ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN. BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
REVISTA DEL CENTRO DE GRADUADOS E INVESTIGACIÓN. INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA. Vol. 33 NÚM. 73 PP. 253-258 OCT. 2018 ISSN 0185-6294

CONSOLIDACIÓN DE ROCAS CARBONATADAS POR BIOPOLÍMEROS BACTERIANOS

Camacho-Chab[1], Pedro A.; Camacho-Chab[1], Juan Carlos; Ortega-Morales[1], Benjamín Otto y Chan-Bacab[1], Manuel Jesús

[1]Universidad Autónoma de Campeche. Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología. Av. Agustín Melgar s/n entre Juan de la Barrera y Calle 20, Col. Buenavista. C.P. 24039. San Francisco de Campeche, Campeche, México
Autor de correspondencia: pedrocamachochab@gmail.com

Recibido: 31/agosto/2018 Aceptado: 30/septiembre/2018 Publicado: 31/octubre/2018

RESUMEN

Uno de los procedimientos principales para la preservación de los monumentos del patrimonio cultural o construcciones históricas es la consolidación. Este proceso consiste en recuperar la cohesión de la estructura porosa de la roca y mejorar su resistencia mecánica que ha sido afectada por diferentes factores de deterioro. Recientemente, el uso de sustancias poliméricas extracelulares bacterianas (SPE) se ha planteado como un método alterno para la conservación de monumentos de roca. Las SPE son complejos de biomoléculas compuestos de polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Esta diversidad molecular les confiere propiedades particulares en procesos biogeoquímicos con sustratos rocosos. Por lo anterior, el objetivo principal de este estudio fue evaluar las propiedades consolidantes de las SPE sintetizadas por bacterias epilíticas selectas sobre sustratos de roca carbonatada. El cultivo de 203 cepas permitió seleccionar 4 cepas productoras de SPE (TM1B 349, TM1B 464, TM1B 488 y TM1B 489), las cuales estaban compuestas principalmente de carbohidratos y proteínas. En términos de efectividad, la SPE TM1B 488 y el mucílago de nopal presentaron una menor cantidad de material polimérico desprendido y también exhibieron los mayores valores de dureza. En términos de compatibilidad, las SPE TM1B 488, TM1B 489 y el mucílago de nopal presentaron una menor cantidad de agua absorbida, debido a una reducción de los poros. Por lo tanto, las SPE TM1B 488 y TM1B 489, que contenían un mayor porcentaje de polisacáridos, fueron las que demostraron mejores propiedades consolidantes y representan modelos con potencial biotecnológico.

Palabras clave: biopolímeros bacterianos, consolidación, monumentos históricos

ABSTRACT

One of the main procedures for the preservation of monuments of cultural heritage or historical constructions is consolidation. This process consists in recovering the cohesion of the porous structure of the rock and improving its mechanical resistance that has been affected by different deterioration factors. Recently, the use of bacterial extracellular polymeric substances (EPS) has been proposed as an alternative method for the conservation of rock monuments. EPS is complexes of biomolecules composed of polysaccharides, proteins, lipids, and nucleic acids. This molecular diversity gives them particular properties in biogeochemical processes with rocky substrates. Therefore, the main objective of this study was to evaluate the consolidating properties of EPS synthesized by selected epilithic bacteria on carbonate rock substrates. The cultivation of 203 strains allowed to select four strains producing EPS (TM1B 349, TM1B 464, TM1B 488 and TM1B 489), which were composed mainly of carbohydrates and proteins. In terms of effectiveness, the EPS TM1B 488 and the nopal mucilage presented a lower amount of polymeric material that was released and exhibited the highest hardness values. In terms of compatibility, the EPS TM1B 488, TM1B 489 and the cactus mucilage presented a lower amount of water absorbed, due to a reduction of the pores. Therefore, the EPS TM1B 488 and TM1B 489, which contained a higher percentage of polysaccharides, were those that showed better-consolidating properties and represent models with biotechnological potential.

