalbano, L., & Siano, S. (2013). Laser removal of mold and foxing stains from paper artifacts: preliminary investigation. *Proc SPIE, 1-12*. Recuperado el maig de 2019, de https://www.academia.edu/19464819/Laser_removal_of_mold_and_foxing_stains_from_paper_artifacts_

- Cole, G. T. (1996). Basic Biology of Fungi. En U. o. Galveston, *Medical Microbiology* (pág. Chapter 73). Texas: Baron S, editor. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8099/>
- CommonOrganicChemistry. (s.f.). *Sodium Borohydride*. Recuperado el maig de 2019, de http://commonorganicchemistry.com/Common_Reagents/Sodium_Borohydride/Sodium%20Borohydride.htm
- Craft, N. E., & Soares, J. H. (1992). Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and beta-carotene in organic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(3), 431-434. Recuperado el maig de 2019, de <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00015a013>
- Creative Enzymes. (2019). *Products*. Recuperado el abril de 2019, de Learn More Professional cost effective: <https://www.creative-enzymes.com/search.html?keyword=glycosylase&searchtype=1&page=2>
- Dandawate, P. R., Vyas, A. C., Padhye, S. B., Singh, M. W., & Baruah, J. B. (2010). Perspectives on medicinal properties of benzoquinone compounds. *Mini Rev Med Chem*, 10(5), 436-54. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20370705>
- Deacon, J. (2006). *Fungal Biology*. Edinburgh, UK: Blackwell Publishing Ltd. Recuperado el abril de 2019, de <https://fcaib.edu.ng/books/Agriculture/Fungal%20Biology.pdf>
- Derow, J., & Owen, A. (2 de febrer de 1992). 13. *Foxing*. Recuperado el maig de 2019, de http://cool.conservation-us.org/coolaic/sg/bpg/pcc/13_foxing.pdf
- Díaz-Sánchez, V., Estrada, A. F., Trautmann, D., Al-Babili, S., & Avalos, J. (2011). The gene carD encodes the aldehyde dehydrogenase responsible for neurosporaxanthin biosynthesis in *Fusarium fujikuroi*. *The FEBS journal*, 3164-3177. Recuperado el abril de 2019, de <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1742-4658.2011.08242.x>
- Doraiswamy, D. (2002). The Origins of Rheology: A Short Historical Excursion. *DuPont iTechnologies*, 1-9. Recuperado el maig de 2019, de http://www.rheology.org/sor/publications/Rheology_B/Jano2/Origin_of_Rheology.pdf
- EPA. (novembre de 2017). *Environmental Protection Agency*. Recuperado el maig de 2019, de Technical Fact Sheet – 1,4-Dioxane: https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/ffro_factsheet_contaminant_14-dioxane_january2014_final.pdf

- European Bioinformatics Institute. (15 de desembre de 2016). *ChEBI*. Recuperado el maig de 2019, de 17741 - N,N-dimethylformamide: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:17741>
- European Chemicals Agency. (2018). *Información sobre la sustancia*. Obtenido de 1,4-dioxane: <https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.004.239>
- ExpASY. (octubre de 2018). *SIB Bioinformatics Resource Portal*. Recuperado el abril de 2019, de ENZYME - The Enzyme Data Bank: <https://enzyme.expasy.org/enzyme-byclass.html>
- Florian, M.-L. (1993). Conidial Fungi (Mould) Activity on Artifact Materials-A new Look at Prevention, Control, and Eradication. En I. C. Conservation, *10th Triennial Meeting* (Vol. II, págs. 868-873). Washington, DC, USA: comité de l'ICOM pour la conservation.
- Florian, M.-L. (1997). *Heritage eaters: Insects & Fungi in Heritage Collections*. Londres: James & James (Science Publishers) Ltd.
- Florian, M.-L. E. (2004). *Fungal Facts. Solving fungal problems in heritage collections*. London: Archetype Publications Ltd.
