

LUMINESCENT STAINING WITH RHODAMINE B TO STUDY THE PENETRATION OF CALCIUM HYDROXIDE-BASED (Ca (OH)₂) NANOPARTICULATED CONSOLIDANTS TO PRESERVE ROCK ART

TINCIÓN LUMINISCENTE CON RODAMINA B PARA ESTUDIAR LA PENETRACIÓN DE CONSOLIDANTES NANOPARTICULADOS A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO (Ca (OH)₂) EN LA CONSERVACIÓN DE ARTE RUPESTRE

Gemma Barreda-Usó^a, M^a Antonia Zalbidea-Muñoz^b

^aFBG / Universitat de Barcelona. LARcHer, Spain

^bUniversitat Politècnica de València, Spain.

gemma.barredauso@ub.edu

Abstract: this paper discusses part of the research carried out on consolidation materials in Cova Remigia (Castellón-Spain), a shelter where an example of Levantine rock art is found. In this research, the potential use is examined of a number of calcium hydroxide-based (Ca (OH)₂) nanoparticulated consolidants to preserve rock art in open air on calcareous surfaces. To understand the behavior of these consolidants and their interaction with the rock, a comparative study was carried out between *Nanorestore*[®] and four products from the *CaLoSiL*[®] range. The analyses included a penetration test with different consolidating solutions stained with *Rhodamine B* and their subsequent analysis by means of

Resumen: este artículo muestra parte de la investigación sobre materiales de consolidación llevada a cabo en Cova Remigia (Castellón, España), un abrigo donde se conservan paneles con arte rupestre levantino. Esta investigación examina la idoneidad de diversos productos nanoparticulados a base de hidróxido cálcico (Ca (OH)₂) aplicados sobre soporte pétreo de origen calcáreo, para valorar su posible uso en procesos de consolidación de arte rupestre. Para comprender el comportamiento de estos consolidantes y su interacción con la roca, se realizó un estudio comparativo entre *Nanorestore*[®] y cuatro productos de la gama *CaLoSiL*[®]. Los análisis incluyeron un ensayo de penetración de los diferentes consolidantes teñidos con Rodamina B y su posterior análisis mediante microscopía

confocal luminescent microscopy. The images obtained were processed with *ImageJ*[®] software to assess the depth reached.

Key words: rock art; consolidant; nanoparticles; calcium hydroxide; penetration test; Rhodamine B; confocal luminescent microscopy.

Introduction

Rock art is one of the few prehistoric vestiges of our cultural heritage that can still be found today in several shelters. The rock art found in the Mediterranean basin (also known as Levantine art) on the Iberian Peninsula is the largest group of rock art sites in Europe and was declared a World Heritage site at the General Assembly of UNESCO held in Tokyo in 1998. *Cova Remigia* is part of this World Heritage site. This shelter is located in the *Alt Maestrat* region (Castellón, Spain). It is 20 meters long, 9 meters deep and 7 meters high (Sarriá, 1989, p. 10), and it is one of the most important examples of Levantine rock art painting, not only due to the quantity of paintings found, but due also to their quality. These Neolithic paintings were scientifically recognized in 1934 by Gonzalo Espresati (Sarriá, 1989, p. 8) and due to their extreme fragility, their preservation is of utmost importance.

Along with the damage as a consequence of the inherent ageing of its constituent materials, rock art is extremely vulnerable since it is usually exposed to the direct effects of uncontrolled, fluctuating environmental conditions (Barreda and Zalbidea, 2018, p. 157). Atmospheric conditions as well as biological agents, anthropic impact, etc. play a key role in their degradation (Ballester, 2003; Barreda, 2016, p. 21; Beltrán, 1987, pp. 81-96; Guillaumet, 1990, pp. 69-72). All these factors induce significant changes in the structure of the

confocal de luminiscencia. Las imágenes obtenidas se procesaron con el software *ImageJ*[®] para evaluar la profundidad alcanzada.

Palabras clave: arte rupestre; consolidantes nanoparticulados; hidróxido de calcio; prueba de penetración; Rodamina B; microscopía confocal de luminiscencia.

Introducción

Los abrigos con arte rupestre son de los pocos vestigios prehistóricos que todavía están presentes en nuestro patrimonio cultural. En conjunto, las muestras de arte rupestre localizadas en el Arco Mediterráneo de la Península Ibérica (también conocido como arte levantino) se consideran como el mayor yacimiento de arte rupestre en Europa, declarado Patrimonio de la Humanidad en la Asamblea General de la UNESCO celebrada en Tokio en 1998. *Cova Remigia* forma parte de este conjunto del Patrimonio Mundial. Este abrigo se encuentra en la comarca del *Alt Maestrat* (Castellón, España), con unas dimensiones de 20 metros de largo, 9 metros de profundidad y 7 metros de altura (Sarriá, 1989, p. 10), es uno de los ejemplos más importantes del arte rupestre levantino, no solo debido a la cantidad de pinturas encontradas, sino también a su calidad. Estas pinturas neolíticas fueron analizadas científicamente en 1934 por Gonzalo Espresati (Sarriá, 1989, p. 8).

Además de la degradación sufrida como consecuencia del envejecimiento inherente de los materiales constituyentes de la pintura y el soporte, es necesario subrayar que el arte rupestre es extremadamente vulnerable al estar expuesto a los efectos directos de las condiciones ambientales fluctuantes e incontroladas (Barreda y Zalbidea, 2018, p. 157). Por lo tanto, hay que reseñar que al impacto del paso del tiempo sobre las pinturas, se unen las alteraciones generadas por causas atmosféricas del entorno donde se hayan ubicadas, además de los daños ocasionados por agentes biológicos, antrópicos, etc.

rock, including physical-mechanical damage in the form of cracks, loss of cohesion, fractures, flaking, pulverizing, etc., which may ultimately lead to the loss of the rock, severely affecting the visual perception of the paintings. These disturbances can only be controlled through periodic preventive conservation maintenance that allows the pre-emptive detection of anomalies and anticipation of any change that may occur in the structure (Alloza et al., 2009, p. 318; Alloza et al., 2012, pp. 89-105; Alloza, Royo and Latorre 2016, pp. 635-642; Beltrán, 1987, pp. 81-96; Barreda and Zalbidea, 2018, p. 157; Hernández and Royo, 2015; Rodríguez and Domingo, 2018).

Usually, localized consolidation of support structures is carried out to prevent detachment and loss of material as a result of the lack of cohesion. Despite consolidation being an accepted and routine structural treatment in paintings conservation, (Torraca and Mora, 1965, pp. 109-32; Mora, Mora and Philippot, 1999, p. 229; Muñoz, Osca and Gironés, 2014, p. 14), little research has been performed into the consolidation of rock painting (Barreda and Zalbidea, 2018, p. 175).

The purpose of this study is to gain an insight into some consolidation processes that are commonly applied to rock paintings. The analyses carried out at Cova Remígia belong to one of the most recent investigations on the use of inorganic consolidants on limestone rock, in order to substitute synthetic organic products that show other properties different from the structure of the stone and, as a result, cause a greater degradation and they are transformed into products that are incompatible with the physical-chemical nature of the limestone (Baglioni and Giorgi, 2006, p. 301; Carreti and Dei, 2006, pp. 929-938; Chelazzi et al., 2013, pp. 42-49; Giorgi, Dei and Baglioni, 2000, pp. 154-161; Giorgi, Baglioni,

(Ballester, 2003; Barreda, 2016, p. 21; Beltrán, 1987, pp. 81-96; Guillamet, 1990, pp. 69-72). Todos estos factores generan cambios significativos en la estructura de la roca, incluidos daños físico-mecánicos en forma de: grietas, pérdida de cohesión, fracturas, descamación, pulverización, etc., que en última instancia pueden llevar a la pérdida de materia pétreo y afectar gravemente en la percepción visual del conjunto pictórico. Estas alteraciones solo pueden controlarse preventivamente mediante un mantenimiento periódico, el cual permita la detección prematura de anomalías y la anticipación de cualquier cambio que pueda suceder de modo estructural (Alloza et al., 2009, p. 318; Alloza et al., 2012, pp. 89-105; Alloza, Royo y Latorre 2016, pp. 635-642; Beltrán, 1987, pp. 81-96; Barreda y Zalbidea, 2018, p. 157; Hernández y Royo, 2015; Rodríguez y Domingo, 2018).