Key words: bacterial biopolymers, consolidation, historical monuments

INTRODUCCIÓN

Los materiales porosos utilizados en edificios históricos y modernos, como piedras naturales, ladrillos y morteros, son susceptibles al deterioro a través del tiempo por efecto de agentes físicos, químicos y biológicos. Esto implica la pérdida de cohesión y, por tanto, la durabilidad del material. Hoy en día, la preservación de los materiales pétreos, que conforman tanto edificios históricos como modernos, es un problema mundial. Asimismo, los tratamientos de restauración y reemplazo de materiales deteriorados implican costos considerables y, en ocasiones, no son compatibles con el ambiente. Por lo tanto, el desarrollo de productos innovadores para la conservación de materiales pétreos es un desafío importante.

Por otro lado, en relación con las propiedades mecánicas de los materiales deteriorados, estas se pueden recuperar mediante la aplicación de un tratamiento de consolidación. Esta intervención está destinada a recuperar la cohesión de la estructura porosa de la roca y mejorar la resistencia mecánica que ha sido afectada por diferentes factores de deterioro. En

este sentido, una variedad de productos consolidantes han sido empleados en la restauración de monumentos de roca, algunos ejemplos incluyen consolidantes inorgánicos (hidróxido de bario y alcoxisilanos), materiales orgánicos (resinas epoxi y acrílicas), así como productos naturales, tales como polisacáridos de plantas (Doehne y Price, 2010).

Recientemente, se ha planteado el uso de bacterias o las sustancias poliméricas extracelulares o biopolímeros (SPE) que producen, como métodos alternos para la conservación de monumentos de roca. Esto se debe, a que las bacterias pueden generar condiciones bioquímicas que facilitan la precipitación de minerales (mineralización inducida biológicamente) o a través de un proceso pasivo con interacciones entre las SPE y el ambiente geoquímico (mineralización biológicamente influenciada). Este último proceso biogeoquímico, ha sido fundamentado con base a que las SPE son biomoléculas complejas que están compuestas de macromoléculas como polisacáridos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y sustancias húmicas. Por lo tanto, esta riqueza molecular les confiere propiedades que permiten su participación en estos procesos o para aplicaciones biotecnológicas (Ortega-Morales et al, 2007).

En virtud de la capacidad natural de precipitar minerales y de su composición química, conllevan a las SPE a una valoración biotecnológica como posibles bioconsolidantes en sustratos de roca para la restauración de monumentos pétreos. En el presente trabajo de investigación se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de las propiedades consolidantes en sustratos de roca carbonatada de biopolímeros de bacterias aisladas de biopelículas epilíticas pertenecientes a la colección de cultivos microbianos del Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología (DEMAB), de la Universidad Autónoma de Campeche.

MATERIAL Y METODOS

Un total de 203 aislados bacterianos epilíticos, pertenecientes a la Colección de Cultivos Microbianos Ambientales del Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología de la Universidad Autónoma de Campeche, fueron evaluados a través de la producción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE).

Selección preliminar de cepas productoras de SPE

Los 203 aislados bacterianos epilíticos fueron cultivados en agar de soya y tripticaseína suplementado con 1% de glucosa (AST/gluc) por 48 hrs a 28 °C. Posteriormente, se seleccionaron aquellas cepas cuyas colonias presentaron apariencia mucosa. Las cepas que presentaron el mayor contenido de carbohidratos fueron seleccionadas para producir y extraer las SPE en fermentaciones de 1 L a nivel de matraz, para realizar la evaluación de sus propiedades consolidantes.

Producción y extracción de SPE de cepas seleccionadas

El ensayo preliminar de cepas productoras de SPE permitió la elección de 7 de ellas, las cuales fueron cultivadas en caldo de soya y triptecaseína con glucosa al 1% (CST/gluc) en matraces blafeados a escala de 1 L a una proporción de 1:10 (inóculo/medio de cultivo) y fueron puestos en agitación a 200 rpm durante 48 hrs a 28 °C. Terminado el período de incubación, las SPE fueron extraídas de acuerdo al protocolo descrito por Camacho-Chab et al (2013).

