

# Biosensores como sistemas de alarma para detectar riesgos de biodeterioro en restos momificados. Estudios preliminares

**Nieves Valentín** (nieves.valentin@mecd.es)  
Instituto del Patrimonio Cultural de España

**Resumen:** Los microorganismos son particularmente sensibles al impacto de los parámetros ambientales. Los análisis de aerosoles muestran la aceptabilidad de la calidad del aire en las salas de exposición y almacenes del Museo. En este contexto, hemos diseñado biosensores como sistema de alarma para detectar precozmente el crecimiento microbiano en vitrinas que albergan momias egipcias.

Los biosensores están hechos de un material similar a la composición de los objetos que se pretende conservar. Se recomienda utilizar un material muy higroscópico. En este trabajo se empleó vitela, material proteico adecuado para evaluar el riesgo potencial de biodeterioro en momias. La vitela debe ser tratada con un medio de cultivo apropiado, todo ello deshidratado y esterilizado. Se puede añadir un elemento de tinción para detectar el desarrollo microbiano por el cambio de color.

Los biosensores se instalan en vitrinas y son expuestos a microambientes por períodos específicos de tiempo. Cada biosensor debe ser acoplado a un equipo que registre la temperatura y la humedad relativa y permita establecer correlaciones con el crecimiento microbiano.

Los biosensores son herramientas útiles para la detección temprana del crecimiento microbiano en los objetos históricos. Permiten la toma de decisiones con antelación antes de que se produzca biodeterioro en restos momificados y otros objetos delicados.

**Palabras clave:** Biosensores. Momias. Calidad del aire. Microorganismos. Vitrinas.

**Abstract:** Microorganisms are particularly sensitive to the impact of environmental parameters. Aerosol analysis shows the acceptability of air quality in exhibition rooms and storages of museums.

In this context, we have designed biosensors as alarm system for detecting early microbial growth in display cases that host Egyptian mummies.

Biosensors are made of a similar material to the composition of the objects to be preserved. A very hygroscopic material is recommended. In this work we used vellum, a proteinaceous material appropriate for evaluating the potential risk of biodeterioration in mummies. Vellum

should be treated with an adequate culture media, dehydrated and sterilized. A dye can be added to detect microbial development by colour change.

Biosensors are installed in display cases and exposed to microenvironments for specific periods of time. Each biosensor should be coupled to a data logger for monitoring temperature and relative humidity and establishing correlations with microbial growth.

Biosensors are useful tools for prompt detection of microbial growth on historic objects. They allow making early decision to avoid biodeterioration in mummified remains and other delicate objects.

**Keywords:** Biosensors. Mummies. Air quality. Microorganisms. Display cases.

## Introducción

Las momias representan un importante y delicado legado cultural. Su conservación está relacionada con el tipo de momificación y las condiciones ambientales de la vitrina, o caja de embalaje donde están depositadas. Son sensibles al impacto de agentes de origen químico, físico, biológico y ambiental, debido principalmente a la alta higroscopicidad y composición de los materiales que las conforman (Fig. 1).

El desarrollo de agentes biológicos en restos antropológicos es frecuente debido a las oscilaciones de parámetros ambientales incorrectos, que en general fluctúan en cortos periodos de tiempo. Ello representa un aumento del contenido de agua de los componentes orgánicos que va asociado al desarrollo de microorganismos e insectos y que afectan a momias egipcias, guanches o americanas. El biodeterioro progresa con rapidez en estos sustratos ya que poseen una riqueza de nutrientes que los convierte en un habitat adecuado para la proliferación de microorganismos los cuales, en ocasiones, favorecen también el asentamiento de insectos. Adicionalmente, debe tenerse en cuenta que una correlación incorrecta temperatura-humedad relativa, impacto de partículas sólidas, polvo, compuestos orgánicos volátiles (COV), otros gases de polución ambiental y una iluminación inadecuada, son factores que incrementan los riesgos de deterioro y deben ser controlados y corregidos tanto como sea posible. A todo ello se une el mantenimiento y la gestión ambiental que deben ser atendidos eficazmente (Valentín, 2012: 99-131).

Dentro de las rutinas de conservación en el Museo, se viene practicando el registro continuo de los parámetros ambientales más relevantes: temperatura y humedad relativa. No obstante, en escasas ocasiones se evalúa la eficacia de la climatización en cuanto a las renovaciones de aire adecuadas según las características de las salas o almacenes y las piezas que alberga. En este contexto, el análisis de la calidad de aire para determinar los contaminantes ambientales químicos y biológicos, debe entrar a formar parte de los análisis de riesgos en el Museo (Valentín, Muro y Montero, 2010: 63-81).