Generalmente, la forma de evitar los desprendimientos y la pérdida de materia por descohesión, es mediante la realización de consolidaciones puntuales del soporte (Torraca y Mora, 1965, pp. 109-132; Mora, Mora y Philippot, 1999, p. 229; Muñoz, Osca y Gironés, 2014, p. 14). A pesar de tratarse de un proceso determinante para garantizar la conservación de las pinturas rupestres, son pocos los trabajos de investigación en consolidación de la pintura rupestre publicados hasta el momento (Barreda y Zalbidea, 2018, p. 175).

El objetivo principal de este estudio es examinar algunos de los procesos de consolidación que se aplican comúnmente a las pinturas rupestres. Por ello, los análisis realizados en Cova Remígia pertenecen a una de las investigaciones más recientes sobre el uso de consolidantes inorgánicos en piedra caliza. Al mismo tiempo, su uso se propone para sustituir a los productos orgánicos sintéticos que muestran propiedades muy diferentes a la estructura de la roca y, con ello, pueden potenciar la degradación, debido a que se transforman en productos que son incompatibles con la naturaleza físico-química de la piedra caliza (Baglioni y Giorgi, 2006, p. 301; Carreti y Dei, 2006, pp. 929-938; Chelazzi et al., 2013, pp. 42-49 ; Giorgi, Dei y Baglioni,

Berti and Baglioni, 2010, pp. 695-704; Gómez-Villalba, López-Arce, Zornoza, Álvarez and Fort, 2011a, pp. 85-92; Gómez-Villalba, López-Arce, Fort, Álvarez and Zornoza, 2011b, p. 40; Fort, et al., 2011, pp. 668-672). In this research, the areas where the consolidants were applied were carefully documented so as not to interfere with later archaeological scientific research (Barreda, 2012, 2016).

State of the Art

Studies on the conservation of rock shelters are scarce (Ballester, 2003; Barreda, 2012, 2016; David, 2008). *Paraloid B72*[®], an organic synthetic resin, is among the products traditionally used to adhere small flaky areas (Ballester, 2003, pp. 140-159; Martínez, Guillem and Ballester, 2011, p. 84). The first studies that addressed the issues related to its use date back to 2005 (Bensi, 2006, pp. 81-84; Bonsanti, 2006, pp. 47-52; Lanfranchi, 2006, pp. 69-80; Giorgia et al., 2010, pp. 695-704; De Rosario, 2017, pp. 54-55). Paradoxically, and despite the publications providing counter-indications, *Paraloid B72*[®] is still used in the conservation of rock paintings. Recent studies suggest to use inorganic products that are compatible with the composition of the original stone (Barreda, 2012, pp. 75-76; Barreda 2016, pp. 539-549). Calcium hydroxide-based ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) nanoparticulated consolidants have been tested in dispersion in various types of alcohol, and have been proven to provide an appropriate stability and excellent strengthening qualities (Chelazzi et al., 2013, pp. 42-49; Ruffolo et al., 2014, pp. 753-758). In these next-generation products expressly designed to strengthen the stone, the presence of alcohol facilitates the penetration of the lime nanoparticles and prevents an excess build-up of moisture, resulting in a network of limestone micro-crystals which confer improved

2000, pp. 154-161; Giorgia, Baglioni, Berti y Baglioni, 2010, pp. 695-704; Gómez-Villalba, López-Arce, Zornoza, Álvarez y Fort, 2011a, pp. 85-92; Gómez-Villalba, López-Arce, Fort, Álvarez y Zornoza, 2011b, p. 40; Fort, et al., 2011, pp. 668-672). Cabe destacar que, en esta investigación, se aboga por efectuar una documentación detallada de las zonas donde se apliquen consolidantes, para que *a posteriori* no interfieran con los resultados de los estudios arqueológicos (Barreda, 2012, 2016).

Estado de la cuestión

Como se ha expuesto en la introducción, son pocos los estudios específicos sobre la consolidación de pintura rupestre al aire libre (Ballester, 2003; Barreda, 2012, 2016; David, 2008). Entre los productos utilizados para consolidación de zonas pulverulentas o pequeñas lascas se ha utilizado resina sintética orgánica, *Paraloid B72*[®] (Ballester, 2003, pp. 140-159; Martínez, Guillem y Ballester, 2011, p. 84). Los primeros estudios que abordaron los problemas relacionados con el uso del *Paraloid B72*[®] se remontan a 2005 (Bensi, 2006, pp. 81-84; Bonsanti, 2006, pp. 47-52; Lanfranchi, 2006, pp. 69-80; Giorgia et al., 2010, pp. 695-704; De Rosario, 2017, pp. 54-55). Paradójicamente, y a pesar de las publicaciones que proporcionan contraindicaciones en su uso, el *Paraloid B72*[®], todavía se ha utilizado en la conservación de pinturas rupestres. Por otro lado, investigaciones más recientes sugieren la utilización de productos inorgánicos que sean compatibles con la composición de la piedra original (Barreda, 2012, pp. 75-76; Barreda 2016, pp. 539-549). Así mismo, existen estudios que han testado consolidantes nanoparticulados a base de hidróxido cálcico ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en dispersión en varios tipos de alcoholes, y han demostrado una estabilidad adecuada y excelente poder de consolidación (Chelazzi et al., 2013, pp. 42-49; Ruffolo et al., 2014, pp. 753-758). Son productos de nueva generación diseñados expresamente para fortalecer la piedra, así mismo la presencia de alcohol facilita la penetración de las nanopartículas de cal y evita una aportación excesiva de humedad, originando una red de microcristales de calcita que confieren propiedades mecánicas

mechanical properties without introducing foreign materials and without modifying the permeability of the treated surface (Ambrosi, Dei, Giorgi, Neto and Baglioni, 2001, pp. 4251-4255; Arizzi, Gómez-Villalba, López-Arce, Cultrone and Fort, 2015, pp. 311-323; Gómez-Villalba et al., 2011a, pp. 39-57; Gómez-Villalba et al., 2011b, pp. 85-92). In order for the consolidation treatment to be effective and to restore the lost cohesion, consolidants must sufficiently penetrate the porous area for long-term consolidation, without creating changes such as white halos.

However, while the compatibility and stability of these products with limestone has been demonstrated, further research is needed to study to determine the most effective application methodology to reach a deeper penetration.