Caracterización química de las SPE

De las 7 cepas seleccionadas, únicamente 4 cepas fueron elegidas, debido a que presentaron una producción significativa de SPE. Por lo tanto, las otras 3 cepas fueron descartadas para su evaluación consolidante, dado que bajo criterios establecidos de cultivo a escala la producción de SPE fue nula o no significante. Para la caracterización química de las SPE, se siguió el método de Dubois et al (1956) para la determinación de carbohidratos totales y el método de Lowry et al (1951) para la determinación de proteínas totales.

Extracción del mucílago de nopal

Para llevar a cabo las evaluaciones de las propiedades consolidantes se eligió como control positivo el mucílago de nopal, ya que ha sido reportado satisfactoriamente como consolidante en materiales porosos. La extracción del mucílago de nopal se realizó siguiendo el protocolo descrito por Domínguez-Canales et al (2011).

Formulación de las SPE y aplicación sobre los especímenes de roca

La formulación de las SPE consistió en preparar una solución de cada SPE a una concentración del 1% (p/v) en alcohol absoluto. Una vez preparadas las soluciones se procedió a la aplicación de la solución de cada SPE sobre los especímenes de roca carbonatada. La aplicación del tratamiento (SPE y mucílago) se hizo con ayuda de una brocha pequeña, tomando una porción del tratamiento y se cubrió la superficie de cada espécimen de roca 10 veces, esperando 2 minutos aproximadamente entre cada aplicación. Para los ensayos de las propiedades consolidantes, se seleccionaron cuatro tratamientos diferentes de SPE y dos controles, uno positivo (mucílago de nopal) y otro negativo (sin tratamiento). Cada tratamiento se aplicó por triplicado y por cada ensayo.

Evaluación de las propiedades consolidantes

De acuerdo con los principios de consolidación, un tratamiento de consolidación debe contar con dos características importantes: efectividad (mejorar la cohesión dentro de la estructura porosa de la roca) y compatibilidad (no deben ocasionar efectos negativos en el sustrato original). En consecuencia, existen diversos ensayos básicos, pero primordiales para determinar dichas propiedades. Estas han sido establecidas por el ‘‘Istituto Centrale per il Restauro’’

(Instituto Central para la Restauración) en Italia y por la Norma Europea (European Standard) para la conservación de las propiedades culturales. Por lo tanto, en el caso de la evaluación de la efectividad, en este trabajo de investigación se emplearon los ensayos de Resistencia al Desprendimiento (Scoth Tape Test, STT) y la Dureza Superficial, ambos ensayos son los más comúnmente reportados.

Resistencia al desprendimiento

Una vez recubiertos los especímenes de roca carbonatada, se aplicó una tira de cinta transparente (Scotch 550 3M), sensible a la presión, de 24 mm de ancho y no menor de 20 mm de largo, sobre la superficie de la roca con recubrimiento. Después de aproximadamente 90 segundos de aplicación, se retiró la cinta y se pesó con el material liberado en una balanza analítica, este proceso se repitió 10 veces sobre la misma área ya que, de esta manera, se puede evaluar de manera cuantitativa la cohesión de la superficie de las rocas por los tratamientos empleados (Drdácký et al, 2012).

Dureza superficial

La evaluación de la dureza superficial se llevó a cabo utilizando un durómetro portátil (Equotip 3) y con una modificación del método de impacto único establecido por Viles et al (2011). Cada superficie de muestra se probó con 20 mediciones en ubicaciones aleatorias en 3 réplicas por tratamiento y controles. Para cada superficie, el valor de dureza Leeb máxima (L_{max}) resultante se calculó como promedio de las 6 lecturas más altas. La dureza superficial se midió utilizando el Equotip 3 y los datos se expresaron en la escala de "dureza Leeb" (1 - 999), utilizando la siguiente fórmula para calcular el valor de Leeb:

Lmax = Vr/Vi x 1000

El valor de dureza se expresa como el Número Leeb (valor L) o la Dureza Leeb (HL), que es la relación entre la velocidad de rebote (Vr) y la velocidad del impacto (Vi) multiplicada por 1000.