El riesgo de contaminación microbiológica de una momia depositada en una vitrina, se determina por medio de la toma de muestras del aire (bioaerosoles) y de la toma de muestras de microorganismos de la superficie del cuerpo de la momia. En ambos casos los análisis son laboriosos, representan un coste significativo y requieren personal especializado.



Fig. 1. Vitrina donde fueron realizados estudios previos con biosensores.

Para subsanar este problema, se han diseñado sistemas que alertan precozmente del riesgo de desarrollo microbiano debido a cambios anómalos en las condiciones ambientales en una vitrina o caja de almacenaje. Estos sistemas de alerta, denominados biosensores, están fabricados con materiales de naturaleza similar a los bienes culturales que se pretenden preservar. Su aplicación evita la toma de muestras para análisis microbiológicos. Asimismo, una vez detectado el desarrollo fúngico o bacteriano sobre los biosensores, es posible poner en marcha decisiones tempranas para corregir cambios anómalos en la calidad de aire interior de una vitrina. Son por tanto una herramienta eficaz para la conservación preventiva de los bienes culturales.

### ¿Qué es un biosensor?

Es un sistema que consta de un soporte higroscópico de naturaleza celulósica o proteica. El soporte se pincela con un medio de cultivo adecuado para el desarrollo de contaminantes habituales del aire. A este medio se le puede incorporar un producto marcador. Este sistema tiene

que ser esterilizado y deshidratado (Fig. 2). Finalmente se acopla un equipo para registrar la temperatura y humedad que favorecen el desarrollo de hongos y/o bacterias sobre el biosensor. La composición del material que se usa como sensor debe estar perfectamente caracterizado desde el punto de vista de sus propiedades físico-químicas y biológicas.

### ¿Dónde se sitúan y cómo actúan?

Se ubican en vitrinas, cajas de embalaje, armarios contenedores, siempre junto al objeto histórico con el fin de estar expuestos a idénticas condiciones ambientales y contaminantes biológicos y químicos.

La formación de micro-condensaciones en el interior de una vitrina, provocará la hidratación del medio de cultivo del biosensor y el desarrollo de microorganismos antes de que ocurra en el material histórico exhibido. Es importante incorporar un marcador al medio de cultivo con el fin de que sea incorporado al metabolismo del microorganismo. Como consecuencia, el desarrollo microbiano inicial podrá ser visualizado fácilmente por un cambio de color.

La detección de microorganismos en el biosensor indica que las condiciones ambientales de la vitrina o sala de exposición deben ser examinadas y corregidas con la mayor premura posible. En este caso no es necesario recurrir a análisis microbiológicos realizados por profesionales expertos. Se trata de sistemas que indican riesgos potenciales de deterioros.

Los biosensores tienen una eficacia media de tres meses debido a la desnaturalización del medio de cultivo utilizado y de las condiciones a las que está expuesto. Transcurrido ese tiempo deberán ser extraídos de la vitrina y sustituidos por otros nuevos y estériles.

### Análisis microbiológico del biosensor para evaluación de la calidad de aire interior

Además de ser útiles como sistemas que alertan del desarrollo precoz de microorganismos, los biosensores pueden ser utilizados para evaluar la calidad de aire interior. En este caso, son instalados en una vitrina y expuestos al ambiente interior, durante un periodo de tiempo de 1 a 3 meses máximo, en función de los parámetros de temperatura y humedad relativa. Posteriormente, se extraen, se hidratan con una solución salina estéril, incubándose a 30° C de temperatura. Finalmente los microorganismos desarrollados pueden ser identificados y cuantificados según los métodos de microbiología clásica o de biología molecular. En ambos casos, los resultados nos permiten estimar la carga microbiana depositada en el biosensor, que es idéntica a la que se deposita sobre el bien cultural, indicando el riesgo potencial de deterioro. Los biosensores se instalan también en el exterior de la vitrina para proceder a

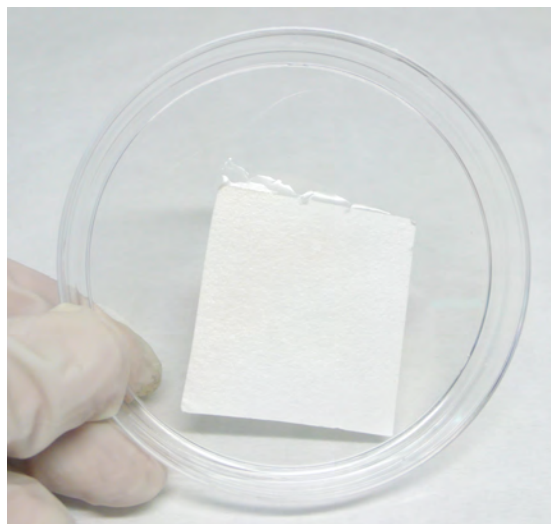


Fig. 2. Prototipo de biosensor. Material higroscópico pincelado con un medio de cultivo deshidratado y estéril.

estudios comparativos. Es aconsejable tener de referencia biosensores expuestos a condiciones óptimas, tanto en el interior como en el exterior de una vitrina aceptable para ser considerados como control.