Methodology

In this research, tests were carried out with Rhodamine B to evaluate the depth of penetration of a series of consolidants selected as a function of their high compatibility with the rock (Barreda and Zalbidea, 2014, pp. 13-21). The work phases were distributed in six stages:

1. Characterization of the stone material at *Cova Remígia* (Fig.1). The results of the petrographic analysis of the stone of *Cova Remígia* indicates that it is an *oosparite* (classification according to Folk, 1962, pp. 62-84) (Fig.2).
2. Selection of consolidant materials to be tested: *Nanorestore*[®] y *CaLoSiL*[®] (E-5, E-25 Grey, IP-5 y and NP-5).
3. Selection of the fluorescent marker: Rhodamine B was selected. Staining with Rhodamine allows the direct and objective observation of the location reached by consolidants using optical luminescence

mejoradas sin introducir materiales extraños a la naturaleza química del original y no modifican la permeabilidad de la superficie tratada (Ambrosi, Dei, Giorgi, Neto y Baglioni, 2001, pp. 4251-4255; Arizzi, Gómez-Villalba, López-Arce, Cultrone y Fort, 2015, pp. 311-323; Gómez-Villalba et al., 2011a, pp. 39-57; Gómez-Villalba et al., 2011b, pp. 85-92). Es necesario añadir, que para que el tratamiento de consolidación sea efectivo y restaure la cohesión perdida, los consolidantes deben penetrar lo suficiente en el interior de la red porosa para que se produzca una consolidación duradera, además de no generar cambios en superficie, como los halos blanquecinos.

Sin embargo, aunque en la práctica se ha demostrado la compatibilidad y estabilidad de estos productos con la piedra caliza, será necesario ampliar la investigación en este campo para estudiar y determinar una metodología de aplicación más efectiva que ayude a alcanzar una penetración más profunda.

Metodología

En esta investigación, se realizaron pruebas con Rodamina B para evaluar la profundidad de penetración de una serie de consolidantes seleccionados en función de su alta compatibilidad con la piedra (Barreda y Zalbidea, 2014, pp. 13-21). Las fases de trabajo se repartieron en seis etapas:

1. Caracterización del material de piedra en *Cova Remígia* (Fig.1). Cuyos resultados del análisis petrográfico de la piedra de *Cova Remígia* indican que se trata de una *oosparita* (clasificación según Folk, 1962, pp. 62-84) (Fig.2).
2. Selección de materiales consolidantes para ser testeados: *Nanorestore*[®] y *CaLoSiL*[®] (E-5, E-25 Grey, IP-5 y NP-5).
3. Selección del marcador fluorescente: en este caso, Rodamina B. La tinción con Rodamina permite la observación directa y objetiva de la ubicación alcanzada

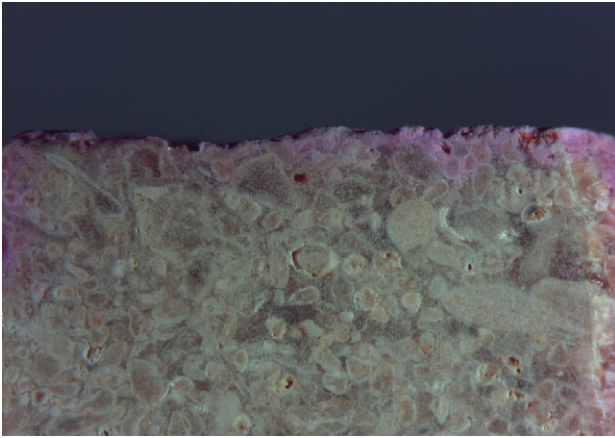


Figure 1 | Characterization of the stone material from Cova Remigia. Stereomicroscope LEICA M165. Central Service for Experimental Research Support (SCSIE) of the University of Valencia (UV).

Figura 1 | Caracterización del material pétreo de Cova Remigia. Microscopio estereoscópico LEICA M165. Servicio Central de Apoyo a la Investigación Experimental (SCSIE) de la Universidad de Valencia (UV).

microscopy. Rhodamine creates a distinctive luminescence, which allows to distinguish between the luminescence emitted by the rock and that of the consolidant (Zucker, 2011, pp. 10-12).

4. Preparation of samples: fragments of stone dispersed around the shelter and with a similar surface patina were selected and impregnated with the different consolidants previously mixed with Rhodamine B.
5. Analysis of the samples with confocal microscopy (LEICA DMR with a 120W fluorescent lamp) made in Microscopy laboratory of the *Central Service for Experimental Research Support (SCSIE) of the University of Valencia (UV)*. And high-resolution digital images with DFC450C camera.
6. Processing of images with *ImageJ*¹ software to determine the level of depth of the stained consolidants.

¹ *ImageJ*[®] is a public domain, image processing program focused on scientific areas which provides a great variety of editing, processing and image analysis tools in a multitude of formats.

por los consolidantes utilizando microscopía óptica de fluorescencia. La Rodamina crea una luminiscencia distintiva que permite distinguir entre la luminiscencia emitida por la piedra y la del consolidante (Zucker, 2011, pp. 10-12).

4. Preparación de las muestras. Se seleccionaron fragmentos de piedra depositados alrededor del abrigo, que presentaran una pátina superficial similar a la que mostraban los paneles pintados. Sobre ésta, se aplicaron los distintos consolidantes previamente teñidos con la Rodamina B.
5. Análisis de las muestras con microscopía confocal fluorescente (LEICA DMR con una lámpara fluorescente de 120W), realizada en el laboratorio de Microscopía del Servicio Central de Apoyo a la Investigación Experimental (SCSIE) de la Universidad de Valencia (UV). Con obtención de las imágenes digitales de alta resolución con la cámara DFC450C.
6. Procesado de imágenes, con el software *ImageJ*^{®1} para determinar el nivel de profundidad de los consolidantes teñidos proporcionando un análisis estratigráfico según el cambio de color.

¹ *ImageJ*[®] es un programa de procesamiento de imágenes de dominio público centrado en áreas científicas que proporciona una gran variedad de herramientas de edición, procesamiento y análisis de imágenes en una multitud de formatos.

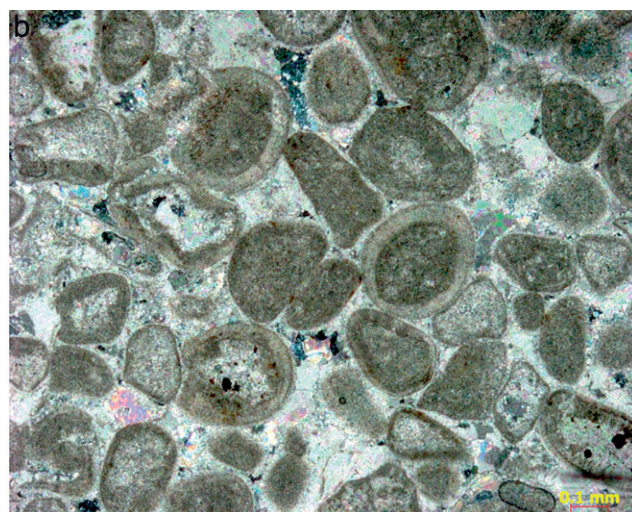
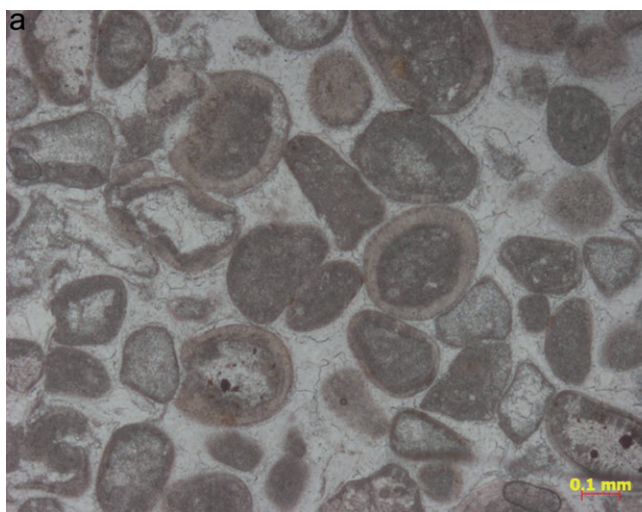


Figure 2 | a-b. Petrographic analysis of the stone support from Cova Remigia, with polarized light microscopy (PLM- Zeiss Axioskop 40 microscope-).