Compatibilidad

Para los ensayos de compatibilidad se han reportado la evaluación de parámetros como la microestructura, ángulo de contacto, absorción de agua por capilaridad, permeabilidad al vapor de agua, cambio color y análisis con espectroscopía de infrarrojo transformada de Fourier (FT-IR). Sin embargo, por su factibilidad y, además, de ser el más reportado se optó por realizar el ensayo de absorción de agua por capilaridad.

Absorción de agua por capilaridad

La evaluación de la absorción de agua por capilaridad se realizó siguiendo el protocolo de la norma UNI EN 15801:2010 (2010). Las SPE y el control (+) fueron aplicados sobre las muestras de roca y se dejaron en incubación durante 30 días. Transcurrido el tiempo, se determinó el peso inicial ($\boldsymbol{m_0}$) de las muestras y se colocaron sobre una base de alambre con agua desionizada, en donde las rocas absorbieron agua por capilaridad. En la medición de la capilaridad se utilizaron diferentes intervalos de tiempo ($\boldsymbol{t_i}$): 30, 60, 120, 300, 600, 900, 1800 y 3600 segundos, posteriormente a cada intervalo de tiempo, se midió nuevamente el peso ($\boldsymbol{m_i}$), eliminando el exceso de agua adherida en la superficie de las muestras con un paño húmedo. La cantidad de agua absorbida por muestra por unidad de área [$\boldsymbol{Q_i}$ (gr/cm²)] en el tiempo $\boldsymbol{t_i}$ (s) fue calculada como sigue:

$$Q_i = [(m_i - m_0)/A]$$

En donde:

m_0 = Masa del espécimen seco, en gr.
m_i = Masa del espécimen en el tiempo, en gr.
A = Área del espécimen en contacto con el agua, en cm^2
t_i = Tiempo transcurrido desde el inicio de la prueba, en s
Q_i = Cantidad de agua absorbida por unidad de área, en gr/cm^2

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección preliminar de las cepas productoras de SPE

Los resultados del proceso de la selección preliminar de las cepas productoras de SPE, de la primera fase, permitieron seleccionar 31 cepas que presentaron mucosidad en el medio de cultivo. En la segunda fase, la cuantificación de carbohidratos totales del material polimérico (aspecto mucoide), realizada a las 31 cepas seleccionadas, permitió la elección de 8 cepas para llevar a cabo la producción de SPE a escala a nivel de matraz. Estas cepas fueron: TM1B 227, TM1B 349, TM1B 446, TM1B 464, TM1B 488, TM1B 489, TM1B 506, TM1B 508.

Producción y extracción de las SPE de los aislados epilíticos seleccionados

Las 8 cepas seleccionadas se cultivaron en CST/gluc para el escalamiento y producción de SPE. Únicamente, la cepa TM1B 446 no presentó crecimiento en medio líquido, por lo tanto, fue descartada. Una vez realizadas las fermentaciones de las 7 cepas, las SPE fueron recuperadas del medio de cultivo y estimadas gravimétricamente para determinar su rendimiento (Fig. 1). Durante el proceso de producción y extracción de las SPE de las cepas seleccionadas se obtuvieron rendimientos heterogéneos. La mayor producción de SPE fue registrada en la cepa TM1B 489 (4.23 g/L), mientras que el menor rendimiento lo presentaron las cepas TMIB 227 YTM1B 508 (0.050 g/L) (Tabla 1).

Figura.1 SPE sintetizadas por las cepas TM1B 349, TM1B 464, TM1B 488 y T1MB 489.

Tabla 1. Rendimiento de la producción de SPE por las cepas seleccionadas.

Cepa	Rendimiento g/L
TM1B 227	0.05
TM1B 349	0.22
TM1B 464	0.80
TM1B 488	3.50
TM1B 489	4.23
TM1B 506	0.09
TM1B 508	0.05

Caracterización química de las SPE seleccionadas.