- Foster, J. W. (1939). The Heavy Metal Nutrition of Fungi. *The Botanical Review*, 207-239. Recuperado el abril de 2019, de https://www.jstor.org/stable/4353205?seq=1#page_scan_tab_contents
- Garcia-Vaquero, M., Rajauria, G., Tiwari, B., Sweeney, T., & O'Doherty, J. (2018). Extraction and Yield Optimisation of Fucose, Glucans and Associated Antioxidant Activities from *Laminaria digitata* by Applying Response Surface Methodology to High Intensity Ultrasound-Assisted Extraction. *Marine drugs*, 16(8), 257. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.mdpi.com/1660-3397/16/8/257>
- Griffin, D. (1981). *Fungal Physiology*. New York: Wiley-Interscience Publication.
- Hanson, J. R. (2008). *Chemistry of Fungi*. Brighton: Royal Society of Chemistry. Recuperado el abril de 2019, de <https://books.google.es/books?id=nYNPSsC-sFQC&pg=PA127&lpq=PA127&dq=quinones+in+fungi&source=bl&ots=hYZBasL6P9&sig=ACfU3U1VcCzURw7bJ2qN4dCccj4omYf8VA&hl=ca&sa=X&ved=2ahUKewiLrqSE2JrhAhVFBGMBHRinAlkQ6AEwA3oECAYQAQ#v=onepage&q=quinones%20in%20fungi&f=false>
- Hassan, R. A. (2015). BEHAVIOR OF ARCHAEOLOGICAL PAPER AFTER CLEANING BY ORGANIC SOLVENTS UNDER HEAT ACCELERATED AGING. *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*, 15(3), pp. 141-150. Recuperado el maig de 2019, de <http://maajournal.com/Issues/2015/Vol15-3/Full13.pdf>

- Hawksworth, D., Kirk, P. M., Sutton, B. C., & Pegler, D. N. (1996). Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38(4). Recuperado el maig de 2019, de https://www.researchgate.net/publication/239377423_Ainsworth_Bisby's_Dictionary_of_the_Fungi
- Henrissat, B., & Davies, G. (1 de setembre de 2001). Structural and sequence-based classification of glycoside hydrolases. *Current Opinion in Structural Biology*, Volume 7(Issue 5), Pages 637-644. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959440X97800723?via%3Dihub>
- Hertweck, C. (2009). The Biosynthetic Logic of Polyketide Diversity. *Angewandte International edition chemie*, Volume 48(Issue 26), Pages 4688-4716. Recuperado el abril de 2019, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.200806121>
- Huhndorf, S., Miller, A., & Fernández, F. (2004). Molecular systematics of the Sordariales: the order and the family Lasiosphaeriaceae redefined. *Mycologia*, Pages 368-387. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15572536.2005.11832982>
- Hyde, K., B. Gareth Jones, E., Liu, J.-K., Ariyawansa, H., Boehm, E., & Boonmee, S. (2013). Families of Dothideomycetes. *Fungal Diversity*, 63:1-313. doi:10.1007/s13225-013-0263-4
- IARC MONOGRAPHS. (2018). PYRIDINE. *IARC MONOGRAPHS*, 503-529. Recuperado el maig de 2019, de <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono77-21.pdf>
- ibwf. (02 de juny de 2017). *Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung*. Recuperado el abril de 2019, de Fungal enzymes: <http://www.ibwf.de/index.php/fields-of-competence/enzymes-and-heterologous-expression-systems/fungal-enzymes>
- Jeffers, G. W. (1936). THE BLACK WIDOW SPIDER IN VIRGINIA. *Science*, 84(2189), pp. 533-534. Recuperado el maig de 2019, de <https://science.sciencemag.org/content/84/2189/533.2>
- Khurana, N., Sharma, S. B., Jafri, A. A., & Sharma, A. M. (2017). Azaphilones: Their Role in Various Biological Activities. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, Volume 7(Issue 60), 34-43. Recuperado el abril de 2019, de <http://www.alliedacademies.org/articles/azaphilones-their-role-in-various-biological-activities.pdf>
- Kim, S., J, C., T, C., A, G., J, H., S, H., . . . EE, B. (2019). *PubChem Database*. Recuperado el abril de 2019, de Quinone: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4650>