Figura 2 | a-b. Análisis petrográfico del soporte pétreo de Cova Remigia, con microscopía de luz polarizada (PLM-Zeiss Axioskop 40 microscope-)

Products and Treatments

This research builds up on previous research carried out with stained consolidants (Barreda and Zalbidea, 2014, pp. 1-8; Barreda, 2016, p. 327). In these earlier studies five consolidants were tested with a low solid concentration (5 g/L and 25 g/L) and with particles between 1–250 nanometres: *Nanorestore*[®] (dispersed in isopropyl alcohol) and four *CaLoSiL*[®] products: *E-5* and *E-5 Grey* (both dispersed in ethanol), *IP-5* (dispersed in isopropanol) and *NP-5* (dispersed in N-propanol). All consolidants were prepared in the same concentration (5 g/L) (Table 1), as this concentration prevents the accumulation of material on the surface and the formation of white halos (Barreda, 2016, p. 357).

Rhodamine B (an alcohol-soluble fluorescent chemical compound supplied in the form of a violet powder that acquires a rose-coloured tone

Productos y tratamientos

Esta investigación se desarrolla a partir experiencias anteriores llevadas a cabo con tinción de consolidantes (Barreda y Zalbidea, 2014, pp. 1-8; Barreda, 2016, p. 327). A partir de las cuales surge este estudio comparativo, donde se analizaron cinco consolidantes constituidos por una baja concentración de sólido (5 g/L y 25 g/L) y partículas de tamaño entre 1 y 250 nanómetros: *Nanorestore*[®] (dispersión en alcohol isopropílico); y cuatro productos *CaLoSiL*[®]: *E-5* y *E-5 Grey* (ambos dispersos en etanol), *IP-5* (dispersión en isopropanol) y *NP-5* (dispersión en N-propanol). Todos los consolidantes se prepararon en la misma concentración (5 g/L) (Tabla 1), debido a que de este modo se evita la acumulación de material en superficie y por lo tanto, la formación de halos blanquecinos (Barreda, 2016, p. 357).

Posteriormente, se añadió la Rodamina B (un compuesto químico fluorescente soluble en alcohol suministrado en forma de un polvo violeta que adquiere un

upon dissolution) was added to the consolidants. Rhodamine B acts as a marker given its luminescence emission differs from that of the rock. This allows the examination and evaluation of the level of penetration reached by each consolidant.

Ten limestone samples were prepared, five of which were polished according to UNE-EN 15801 standards (Group A) and the other five maintained their original surface patina (Group B). Three coats of consolidant were applied with a brush at twenty-four-hour intervals. Upon drying, cross-sections were prepared and luminescence microscopy analyses were carried out (Table 2).

Results

Figures 3 to 6 present the results obtained. Binary images with two light values (black, showing the fluorescence of the rock, and red, showing the luminescence emitted by Rhodamine B) were obtained using *ImageJ*[®] software. Luminescence staining provides particularly interesting information and evidences differences in consolidant penetration between polished samples (Group A),

tono de color rosa en la disolución) a los consolidantes. La Rodamina B actúa como un marcador dado que su emisión de fluorescencia difiere de la de la piedra. Esto permite realizar, posteriormente, el examen y la evaluación del nivel de penetración alcanzado por cada consolidante a través del uso del microscopio confocal y su posterior procesado con el software *ImageJ*[®].

Se prepararon diez muestras de piedra caliza, cinco de las cuales se pulieron de acuerdo con las normas UNE-EN 15801 (Grupo A) y los otros cinco mantuvieron su pátina de superficie original (Grupo B). Se aplicaron tres capas de consolidante con un pincel a intervalos de veinticuatro horas. Tras el secado, se prepararon secciones transversales y se realizaron análisis de microscopía de fluorescencia (Tabla 2).

Resultados

Las Figuras 3 a 6 presentan los resultados obtenidos. Se obtuvieron imágenes binarias con dos valores de luz (negro, que muestran la fluorescencia de la roca, y rojo, que muestra la fluorescencia emitida por la Rodamina B). Una vez obtenidas las imágenes, fueron tratadas con el software *ImageJ*[®]. Como se puede observar en las figuras



Table 1 | Products tested with Rhodamine B (concentration and particle size according to the manufacturer).

Nanoparticles of calcium hydroxide / Nanopartículas de hidróxido de calcio				
Products Productos	Dispersion Dispersión	Manufacturing Concentration Concentración de fábrica	Concentration used in the study Concentración en este estudio	Particle size mm Tamaño partículas mm
Nanorestore [®] N	Denatured Isopropyl Alcohol	0,8 kg/L	5 g/L	1-100
CaLoSiL [®] IP5	Isopropyl alcohol	5 g/L	5 g/L	50-250
CaLoSiL [®] NP5	N-propanol	5 g/L	5 g/L	50-250
CaLoSiL [®] E5	Ethanol	5 g/L	5 g/L	50-250
CaLoSiL [®] E25g	Ethanol	25 g/L	5 g/L	50-250

Tabla 1 | Productos testados con Rodamina B (concentración y tamaño de partícula según el fabricante).

Table 2 | Samples used in penetration tests of the consolidants using fluorescent staining.

Tabla 2 | Muestras utilizadas en pruebas de penetración de los consolidantes utilizando tinción fluorescente

Consolidation penetration test by means of Staining with Rhodamine B / <i>Evaluación de la penetración del consolidante mediante tinción con Rodamina B</i>		
Samples / Muestras		Application Method / Método de aplicación
 <p>GROUP / GRUPO A (Polished surface / Superficie pulida)</p>	31 E5	3 layers with brush <i>3 capas con pincel</i>
	32 E25g	
	33 IP5	
	34 NP5	
	35 N	
 <p>GROUP / GRUPO B (Unpolished surface / Superficie no pulida)</p>	36 E5	
	37 E25g	
	38 IP5	
	39 NP5	
	40 N	

and those that preserve the original rock surface (Group B). The penetration and distribution of the consolidants through the porous area in the polished samples is vertical, uniform and quite stable. In the unpolished samples, the penetration of the different consolidants through the rock is uneven, random and minimal in the samples: 37 E25g, 40N, 38IP5, and certain areas remain undyed due to the low porosity of the rock. Results evidence that the compactness and porosity of the surface determines the penetration reached by each consolidant. As it can be observed, the consolidants penetrate effectively in those areas with cavities, thus enhancing cohesion. *Calosil E5*[®], *Calosil E25g*[®] and *Calosil IP5*[®], penetrate samples with polished surfaces three times further than unpolished samples (Table 3).

Regarding the tests carried out in the unpolished samples, it was observed that, despite having the smallest particle size, *Nanorestore*[®] has lower

(3 a 6) la tinción y la respuesta con fluorescencia proporcionó información particularmente interesante y evidenciaba diferencias en la penetración del agente de consolidación entre muestras pulidas (Grupo A) y aquellas que preservan la superficie de la piedra original (Grupo B). Cabe añadir que la penetración y distribución de los consolidantes a través del área porosa en las muestras pulidas es vertical, uniforme y bastante estable. En las muestras no pulidas, la penetración de los diferentes consolidantes a través de la roca es desigual, aleatoria y mínima, como se aprecia en las muestras: 37 E25g, 40N, 38IP5. Además, algunas áreas permanecen sin teñir debido a la baja porosidad de la roca. Los resultados evidencian que la irregularidad, compactidad y la porosidad de la superficie determinan la penetración alcanzada por cada consolidante. Como se puede observar, los consolidantes penetran de manera efectiva en aquellas zonas con oquedades, debido a que éstas son colmadas y mejora así la cohesión. Tanto el *CaLoSil E5*[®], como el *CaLoSil E25g*[®] y el *CaLoSil IP5*[®], penetraron tres veces más en las probetas con superficies pulidas que en las probetas no pulidas (Tabla 3).