Los resultados de la caracterización química mostraron que, de las 7 SPE analizadas, 5 presentaron la mayor proporción de carbohidratos, destacando la cepa TM1B 506 (41 ± 0.06 %). En el caso del contenido de proteínas, se observó que la SPE TM1B 227 presentó el mayor contenido (16 ± 0.01 %). Por otro lado, cabe señalar que el mucílago de nopal presentó una proporción significante de ambas biomoléculas, destacando una diferencia significativa con respecto a las SPE en relación con la proporción de proteínas (Tabla 2). Por lo tanto, estos resultados describen que las SPE producidas por estas cepas epilíticas presentan, en su mayoría, como componente principal la fracción de carbohidratos. Por otro lado, en referencia al porcentaje de la fracción química no detectada por las pruebas colorimétricas empleadas, puede estar asociada a la presencia de restos celulares o de otras moléculas, como lípidos y ácidos nucleicos extracelulares o algunas otras moléculas de bajo peso molecular.

Tabla 2. Composición química de las SPE producidos por bacterias epilíticas y el mucílago de nopal.

	Composición química %	
SPE	Carbohidratos	Proteínas
TM1B 227	14 ± 0.01	16 ± 0.007
TM1B 349	17 ± 0.03	13 ± 0.001
TM1B 464	25 ± 0.02	13 ± 0.0005
TM1B 488	31 ± 0.003	10 ± 0.008
TM1B 489	27 ± 0.04	9 ± 0.005
TM1B 506	41 ± 0.06	13 ± 0.001
TM1B 508	27 ± 0.09	3 ± 0.001
Mucílago de nopal	39 ± 0.02	27 ± 0.01

Evaluación de las propiedades consolidantes de las SPE
Efectividad

Resistencia al desprendimiento (Peeling test)

Las determinaciones del ensayo peeling test permitieron demostrar que la SPE TM1B 488 y el Control (+) presentaron una mayor afinidad al sustrato, ya que presentaron menor cantidad de material desprendido. La SPE TM1B 349 y TM1B 489 presentaron valores similares y la SPE TM1B 464 fue la que mayor material desprendió. De esta manera, se puede suponer que parte de la capa del consolidante en la superficie no se adhirió al sustrato y, por lo tanto, se eliminó mediante los peelings (Fig. 2). Por lo que se podría deducir que la cantidad de material desprendido de la superficie son partículas de la roca que podrían vincularse a una reducción de las fuerzas de cohesión o, posiblemente, material extracelular que no logró adherirse efectivamente sobre la última capa (superficie) de sustrato (Drdácký et al, 2012).

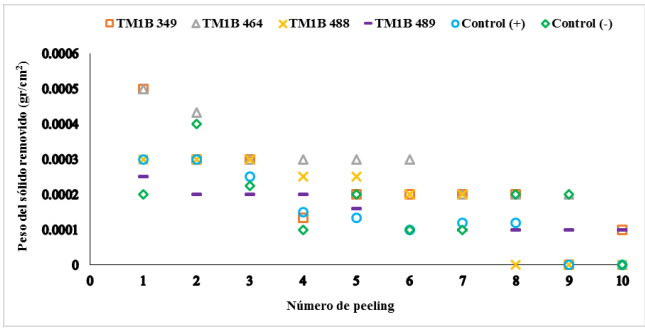

Figura 2. Resultados del peeling test

Dureza superficial

Referente a la prueba de dureza, la tabla 3 muestra que los valores obtenidos presentan un incremento en la dureza superficial con respecto al control (-), siendo las de mayor valor el control (+), seguido de las SPE TM1B 488 y TM1B 489. Los valores de HLD pueden ser interpretados como los valores de la cohesión de la estructura de la roca, lo que se puede entender que las SPE TM1B 488 y TM1B 489, así como el control (+), que tuvieron los valores más altos, fueron los que lograron llenar los espacios de los poros. Lo anterior se puede relacionar a través de la comparación de las desviaciones estándar, ya que se ha reportado que la variación en las desviaciones es un indicador de que algunas partes de la estructura porosa es menos homogénea, es decir que algunos poros no fueron sellados por los consolidantes. Por consiguiente, a menor desviación estándar, mayor será el valor de dureza superficial (Viles et al, 2011).