- Kolar, J., Strlič, M., Müller-Hess, D., Gruber, A., Troschke, K., Pentzien, S., & Kautek, W. (2003). Laser cleaning of paper using Nd:YAG laser running at 532 nm. *Journal of Cultural Heritage*, 4(1), 185s–187s. Recuperado el maig de 2019, de <https://pdf.sciencedirectassets.com/272126/1-s2.0-S1296207400X00155/1-s2.0-S1296207402011962/main.pdf?x-amz-security-token=AgoJb3JpZ2luX2VjECgaCXVzLWVhc3QtMSJHMEUCIQCVfCJIpeEoFFxPbpifmd8ovpsPVJgismRlkHJ4o6vXNAIlgASlpoOCtrVwPxEGier9558WqamqubEEAlQasynar584q>
- Kolar, J., Strlič, M., Müller-Hess, D., Gruber, A., Troschke, K., Pentzien, S., & Kautek, W. (2003). Laser cleaning of paper using Nd:YAG laser running at 532 nm. *Journal of Cultural Heritage*, 4(1), Pages 185-187. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1296207402011962>
- Kuhn, P. J., Trinci, A. P., Jung, M. J., Goosey, M. W., & Copping, L. G. (2012). *Biochemistry of Cell Walls and Membranes in Fungi*. New York: Springer Science & Business Media. Recuperado el abril de 2019, de https://books.google.es/books?id=LIToCAAQBAJ&pg=PA96&lpg=PA96&dq=amorphous+glucans&source=bl&ots=HdHYNhx3x&sig=ACfU3U3AzajzyQpRVct_bDnKweonHa3xYg&hl=ca&sa=X&ved=2ahUKEwi58Nj2647hAhW041UKHXWiAY8Q6AEwAnoECAgQAQ#v=onepage&q=amorphous%20glucans&f=false
- Law, J. (2017). *A Dictionary of Science*. Oxford: Oxford University Press. Recuperado el abril de 2019, de https://books.google.es/books?id=4oRdDgAAQBAJ&pg=PT592&lpg=PT592&dq=fungal+stain+removal+with+calcium+hydroxide&source=bl&ots=m3BUPoFLSo&sig=ACfU3Uotg6CgZbHSNuFmjLi2v9JqF9Axjw&hl=ca&sa=X&ved=2ahUKEwia_bbluprhAhUExoUKHZy2DDIQ6AEwBXoECAgQAQ#v=onepage&q=fung
- Limón, M. C., & Avalos, J. (2015). Biological roles of fungal carotenoids. *Current Genetics journal*, 61(3), 309-24. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25284291>
- Llimona, X., Aguasca, M., Barreno, E., Calvo, M., Boqueras, M., Cabra, J., . . . Descals, E. (1991). *Història Natural dels Països Catalans. Fongs i líquens*. Barcelona: Enciclopèdia Catalana S.A.
- Londero, P., Corda, L., Ciofini, D., Giuntini, C., & Leona, M. (2016). Laser Cleaning of a First Phase Navajo Wool Chief's Blanket by Nd:YAG. *Proceedings of the International Conference LACONA XI, XI*, 77-94. Recuperado el maig de 2019, de https://wydawnictwo.umk.pl/upload/files/OPEN%20ACCESS/Lasers%20oin%20the%20Conservation/Nowe%20pliki/Lacona_11_do%20internetu.pdf
- LUMITOS AG. (2019). *Quimica.es*. Recuperado el abril de 2019, de Neurosporaxantina: <https://www.quimica.es/enciclopedia/Neurosporaxantina.html>

- Macmillan Learning. (desembre de 2018). *hillisze_ch22*. Recuperado el març de 2019, de http://www.macmillanhighered.com/BrainHoney/Resource/6716/digital_first_content/trunk/test/hillisze/hillisze_ch22_4.html
- Malhotra Pattani, K. (2010). Chemoprevention of Head and Neck Cancer. *Early Diagnosis and Treatment of Cancer Series: Head and Neck Cancers*, Pages 81-93. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416052029500119>
- Malloch, D. (02 de desembre de 2017). *the Mycology Web Pages*. Recuperado el abril de 2019, de Fungi reproducing asexually by means of conidia: <http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/NaturalHistoryOfFungi/Home.html>
- Mapari, S. A., Thrane, U., & Meyer, A. S. (2010). Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? *Trends in Biotechnology*, 28(6), P300-307. Recuperado el abril de 2019, de [https://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799\(10\)00052-1](https://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799(10)00052-1)