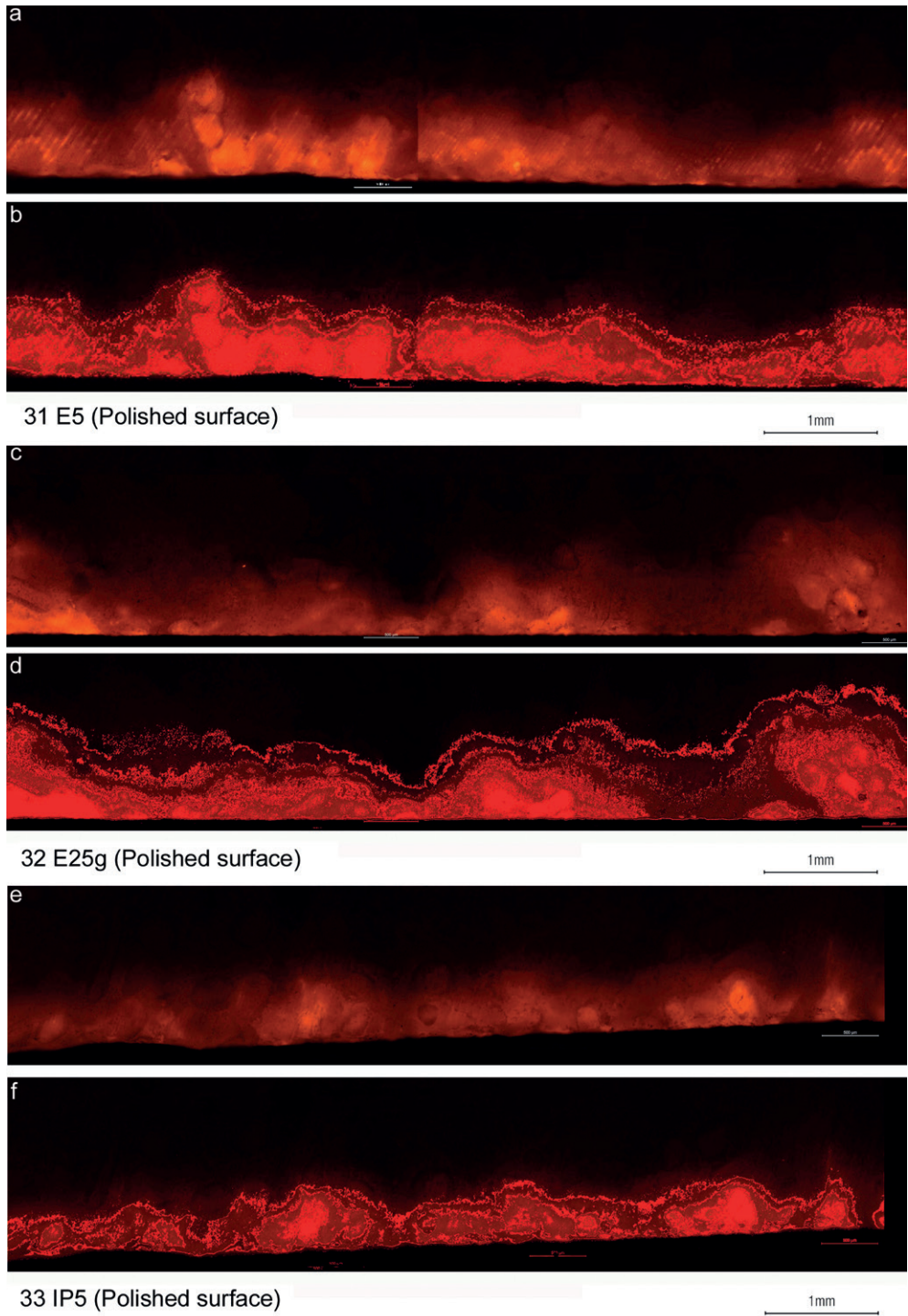
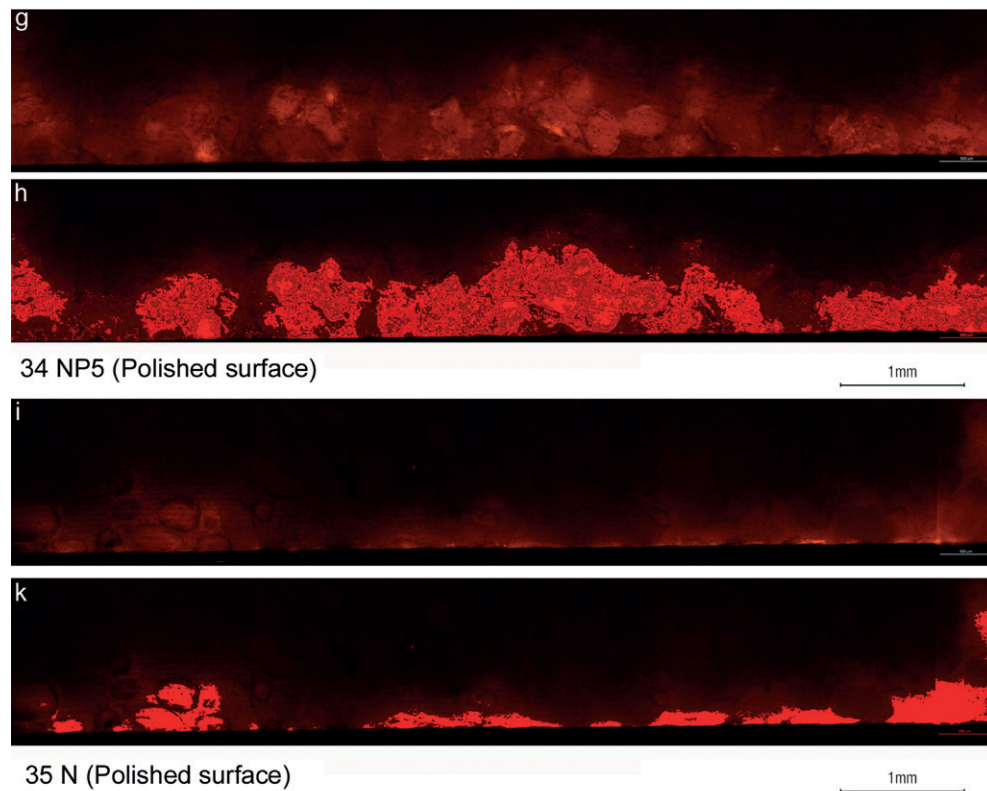


Figure 3 | Group A. Fluorescent staining (a, c, e). Image captured with confocal microscopy (LEICA DMR with a 120W fluorescent lamp). Later evaluated with *ImageJ*[®] software (b, d, f).

Figura 3 | Grupo A. Muestras por tinción fluorescente (a, c, e). Imagen capturada con microscopía confocal (LEICA DMR con una lámpara fluorescente de 120W). Más tarde evaluado con el software *ImageJ*[®] (b, d, f).