## Aplicaciones prácticas. Momias egipcias. Museo Arqueológico Nacional

### Estudios preliminares

Finalizada en 2.014 la remodelación del Museo Arqueológico Nacional (MAN), se instalaron nuevas vitrinas para albergar la colección de las momias egipcias que alberga el Museo. Con el fin de estimar futuros riesgos potenciales de deterioro que pudieran afectar a las momias una vez depositadas en el interior de las nuevas vitrinas, se procedió a la instalación previa de biosensores en vitrinas sin piezas históricas.

### Objetivo

Se centró en el estudio de la carga microbiana de las vitrinas destinadas a exhibición de momias egipcias a través de los biosensores incorporados tanto en el interior como en el exterior, **antes** de proceder a la ubicación de las momias. Con ello se ha pretendido obtener datos que pudieran servir de referencia, una vez que las momias hubieran sido ya instaladas definitivamente en sus vitrinas correspondientes.

### Método

En este trabajo se procedió como se expresa a continuación:

- Se fabricaron biosensores con material de naturaleza proteica, vitela, similar a la naturaleza de las momias estudiadas. Se conoce como vitela la piel de un animal que no ha llegado a nacer, la cual es tratada adecuadamente para ser utilizada en labores de restauración de bienes culturales, entre otras aplicaciones. Es un material delicado y muy higroscópico, de pH ligeramente alcalino.
- Para este trabajo se prepararon piezas de vitela de 4 × 4 cm. Sobre el material proteico se aplicó por pincelado un medio de cultivo de agar-Saboureaud. Posteriormente, el material fue deshidratado y esterilizado.
- Se seleccionaron dos vitrinas del Museo; vitrina A y vitrina B respectivamente. La vitrina A estaba destinada a albergar una momia egipcia masculina con máscara y cartonajes. La vitrina B se construyó para albergar una momia egipcia femenina envuelta en tejido de lino.
- Los biosensores se introdujeron en las vitrinas A y B, durante un tiempo de exposición de 5 semanas. Transcurridas éstas, se extrajeron y analizaron procediendo a una hidratación de la superficie con una solución estéril de cloruro sódico al 0,9 %. El material se incubó a 30° C durante 15 días. Cada día se realizó una lectura del número de colonias fúngicas y bacterianas desarrolladas sobre el soporte proteico.
- Idénticos biosensores fueron también instalados en el exterior de las vitrinas para estudiar la carga microbiana interior/exterior desde un punto de vista comparativo.

## Resultados

Los biosensores depositados en las vitrinas A y B mostraron un desarrollo lento y escaso (Figs. 5, 7 y 9). Las colonias fúngicas presentaron un número mayor que las bacterianas. Los hongos mayoritarios fueron: *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium sp.* En el caso de bacterias; *Bacillus subtilis* y *Actinomyces sp.* Todos ellos contaminantes habituales del aire (Valentín, 2010: 2-5).

Los biosensores instalados en la vitrina B, presentaron una carga microbiana inferior a la que mostraron los biosensores depositados en la vitrina A.

Los biosensores situados en el exterior de las vitrinas, mostraron una contaminación superior debido, entre otros factores, a la mayor cantidad de partículas de polvo en el aire, las cuales transportan esporas de microorganismos (Figs. 6, 8 y 10).

La tabla 1 indica los valores medios de contaminación microbiológica expresada en unidades formadoras de colonias (UFC), y también los valores medios de las condiciones ambientales registradas en el interior de las vitrinas.

Los parámetros ambientales registrados durante la exposición de los biosensores mostraron una aceptable estabilidad de la temperatura y humedad relativa dentro de las vitrinas (Tabla 1; Figs. 3 y 4). Para la conservación de restos momificados, exceptuando aquellas momias congeladas o liofilizadas, suele recomendarse como parámetros básicos; 40-45 % de humedad relativa (HR) y 20 + 2° C de temperatura (T). La fluctuación diaria de estos parámetros es inaceptable.