Tabla 3. Valores promedios de en rocas porosas recubiertas de bioconsolidantes

Consolidantes	Promedio (HLD)
TM1B 349	447.8 ± 24
TM1B 464	488 ± 22.1
TM1B 488	546.7 ± 16.6
TM1B 489	537.8 ± 18.1
Control (+)	713.5 ± 8.3
Control (-)	406.7 ± 27.2

Compatibilidad

Absorción de agua por capilaridad

La cinética de absorción de agua por capilaridad se muestra en la fig. 3. La primera parte de cada curva define la absorción de agua por capilaridad y la segunda parte define la saturación de agua. La pendiente de la curva durante la absorción capilar es el coeficiente de absorción de agua por capilaridad AC (mg/cm²·s½) que se muestra en la Tabla 4. Al principio de la cinética se observó que la curva alcanzó una altura más alta, esto se debe a una reducción de los poros por acción de los consolidantes; puesto que, a una mayor altura en la cinética, mayor es el coeficiente de absorción (AC). Esto concuerda con lo descrito por Benavente et al (2001), el coeficiente AC está estrechamente relacionado con la estructura y el tamaño de los poros. El valor de las fuerzas de succión (absorción) depende de la naturaleza de la superficie y del diámetro de los poros (lo que conduce a mayores presiones de capilaridad con la disminución del tamaño de los poros). Debido a la disminución en el tamaño de los poros, la fuerza de succión aumenta, y cuanto menor es el tamaño de los poros capilares, mayor es el coeficiente de absorción de la capilaridad del agua. De acuerdo con lo descrito, las SPE TM1B 488, TM1B 489 y el control (+) fueron los que mejores resultados presentaron, ya que absorben agua más rápidamente, pero la cantidad total de agua absorbida por capilaridad hasta alcanzar la saturación es menor.

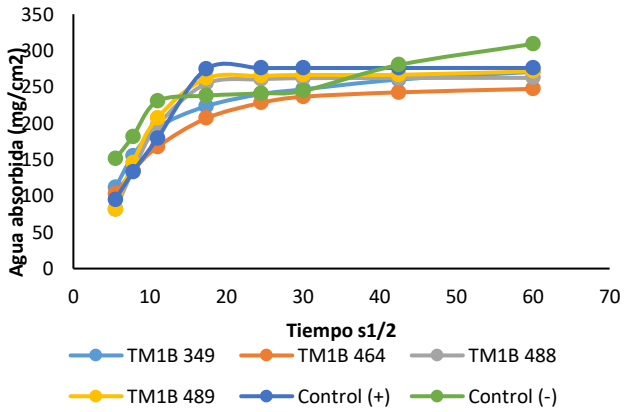

Figura 3. Curvas de capilaridad obtenidas durante la absorción de agua de muestras de rocas porosas después de
30 días de consolidación.

Tabla 4. Coeficientes de absorción de agua por capilaridad de las rocas recubiertas por bioconsolidantes.

Coeficientes de absorción por capilaridad ($mg/cm^2s^{1/2}$)	
Consolidante	Roca porosa
TM1B 349	2.48 ± 0.05
TM1B 464	2.42 ± 0.05
TM1B 488	2.67 ± 0.07
TM1B 489	2.68 ± 0.07
Control (+)	2.94 ± 0.07
Control (-)	2.42 ± 0.05

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, se puede establecer que el mucílago de nopal (control +) presentó los mejores valores en las evaluaciones de propiedades consolidantes. Sin embargo, los resultados obtenidos de las SPE de las cepas TM1B 488 y T1MB 489 fueron relativamente cercanos al mucílago de nopal. Por lo tanto, a partir de estas observaciones realizadas se puede considerar que estas SPE representan un potencial biotecnológico para llevar a cabo estudios enfocados a un mayor rendimiento en la producción de SPE y en la mejora de su actividad bioconsolidante.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación permitieron confirmar la selección de 8 cepas bacterianas epilíticas productoras de SPE de 203 evaluadas. Estas SPE en su mayoría predominaron las biomoléculas de carbohidratos y proteínas. Al ser cultivadas a escala en matraces de 1L, se determinó que su producción de SPE variaba entre las cepas, siendo las cepas TM1B 349, TM1B 464, TM1B 488 y TM1B 489, las que presentaron la mayor producción en nuestras condiciones de cultivo.