- Mata-Gómez, L., Montañez, J., Méndez-Zavala, A., & Noé Aguilar, C. (2014). Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial Cell Factories journal*, 13: 12. doi:10.1186/1475-2859-13-12
- Melo, D. C. (juliol de 2017). *Fungal stains on paper: Melanins produced by fungi*. Recuperado el abril de 2019, de Repositório Universidades Nova: https://run.unl.pt/bitstream/10362/25628/1/Melo_2017.pdf
- Melo, D., Sequeira, S., Lopes, J., & Macedo, M. (2017). Stains versus colourants produced by fungi colonising paper cultural heritage: A review. *Journal of Cultural Heritage*, 161-182. Recuperado el abril de 2019
- MeSH. (s.f.). *Hydrogen Peroxide*. Recuperado el maig de 2019, de National Center for Biotechnology Information: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68006861>
- Michelia, L., Mazzuca, C., Palleschi, A., & Palleschi, G. (2016). Development of a diagnostic and cleaning tool for paper artworks: a case of study. *Microchemical Journal*, 126, Pages 32-41. Recuperado el maig de 2019, de <https://pdf.sciencedirectassets.com/272246/1-s2.0-S0026265X15X00075/1-s2.0-S0026265X1500332X/main.pdf?x-amz-security-token=AgoJb3JpZ2luX2VjECoaCXVzLWVhc3QtMSJGMEQCIECycrThbqTduoUxGIYJoG0iKRhiNgbopIeT%2BwwvNoBUAiAVF4lhQBVA7MRO8zkkQz6xnsMorrshw1h99cF1DahksQS>
- Miura, Y., Kondo, K., Saito, T., Shimada, H., Fraser, P. D., & Misawa, N. (1998). Production of the Carotenoids Lycopene, β -Carotene, and Astaxanthin in the Food Yeast *Candida utilis*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 64(4), p. 1226-1229. Recuperado el abril de 2019, de <https://aem.asm.org/content/aem/64/4/1226.full.pdf>

- Molina, R. T. (1 de febrer de 2018). *Plantas y hongos*. Recuperado el abril de 2019, de Glosario: <http://www.plantasyhongos.es/glosario/glosario.htm>
- Moule Bowen, H. J. (1966). *Trace elements in biochemistry*. Michigan: Academic Press. Recuperado el maig de 2019, de https://books.google.es/books?id=AH2T3XoenHkC&hl=ca&source=gbs_book_other_versions
- National Center for Biotechnology Information. (2019). *PubChem Database*. Recuperado el maig de 2019, de 1,4-Dioxane: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_4-dioxane
- National Center for Biotechnology Information. (2019). *PubChem Database*. Recuperado el maig de 2019, de Pyridine: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/pyridine>
- National Institute for Occupational Safety and Health. (1990). Preventing Adverse Health Effects from Exposure to: Dimethylformamide (DMF). *NIOSH Alert*, 90-105. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.cdc.gov/niosh/docs/90-105/default.html>
- Nieto-Fernández, F. E., Centeno, S. A., Wypyski, M. T., Di Bonaventura, M. P., Baldwin, A. M., & Koestler, R. J. (2003). Enzymatic approach to removal of fungal spots from drawings on paper. En R. J. Koestler, & V. H. Koestler, *Art, Biology, and Conservation: Biodeterioration of Works of Art* (págs. 110-127). New York: The Metropolitan Museum of Art. Recuperado el maig de 2019, de https://books.google.es/books?id=Lki8YNJIVh4C&printsec=frontcover&redir_esc=y&hl=ca#v=onepage&q&f=false
- Nosanchuk, J. D., Stark, R. E., & Casadevall, A. (2015). Fungal Melanin: What do We Know About Structure? *Frontiers in Microbiology*, 1463. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4687393/>
- Osmanova, N., Schultze, W., & Ayoub, N. (2010). Azaphilones: a Class of Fungal Metabolites with Diverse Biological Activities. *Phytochemistry Reviews*, 9(2), 315-342. Recuperado el abril de 2019, de https://www.academia.edu/22289875/Azaphilones_a_class_of_fungal_metabolites_with_diverse_biological_activities