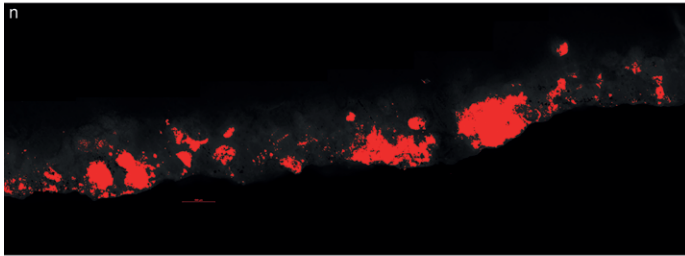
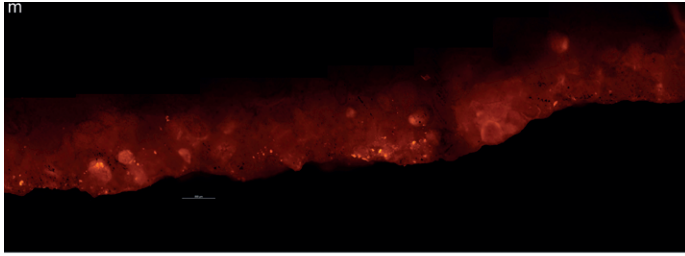
Figure 4 | Fluorescent staining of samples from group A (g, i). Treated using ImageJ® software (h, k).

Figura 4 | Muestras del grupo A, obtenidas mediante tinción fluorescente (g, i). Tratado con el software ImageJ® (h, k).

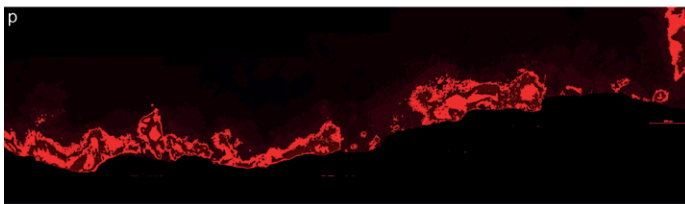


penetration than *Calosil* E25g®, IP5®, and *Calosil* E5®. Moreover, when ethanol or isopropyl alcohol are used with calcium hydroxide, the agglomeration rate slows down, favoring the penetration of the product and consequently avoiding surface agglomeration creating whitish halos. No significant differences are observed that relate to different evaporation rates of the alcohols. This suggests that -considering the porous structure of the substrate-, the consolidant concentration should be adjusted by dilution and that an appropriate application methodology should be selected to increase the penetration of the consolidant. In these tests, a 5 g/L concentration proved to be effective in avoiding white halos and ensuring the proper flow of all tested consolidants.

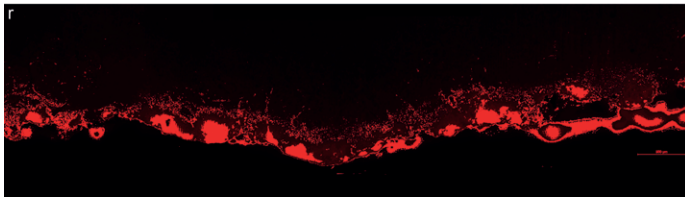
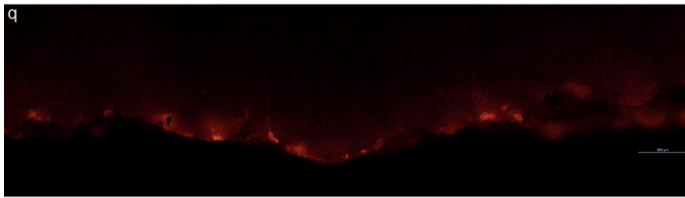
Con respecto a las pruebas realizadas en las muestras sin pulir, se observó que, a pesar de tener el tamaño de partícula más pequeño, *Nanorestore*® tiene una penetración inferior que *CaLoSil* E25g®, IP5® y *CaLoSil* E5®. Además, cuando se usa etanol o isopropanol con hidróxido de calcio, la tasa de aglomeración se reduce, lo que favorece la penetración del producto y, por consiguiente, evita su aglomeración en superficie y la formación de halos blanquecinos. Tampoco se observaron diferencias significativas relacionadas con diferentes tasas de evaporación de los alcoholes empleados. Esto sugiere que, considerando la estructura porosa del sustrato, se debe ajustar la concentración de consolidante por dilución y seleccionar una metodología de aplicación adecuada para aumentar la penetración del mismo. En estas pruebas, una concentración de 5 g/L demostró ser eficaz para evitar los halos blanquecinos y asegurar el flujo adecuado de todos los consolidantes probados.



36 E5 (Unpolished surface) 1mm



37 E25g (Unpolished surface) 1mm



38 IP5 (Unpolished surface) 1mm

Figure 5 | Fluorescent staining of samples from group B (m, o, q). Treated using *ImageJ*[®] software (n, p, r).

Figura 5 | Muestras del grupo B, obtenidas mediante tinción fluorescente (m, o, q). Tratado con el software *ImageJ*[®] (n, p, r).

Figure 6 | Fluorescent staining of samples from group B (s, u). Treated using *ImageJ*[®] software (t, w).

Figura 6 | Muestras del grupo B, obtenidas mediante tinción fluorescente (s, u). Tratado con el software *ImageJ*[®] (t, w).

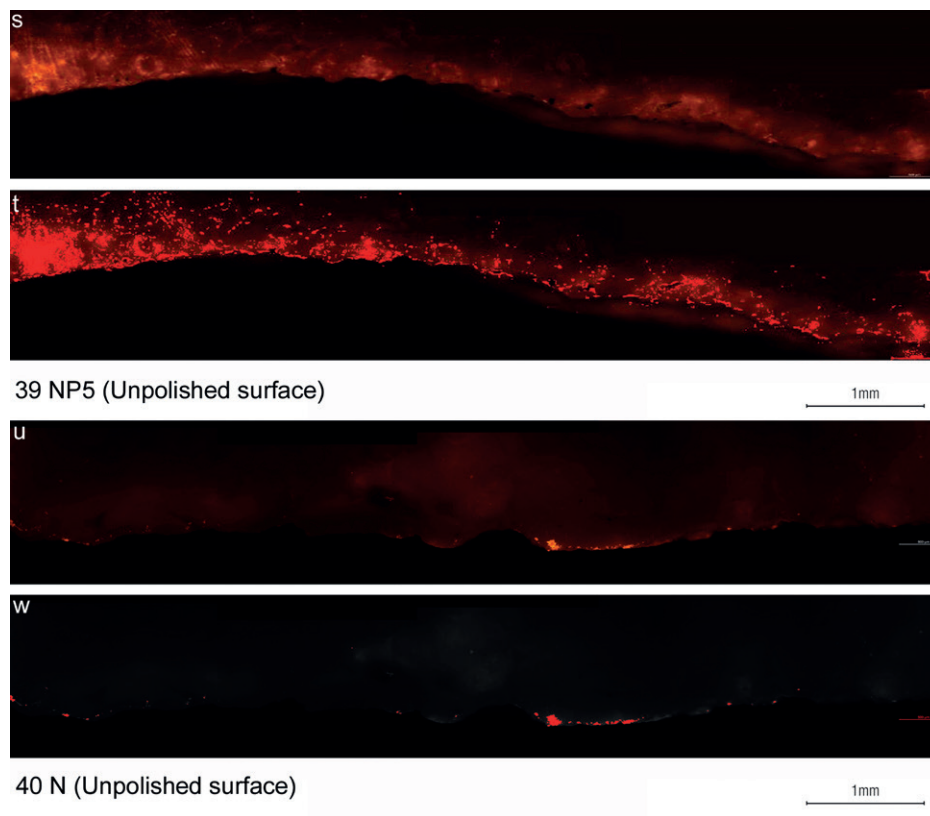


Table 3 | Average values of penetration of the products obtained through data processing with *ImageJ*[®] Software. Penetration into surfaces in mm.