Los resultados obtenidos muestran un escaso desarrollo microbiano en los biosensores situados dentro de las nuevas vitrinas A y B respectivamente (Figs. 5, 7, 9). El número de UFC en las vitrinas son sensiblemente inferiores a los valores que hemos obtenidos en otras vitrinas similares (Informes internos IPCE, 2010-2015). El escaso y tardío desarrollo microbiano mostrado en el presente trabajo, podría haber sido debido a una potencial presencia de compuestos orgánicos volátiles que pudieran haber afectado al desarrollo de hongos y bacterias en la atmósfera de la vitrina. En este contexto, se han puesto en marcha los oportunos análisis de COV utilizando cromatografía de gases-espectrometría de masas por profesionales expertos en estas técnicas.

Los microorganismos identificados en el interior/exterior de las vitrinas, se corresponden con contaminantes habituales del aire.

Estudios similares serán realizados durante la exhibición de las momias ubicadas en las nuevas vitrinas del Museo para detectar cualquier riesgo potencial de biodeterioro a largo plazo.

## Nuevos avances

Para perfeccionar estos prototipos de biosensores, pretendemos incorporar marcadores específicos que se incorporen al metabolismo celular. El objetivo consiste en poder determi-

	Vitrina A	Vitrina B	Exterior Vitrina A	Exterior Vitrina B	Vitrina experimental sin objetos usada como control
Hongos UFC /muestra (Valores medios)	4,2	2	8	11	6,5
Bacterias UFC/muestra (valores medios)	-	-	Incontable	-	4,3
Inicio de desarrollo Microbiano (días)	8	10			3
Identificación de hongos	<i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Cladosporium sp.</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Bacillus cereus</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Cladosporium sp</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Actinomyces sp.</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Aspergillus sp.</i> <i>Actinomyces sp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Alternaria sp.</i>
Identificación bacteriana			<i>Bacillus cereus</i>		<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Actinomyces sp.</i> <i>Micrococcus sp.</i>
Temperatura media (° C)	21,4	19,7			22,5
Humedad relativa media (%)	48,8	45,1			45,6

**Tabla 1.** Contaminación microbiológica, detectada en biosensores instalados en el interior y exterior de vitrinas destinadas a albergar momias egipcias.

nar un desarrollo precoz de microorganismos en el biosensor por un cambio de color que es fácilmente detectable en un primer examen visual. Por consiguiente, no será necesario proceder al análisis de los biosensores en laboratorio para detectar riesgos. En este trabajo, se efectuaron bioensayos preliminares incorporando al medio de cultivo un marcador, Thiazolyl Blue Tetra-zolium Bromide (MTT) que es asimilado por el microorganismo mostrando un cambio de color en su desarrollo inicial (Figs. 11 y 12).

Los biosensores pueden ser asociados a otros sistemas que utilizan una base de vidrio o de metal específicos, los cuales, una vez expuestos al ambiente interior de una vitrina y analizados, indican el riesgo potencial de contaminantes químicos en la vitrina tanto en el interior como en el exterior.