En términos de efectividad, el ensayo de peeling test permitió establecer que, las rocas tratadas con las SPE TM1B 488 y el control (+), mostraron una significante disminución en el material descohesionado, teniendo una buena eficacia en la superficie consolidada. Por otro lado, en la prueba de dureza superficial, el valor más alto lo registró el control (+), seguido de las SPE TM1B 488 y TM1B 489.

En cuanto a las evaluaciones de compatibilidad, en los ensayos de absorción de agua por capilaridad, se logró observar que las muestras con las SPE TM1B 488, TM1B 489 y el control (+) cambiaron las presiones capilares de las rocas, debido a una reducción de los poros, absorbiendo una menor cantidad de agua en comparación con las rocas sin tratamiento (control -) que no lograron alcanzar la saturación. Por último, se puede considerar que las SPE TM1B 488 y TM1B 489, que tuvieron una mayor composición de polisacáridos, fueron las que mejor propiedades consolidantes presentaron. Estas SPE representan un potencial biotecnológico para llevar a cabo estudios posteriores enfocados en la mejora de su actividad bioconsolidante, siguiendo los objetivos de un enfoque completamente ecológico en el campo de la conservación del patrimonio cultural.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se circunscribe dentro del marco del Proyecto “Influencia de nano y biomateriales en la colonización microbiana de roca monumental” Clave 257449 perteneciente a la Convocatoria 2015 “Investigación Científica Básica” del CONACYT y fue realizado en el Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología (DEMAB) de la Universidad Autónoma de Campeche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- Benavente D, García del Cura M, Bernabéu A, Ordóñez S. 2001. Quantification of salt weathering in porous stones using an experimental continuous partial immersion method. Engineering Geology, 59: 313–325.

2.- Camacho-Chab JC, Guézennec J, Chan-Bacab MJ, Ríos-Leal E, Sinquin C, Muñiz-Salazar R, De la Rosa-García S, Reyez-Estebanez M, Ortega-Morales B.O. 2013. Emulsifying activity and stability of a non-toxic bioemulsifier synthesized by *Microbacterium* sp. MC3B-10. International Journal of Molecular Sciences, 14: 18959-18972.

3.- Domínguez-Canales VS, Zegbe-Domínguez JA, Alvarado-Nava MD, Mena-Covarrubias J. 2011. Extracción y purificación de mucílago de nopal. Desplegable Informativa No. 21. INIFAP. Consultado 10-01-18 en http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/extMuNopal.pdf

4.- Drdácký, M.; Lesák, J.; Rescic, S.; Slížková, Z.; Tiano, P.; Valach, J. 2012. Standardization of peeling tests for assessing the cohesion and consolidation characteristics of historic stone surfaces. Materials and Structures, 45: 505–520.

5. - Doehne E, Price C.A. 2010. Stone conservation: An overview of current research. Research in Conservation, 2: 1–48.

6. - Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350–356.

7. - Lowry O, Rosebrough H, Farr A, Randall R. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. JournalofBiologicalChemistry, 193: 265–275.

8.- Ortega-Morales BO, Santiago-García JL, Chan-Bacab MJ, Moppert X, Miranda-Tello E, Fardeau ML, Carrero JC, Bartolo-Pérez P, Valadéz-González A, Guezennec J. 2007. Characterization of extracelular polymers synthesized by tropical interdial biofilm bacteria. Journal of Applied Microbiology, 102: 254–264.

9.- UNI EN 15801:2010. 2010. Conservation of cultural property- Test methods, Determination of water absorption by capillarity.

10.- Viles H, Goudie A, Grab S, Lalley J. 2011. The use of the Schmidt Hammer and Equotip for rock hardness assessment in geomorphology and heritage science a comparative analysis. Earth Surface Processes and Landforms, 36: 320–332.