Tabla 3 | Valores medios de penetración de los productos obtenidos a través del procesamiento de datos con el software *ImageJ*[®]. Penetración en superficies en mm.

Samples/ Muestras		Area / Área	Mean / Valor	Min. / Mín.	Max. / Máx.	Angle / Ángulo	Length / Extensión
GROUP A GRUPO A	31 E5	424	84.357	47.409	86.411	71.932	493.644
	32 E25g	628	63.776	17.533	89.206	71.954	560.634
	33 IP5	328	64.687	37.204	90.888	50.496	327.073
	34 NP5	580	65.377	28.755	89.369	47.894	579.102
	35 N	205	61.962	18.725	83.094	52.439	203.955
GROUP B GRUPO B	36 E5	12.752.602	67.764	28.126	91.915	50.455	1.498.633
	37 E25g	12.977.633	58.980	16.498	95.909	50.624	1.528.660
	38 IP5	0.014	67.505	14.439	65.806	20.294	1.573.000
	39 NP5	704.4	79.651	26.260	87.902	63.101	703.378
	40 N	154.9	30.678	4.742	75.045	35.638	154.058

Conclusions

Staining tests with Rhodamine B have proven to be helpful for the evaluation of the level of penetration of nanoparticulate consolidants ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) onto limestone rock. The results obtained through optical luminescence confocal microscopy and the subsequent data processing with *ImageJ*[®] show an interrelation between the porosity of the rock and the penetration (and effectiveness) of the consolidants used.

The use of Rhodamine B has evidenced that the penetration of a given consolidant increases from 1 to 1.5 mm if the samples (*Calosil* NP5[®] and *Nanorestore*[®]) are polished, as required by the normative UNE-EN 15801 (Group A). However, it is also observed that the level of penetration of the same consolidant decreases by three in the unpolished samples (Group B). This suggests that testing standards (where specific sample size and surface sanding are required) are not suited for testing consolidants for heritage applications where polishing is not possible as it would destroy the surface. Polishing distorts the natural conditions of the rock, thus changing its porosity and consequently, the absorption and penetration of the consolidating materials.

The use of confocal microscopy and subsequent processing with *ImageJ*[®] software provides a suitable quantitative analysis of the optical data obtained through the analysis of segmented lines, which are translated into measurable data, such as area, length of angle, and distance between two points. The study of petrographic thin sections by confocal microscopy is suggested as an additional method to determine the extent of penetration of the consolidating solution.

Conclusiones

Las pruebas de tinción con Rodamina B han demostrado ser útiles para la evaluación del nivel de penetración de los consolidantes de nanopartículas ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en la roca caliza. Los resultados obtenidos a través de la microscopía óptica de fluorescencia confocal y el subsiguiente procesamiento de datos con *ImageJ*[®], muestran una interrelación entre la porosidad de la roca y la penetración (y efectividad) de los consolidantes utilizados.

El uso de Rodamina B ha demostrado que es evidente la penetración del consolidante dado que aumenta de 1 a 1.5 mm en las muestras están pulidas (Grupo A), tal y como lo exige la norma UNE-EN 15801 (como se puede observar en los casos de *CaLoSil* NP5[®] y *Nanorestore*[®]). Sin embargo, también se observa que el nivel de penetración de estos consolidantes disminuye tres veces, si las muestras no están pulidas (Grupo B). Esto sugiere que las pautas marcadas por la normativa estándar (donde se requiere un tamaño de muestra específico y el pulido de la superficie), no son adecuadas para testar los consolidantes usados en materia de patrimonio cultural, donde el pulido no sea posible debido a que destruye la pátina superficial original. El pulido, modifica las condiciones naturales de la piedra, cambiando así su porosidad y, en consecuencia, la absorción y penetración de los materiales de consolidación.

El uso de la microscopía confocal y el procesado posterior con el software *ImageJ*[®] proporciona un adecuado análisis cuantitativo de los datos ópticos obtenidos mediante el análisis de líneas segmentadas, que se traducen en datos cuantitativos, como el área, la longitud del ángulo y la distancia entre dos puntos. El estudio de las secciones delgadas petrográficas por microscopía confocal se sugiere como un método adicional para determinar el grado de penetración de la solución de consolidación.

Finally, it is important to note that further research is needed into the potential use of different application methodologies to effectively consolidate and protect rock art.

Acknowledgements

The authors thank Dr. Prof. Giovanni Cavallo, *Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana (SUPSI), Dipartimento Ambiente Costruzioni e Design, Istituto Materiali e Costruzione* for the analysis and characterization of the rock.

Finalmente, es importante tener en cuenta que se necesita más investigación sobre el uso potencial de diferentes metodologías de aplicación para consolidar y proteger efectivamente el arte rupestre.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Prof. Giovanni Cavallo, *Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana (SUPSI), Dipartimento Ambiente Costruzioni e Design, Istituto Materiali e Costruzione* por el análisis y caracterización de piedra.

References | Bibliografía

- Alloza, R., Arranz, E., González, J. M., Baldellou, V., Resaho, M., Marzo, P., and Vanhaecke, F. (2009). La conservación del arte rupestre: estudio de los factores de deterioro y de la composición química de los pigmentos. In J. A. López, R. Martínez, and C. Matamoros (Eds.), *IV Congreso El Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la Península Ibérica. 10 años en la Lista del Patrimonio Mundial de la UNESCO*, pp. 317-326. València: Generalitat Valenciana.
- Alloza, R., Royo, J. I., Recuento, J. L., Lecina, M., Pérez, R., and Iglesias, M. P. (2012). La conservación del arte rupestre al aire libre: Un desafío formidable. In M^a. N. Juste, M^a. Á.. Hernández, A. Pereta, J. I. Royo and J. A. Andrés (coord.), *Jornadas Técnicas para la Gestión del Arte Rupestre, Patrimonio Mundial. Parque Cultural del Río Vero (28 a 31 de mayo de 2012)*, pp. 89-105. Huesca: Comarca de Somontano de Barbastro.
- Alloza, R., Royo, J. I., and Latorre, B. (2016). La conservación de un bien declarado Patrimonio Mundial y el proyecto de monitorización del arte rupestre en Aragón. In J. I. Lorenzo and J. M^a. Rodanés (Eds.), *I Congreso Arqueología y Patrimonio Aragonés-CAPA*, pp. 635-642. Zaragoza: Colegio Oficial de Doctores y Licenciados en Filosofía-Letras y en Ciencias de Aragón.
- Ambrosi, M., Dei, L., Giorgi, R., Neto, C., and Baglioni, P. (2001). Colloidal particles of Ca(OH)₂: properties and applications to restoration of frescoes. *Langmuir*, 17(14), pp. 4251-4255. <https://doi.org/10.1021/la010269b>
- Arizzi, A., Gómez-Villalba, L. S., López-Arce, P., Cultrone, G., and Fort, R. (2015). Lime mortar consolidation with nanostructured calcium hydroxide dispersions: the efficacy of different consolidating products for heritage conservation. *European Journal of Mineralogy*, 27(3), pp. 311-323. <https://doi.org/10.1127/ejm/2015/0027-2437>
- Baglioni, P., and Giorgi, R. (2006). Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage. *Soft Matter*, 2(4), pp. 293-303. <https://doi.org/10.1039/b516442g>
- Ballester, L. (2003). *Conservación de las pinturas rupestres del Levante Español* (Unpublished doctoral thesis). Universitat Politècnica de València, Valencia.
- Barreda, G. (2012). *Investigación de tratamientos de consolidación del soporte rocoso en el Abric de Pinos (Benissa-Alicante)*. Diploma d' Estudis Avançats (DEA). Universitat Politècnica de València, València.
- Barreda, G., and Zalbidea, M^a. A. (2014). Estudio comparativo entre consolidantes para soporte pétreo con manifestaciones de arte rupestre mediante ensayos de penetración por tinción. In M. T. Vivancos, M. T. Domènech, M. Sánchez and J. Osca (Eds.), *EMERGE 2014-Jornadas de Investigación Emergente en Conservación y Restauración de Patrimonio*, pp.13-20. València: Universitat Politècnica de València.