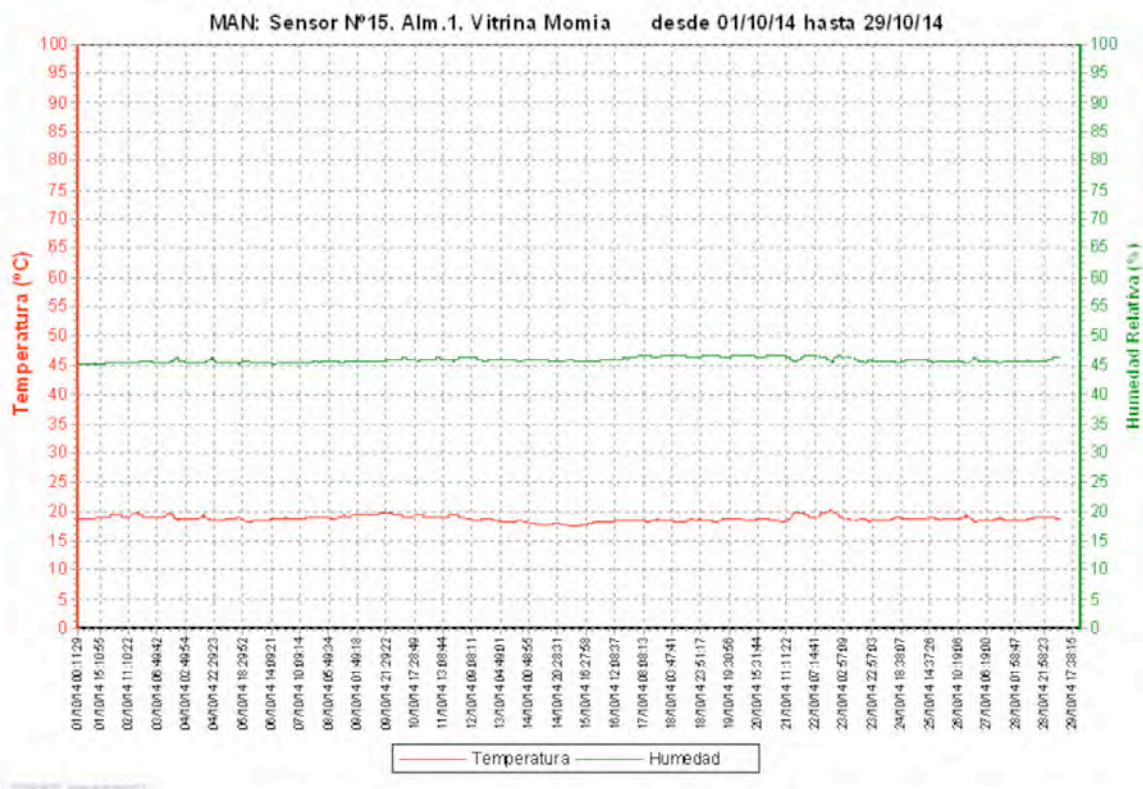


Fig. 3. Registro de condiciones ambientales en vitrina A.

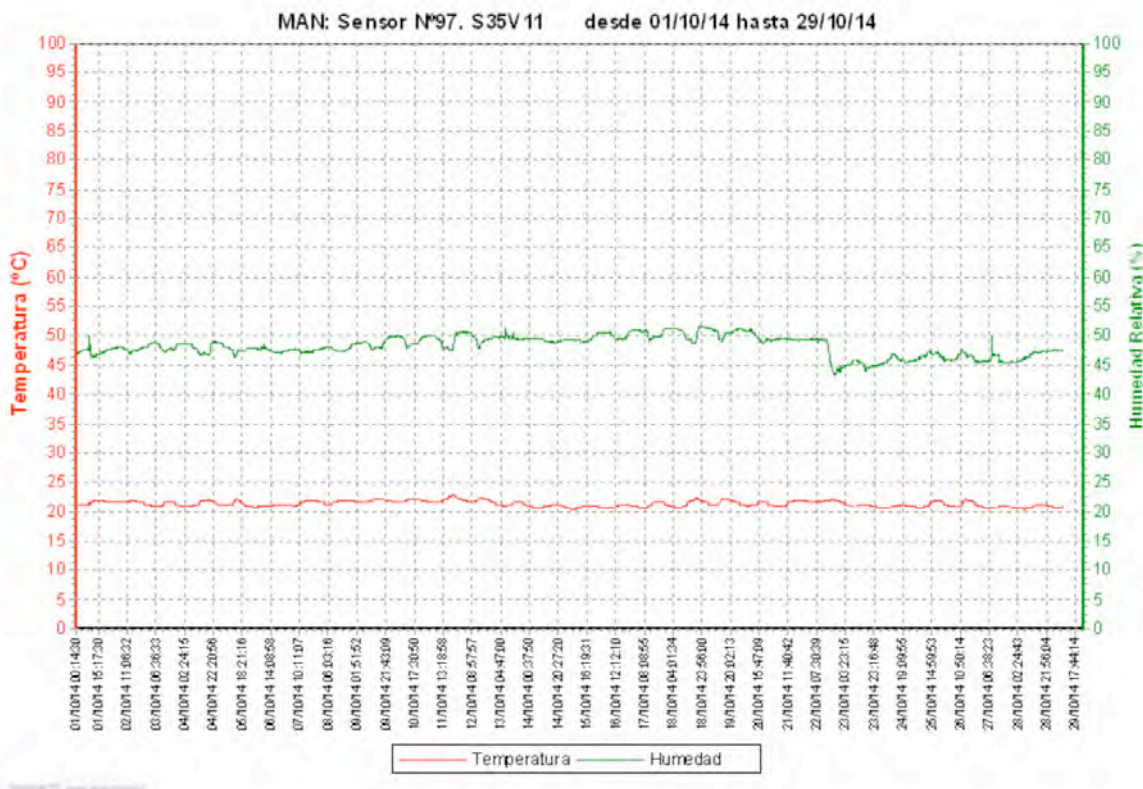


Fig. 4. Registro de condiciones ambientales en vitrina B.