- Pombeiro-Sponchiado, S. R., Sousa, G. S., Andrade, J. C., Lisboa, H. F., & Gonçalves, R. C. (2017). Production of Melanin Pigment by Fungi and Its Biotechnological Applications. *Intech. Open Science*, 48-75. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.intechopen.com/books/melanin/production-of-melanin-pigment-by-fungi-and-its-biotechnological-applications>
- Prado Cabrero, A. (2010). *Genes car y enzimas de la carotenogénesis en Fusarium fujikuroi*. Tesis doctoral. Sevilla: Universidad de Sevilla. Recuperado el abril de 2019, de



<https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/78566/PhD%20thesis%20-%20Alfonso%20Prado-Cabrero.pdf?sequence=1>

- Randa, Z., & Kucera, J. (2004). Trace elements in higher fungi (mushrooms) determined by activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 259(1), 99–107. Recuperado el abril de 2019, de https://www.researchgate.net/publication/226326425_Trace_elements_in_higher_fungi_mushrooms_determined_by_activation_analysis
- Ruiz-Herrera, J. (1991). *Fungal Cell Wall: Structure, Synthesis, and Assembly*. Mexico: CRC Press. Recuperado el abril de 2019, de https://books.google.es/books?id=GgFOHp-tiF4C&pg=PA45&lpg=PA45&dq=amorphous+glucans&source=bl&ots=6sQdskA_cG&sig=ACfU3U2aqHHD2hbUDsXGR5jG6z81IwePrQ&hl=ca&sa=X&ved=2ahUKEwi58Nj2647hAhW04IUKHXWiAY8Q6AEwAHoECAYQAAQ#v=onepage&q=amorphous%20glucans&f=false
- Shamim, S. (2017). Biosorption of Heavy Metals. *Intech Open*, 20–51. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.intechopen.com/books/biosorption/biosorption-of-heavy-metals>
- Shigeyasu, K., Mitsunori, O., Hiroaki, T., Hirofumi, H., Chisa, N., Yanmei, Z., . . . Nguyen, C. (2007). Synthesis and properties of polycyclic quinones condensed with 1,6-methano[10]annulene. *Science and Technology of Advanced Materials*, 8(4), Pages 306–317. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1468699607000344>
- SIB Swiss Institute of Bioinformatics. (2018). *ExpASy*. Recuperado el maig de 2019, de Enzyme: <https://enzyme.expasy.org/enzyme-byclass.html>
- Simpson, D., & Amos, S. (2017). Chapter 12 - Other Plant Metabolites. En S. B. Delgoda, *Pharmacognosy. Fundamentals, Applications and Strategies* (págs. Pages 267–280). London: Academic Press. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128021040000123>
- SMITH, M. E., HENKEL, T. W., & ROLLINS, J. A. (2014). How many fungi make sclerotia? *fungus ecology xxx*, 1 a 10. Recuperado el maig de 2019, de <http://tropicalfungi.org/wp-content/uploads/60.-Smith-et-al-2014-Sclerotia-FUNGECOL.pdf>
- Song, Y., Wei, G., & Xiong, R. (2007). Structure and properties of PbO₂-CeO₂anodes on stainless steel. *Electrochimica Acta*, 7022–7027. Recuperado el maig de 2019, de <https://kundoc.com/pdf-structure-and-properties-of-pbo2ceo2-anodes-on-stainless-steel-.html>
- Szczepanowska, H. M., & Moomaw, W. R. (1994). Laser Stain Removal of Fungus-Induced Stains from Paper. *ournal of the American Institute for Conservation*,



- 33(1), pp. 25-32. Recuperado el maig de 2019, de https://www.jstor.org/stable/3179667?seq=1#page_scan_tab_contents
- Szczepanowska, H. M., & Moomaw, W. R. (2013). Laser Stain Removal of Fungus-Induced Stains from Paper. *Journal of the American Institute for Conservation*, 33(1), Pages 25-32. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/019713694806066437>
- Szczepanowska, H., & Lovett, C. M. (2013). A Study of the Removal and Prevention of Fungal Stains on Paper. *Journal of the American Institute for Conservation*, 31(2), Pages 147-160. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/019713692806066664?journalCode=yjac20>