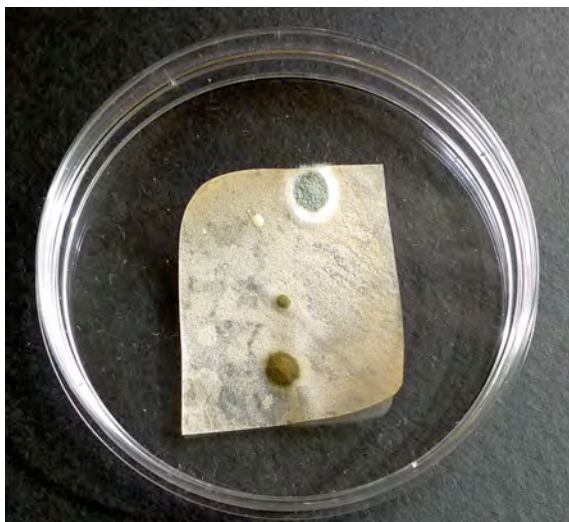


Fig. 5. Biosensor instalado en el interior de vitrina A.



Fig. 6. Biosensor instalado en exterior de vitrina A.

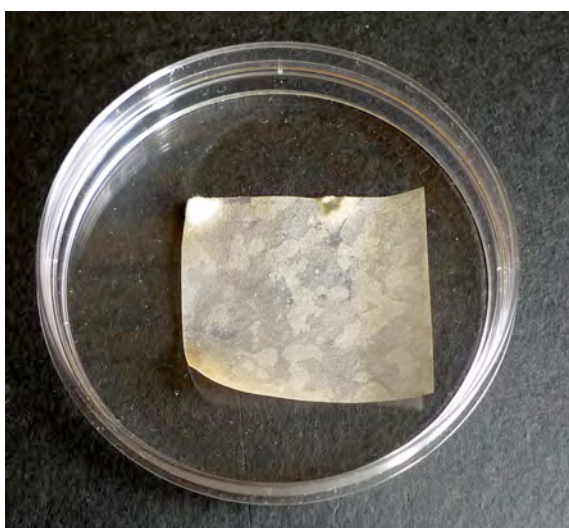


Fig. 7. Biosensor B1 interior de vitrina B.

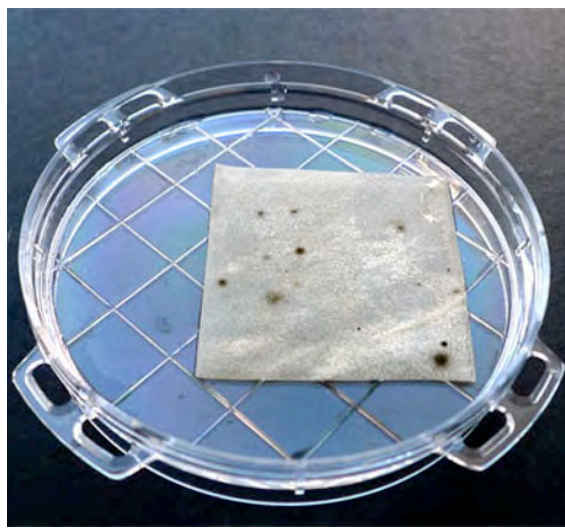


Fig. 8. Biosensor E1 exterior de vitrina B.

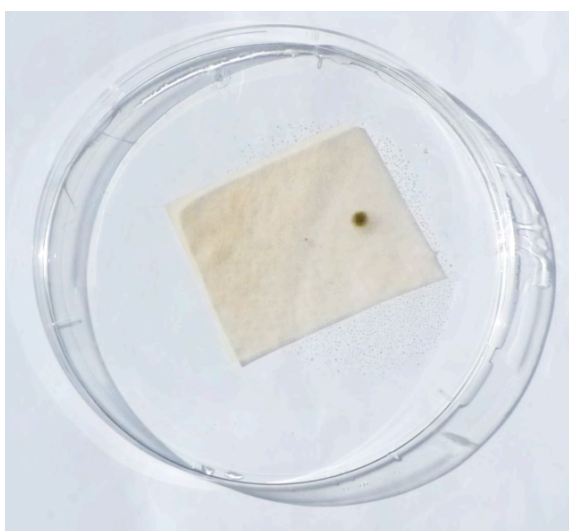


Fig. 9. Biosensor B2 interior de vitrina B.

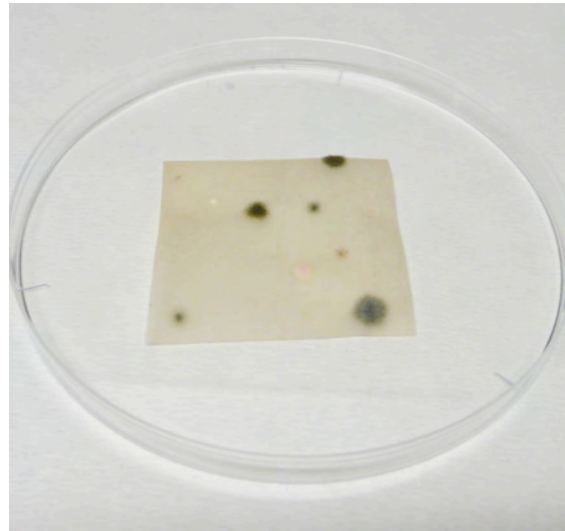


Fig. 10. Biosensor E2 exterior de vitrina B.

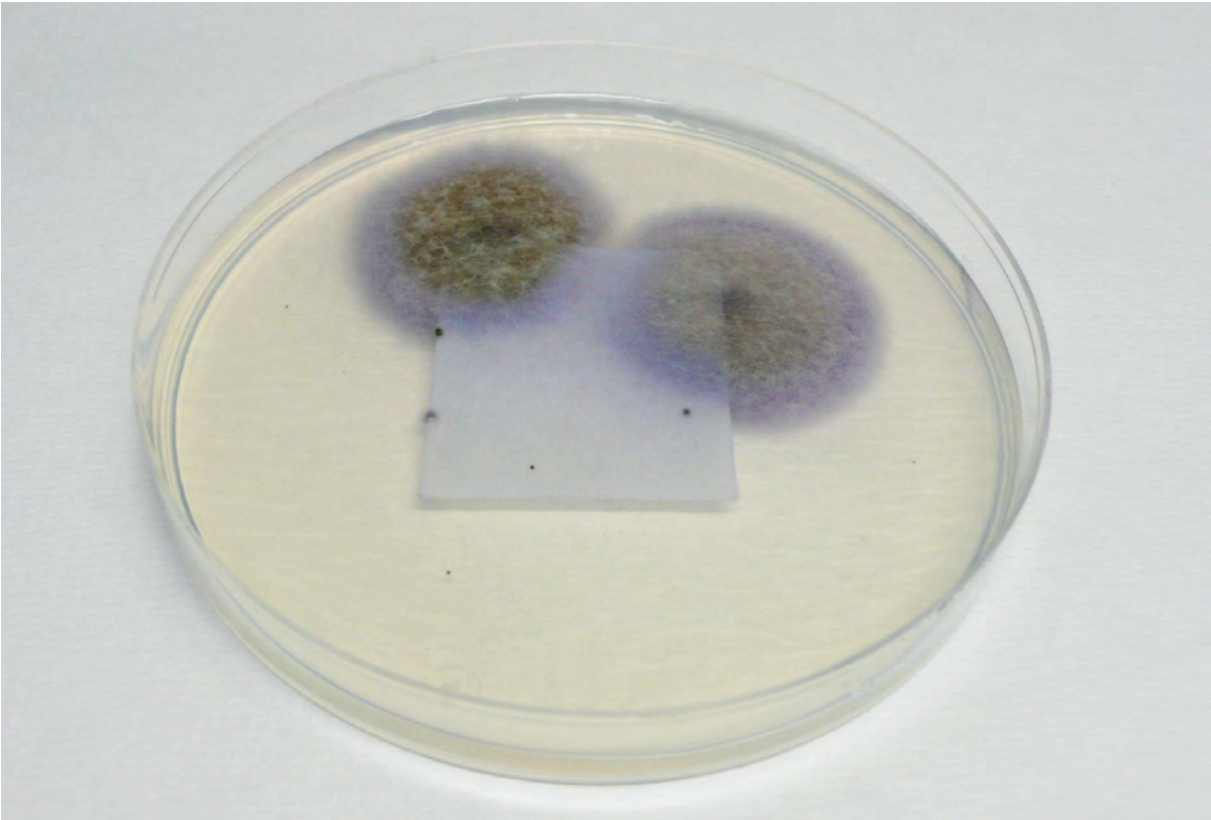


Fig. 11. Biosensor, soporte papel whatman tratado con un marcador para *Penicillium chrysogenum*.