- Thind, K., & Madan, M. (1977). Effects of various trace elements on the growth and sporulation of four fungi. *Mycology*, 115-124. Recuperado el abril de 2019, de https://insa.nic.in/writereaddata/UploadedFiles/PINSA/Vol43B_1977_4_Arto3.pdf
- Tsoi, C., & Khosla, C. (1995). Combinatorial biosynthesis of 'unnatural' natural products: the polyketide example. *Chemistry & Biology. Cell press, Volume 2*(Issue 6), Pages 355-362. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552195902147>
- VELÍŠEK, J., & CEJPEK, K. (2011). Pigments of Higher Fungi: A Review. *Czech J. Food Sci.*, Vol. 29(No. 2), 87-102. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/37205.pdf>
- Wang, H.-Y., Qian, H., & Yao, W.-R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), Pages 573-584. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611004572>
- Wanping, C., Runfa, C., Qingpei, L., Yi, H., Kun, H., Xiaoli, D., . . . Nana, X. (2017). Orange, red, yellow: biosynthesis of azaphilone pigments in *Monascus* fungi. *Chemical Science*, 8(7), 4917-4925. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5603960/>
- Weiyi, W., Yanyan, L., Ruixuan, C., Yanping, H., Wenqian, K., Beibei, Z., . . . Fang, L. (2018). Chlorinated Azaphilone Pigments with Antimicrobial and Cytotoxic Activities Isolated from the Deep Sea Derived Fungus *Chaetomium* sp. NA-S01-R1. *Marine Drugs*, 16(2), 61. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5852489/>
- Wheeler, M. H., & Bell, A. A. (1988). Melanins and Their Importance in Pathogenic Fungi. *Current Topics in Medical Mycology*, pp 338-387. Recuperado el abril de 2019, de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-3730-3_10



- wikipedia. (4 de abril de 2012). Types of Cellulase. Recuperado el abril de 2019, de https://en.wikipedia.org/wiki/File:Types_of_Cellulase2.png
- Xingtang, L., Lizhen, Z., Shirong, L., Xiaoyu, F., Shukun, S., & Daodao, H. (2017). Electrochemical removal of stains from paper cultural relics based on the electrode system of conductive composite hydrogel and PbO₂. *Scientific Reports*, 1-12. Recuperado el maig de 2019, de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5562847/pdf/41598_2017_Article_8907.pdf
- Xu, Y., Sheng, K., Li, C., & Shi, G. (2010). Hidrogel de grafè autoassemblat mitjançant un procés hidrotermal en un sol pas. *AcsNano*, 4(7), 4324-4330. Recuperado el maig de 2019, de [http://dns2.asia.edu.tw/~ysho/YSHO-English/1000%20China%20\(Independent\)/PDF/ACS%20NANO4,%204324.pdf](http://dns2.asia.edu.tw/~ysho/YSHO-English/1000%20China%20(Independent)/PDF/ACS%20NANO4,%204324.pdf)
- Yang, S., Hai, F. I., Nghiem, L. D., Price, W. E., Roddick, F., Moreira, M. T., & Magram, S. F. (2013). Understanding the factors controlling the removal of trace organic contaminants by white-rot fungi and their lignin modifying enzymes: A critical review. *Bioresource Technology*, 141, Pages 97-108. Recuperado el maig de 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413002058>
- YOGESWARI, L. (1948). TRACE ELEMENT NUTRITION OF FUNGI: The Effect of Boron, Zinc and Manganese on Fusarium Species. *Indian Academy of Sciences*, 177-201. Recuperado el abril de 2019, de <https://www.ias.ac.in/article/fulltext/secb/028/06/0177-0201>
- Zanini, A., Trafeli, V., & Bartoli, L. (2018). The laser as a tool for the cleaning of Cultural Heritage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 364(1), 1-9. Recuperado el maig de 2019, de <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/364/1/012078/pdf>