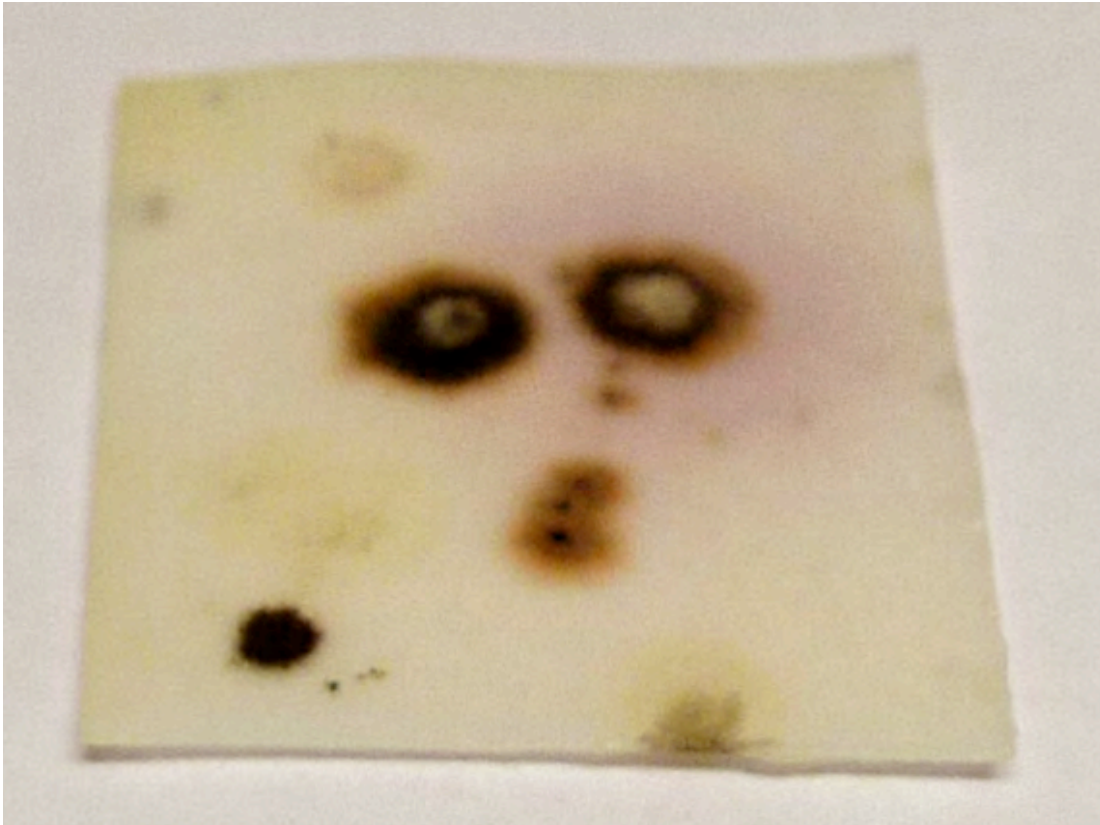


Fig. 12. Biosensor en pergamino tratado con un marcador (MTT).

Investigaciones recientes indican que los soportes mas eficaces para construir los biosensores deben ser de superficie rugosa y blanca para detectar fácilmente cualquier cambio de color.

## Conclusiones

Según los resultados obtenidos podemos indicar:

- Los microorganismos son buenos indicadores de la aceptabilidad de las condiciones ambientales.
- Los prototipos de biosensores que se han utilizando son eficaces para detectar riesgos potenciales de biodeterioro en atmósferas con condiciones ambientales desfavorables.
- Los materiales utilizados para construir el biosensor debe ser higroscópicos, a ser posible rugosos y de color claro.
- El tiempo de exposición de un biosensor en vitrina depende de las condiciones ambientales que posea la vitrina y de la sala del Museo donde esté instalada.
- En el interior de la vitrina, los compuestos orgánicos volátiles y otros contaminantes químicos de polución ambiental, pueden interferir en el desarrollo de hongos y bacterias del aire interior. Es necesario tener en cuenta que un biosensor con una escasa o nula contaminación, no siempre indica que las condiciones de la vitrina son óptimas, puede ocurrir que los contaminantes químicos que emiten los componentes de las vitrinas o las propias momias, estén eliminando o alterando el desarrollo microbiano. Por lo tanto, es necesarios realizar análisis químicos complementarios para confirmar la eficacia de las vitrinas y el buen estado de conservación de las momias que albergan.

## Agradecimientos

Se agradece a la Dra. Azucena González, Investigadora del Centro Superior de Investigaciones Científicas, su aportación relacionada con el uso de marcadores para agentes biológicos, y a doña Teresa Gómez Espinosa, Conservadora Jefa del Departamento de Conservación del Museo Arqueológico Nacional, por su colaboración que ha hecho posible la realización de este trabajo.

## Bibliografía

- VALENTÍN, N. (2012): «Métodos de análisis y control de plagas en momias. Protocolos de actuación», *Momias. Manual de buenas prácticas para su preservación*. Madrid: Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. pp. 99-131.
- (2010): «Microorganisms in Museum Collections». *COALITION*, n.º 19, pp. 2-5. Disponible en: <[http://www.rtphc.csic.es/issues/19\\_01.pdf](http://www.rtphc.csic.es/issues/19_01.pdf)>. [Consulta: 25 de octubre de 2014].
- VALENTÍN, N.; MURO, C., y MONTERO, J. (2010): «Métodos y Técnicas para Evaluar la Calidad del Aire en Museo: Museo Nacional Centro de Arte Reina Sofía». Ed. CARS - IIC Grupo Español. Madrid, pp. 63-81.