- Barreda, G. (2016). *Consolidantes para soportes pétreos con manifestaciones de arte rupestre en la Comunidad Valenciana. Análisis prácticos en Cova Remígia (Barranc de Gasulla-Ares del Maestre)* (Unpublished doctoral thesis). Universitat Politècnica de València, Valencia. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/63280>
- Barreda, G., and Zalbidea, M. A. (2018). Estudio de conservación del Abric de Pinos (Benissa, Alacant): patologías causadas de deterioración d'un jaciment amb art rupestre llewantí. *Pyrenae*, 49(1), pp. 155-183. <http://doi.org/10.1344/Pyrenae2018.vol49num1.6>
- Beltrán, A. (1987). La Conservación del Arte Rupestre. *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología Castellonense*, 13, pp. 61-82.
- Bensi, P. (2006). Le resine acriliche sulle pitture murali. In A. Finozzi (Ed.) *Seminario Esperienze e Materiali di Restauro. Le Resine Acriliche Sulle Pitture Murali: Thiene (VI), Villa Fabris (11 giugno 2005)*, pp. 81-84. Padova: Il Prato.
- Bonsanti, G. (2006). Le resine acriliche sulle pitture murali. In A. Finozzi (Ed.) *Seminario Esperienze e Materiali di Restauro. Le Resine Acriliche Sulle Pitture Murali: Thiene (VI), Villa Fabris (11 giugno 2005)*, pp. 47-52. Padova: Il Prato.
- Carreti, E., and Dei, L. (2006). Gels as cleaning agents in cultural heritage conservation. In R. G. Weiss and P. Terech (Eds.), *Molecular Gels: Materials with self-assembled fibrillar networks*, pp. 929-938. Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-3689-2_28
- Chelazzi, D., Poggi, G., Jaidar, Y., Toccafondi, N., Giorgi, R., and Baglioni, P. (2013). Hydroxide nanoparticles for cultural heritage: consolidation and protection of wall paintings and carbonate materials. *Journal of colloid and interface science*, (392), pp. 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.09.069>
- David, H. (2008). *Contribución a la Conservación del Arte Rupestre Prehistórico* (Unpublished doctoral thesis). Universitat Politècnica de València, València. Retrieved from: <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/3789>
- De Rosario, I. (2017). *Eficacia de consolidantes e hidrofugantes de nueva síntesis en rocas graníticas: Optimización de métodos de evaluación*. (Unpublished doctoral thesis). Universidad de Vigo, Vigo. Retrieved from: <http://hdl.handle.net/11093/802>
- Dei, L., Bandini, F., Felici, A., Lanfranchi, M. R., Lanterna, G., Macherelli, A., and Salvatori, B. (2007). Pre-consolidation of pictorial layers in frescoes: the high performance of CSGI's method based on nanolime evaluated by OPD team in Agnolo Gaddi's leggenda della Vera Croce paintings, Santa Croce, Florence. In G. Bisconti and G. Driussi (Eds.), *Scienza e Beni Culturali, XXIII: Il consolidamento degli apparati architettonici e decorative. Conoscenze. Orientamenti. Esperienze, (10-13 luglio)*, pp. 217-223. Bressanone: Edizioni Arcadia Ricerche.
- Folk, R. L. (1962). Spectral subdivision of limestone types. In W.E. Ham (Ed.), *Classification of Carbonate Rocks: A Symposium*, 1, pp. 62-84. Tulsa: American Association of Petroleum Geologist.
- Fort, R., La Iglesia, A., Del Cura, M. A., De Buergo, M. Á., Varas, M. J., Gómez-Heras, M., and Martínez-Garrido, M. I. (2011). Deterioro y Conservación de Materiales Geológicos del Patrimonio. In E. M. Pérez-Monserrat and M. Charco. (Eds.), *1ª Reunión Científica IGEO (CSIC-UCM) (15-16 de septiembre de 2011)*, pp. 83-94. Madrid: Instituto de Geociencias IGEO (CSIC-UCM).
- Giorgi, R., Dei, L., and Baglioni, P. (2000). A new method for consolidating wall paintings based on dispersions of lime in alcohol. *Journal of Studies in conservation*, 45(3), pp. 154-161. <https://doi.org/10.1179/sic.2000.45.3.154>
- Giorgi, R., Baglioni, M., Berti, D., and Baglioni, P. (2010). New methodologies for the conservation of Cultural Heritage: Micellar solutions, microemulsions and hydroxide nanoparticles. *Accounts of Chemicals Research*, 43(6), pp. 695-704. <https://doi.org/10.1021/ar900193h>
- Gómez-Villalba, L. S., López-Arce, P., Fort, R., and Álvarez, M. (2010). La aportación de la nanociencia a la conservación de bienes del patrimonio cultural. *Revista Patrimonio Cultural de España*, 4, pp. 43-56.
- Gómez-Villalba, L. S., López-Arce, P., Zornoza, A., Álvarez, M., and Fort, R. (2011a). Evaluación del tratamiento de consolidación de dolomías mediante nanopartículas de hidróxido de calcio en condiciones de alta humedad relativa. *Boletín de la sociedad española de cerámica y vidrio*, 50(2), pp. 85-92. <https://doi.org/10.3989/cyv.122011>

- Gómez-Villalba, L. S., López-Arce, P., Fort, R., Álvarez, M., and Zornoza, A. (2011b). Aplicación de nanopartículas a la consolidación del patrimonio pétreo. In M. Del Egido and D. Juanes (Eds.), *La Ciencia y el Arte III. Ciencias experimentales y conservación del patrimonio*, pp. 39-58. Madrid: Ministerio de Cultura, Subdirección General de Publicaciones, Información y Documentación.
- Gómez-Villalba, L. S. (2012). Nanopartículas para la conservación del patrimonio. In R. Fort and E. M. Pérez-Monserrat (Eds.), *La conservación de los geomateriales utilizados en el patrimonio*, pp. 171-180. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Gómez-Villalba, L. S., López-Arce, P., Álvarez, M., and Fort, R. (2012). Atomic defects and their relationship to aragonite-calcite transformation in portlandite nanocrystal carbonation. *Crystal Growth & Design*, 12(10), pp. 4844-4852. <https://doi.org/10.1021/cg300628m>
- Guillamet, E. (1990). *Problemática sobre la conservació i restauració de la pintura rupestre a l'aire lliure*. Barcelona: Diputació Provincial de Barcelona.
- Hernández, M^a. Á., and Royo, J. I. (2015). Actuaciones de conservación de arte rupestre en la Comunidad Autónoma de Aragón. In M. Burón and J. M. del Val (Eds.) *Jornadas Técnicas: La Conservación del Arte Rupestre: Sostenibilidad e integración en el paisaje (15-17 de octubre 2013)*, pp. 183-194. Salamanca: Junta de Castilla y León. Consejería de Cultura y Turismo.
- Lanfranchi, M. (2006). Le resine acriliche sulle pitture murali. In A. Finozzi (Ed.) *Seminario Esperienze e Materiali di Restauro. Le Resine Acriliche Sulle Pitture Murali: Thiene (VI), Villa Fabris (11 giugno 2005)*, pp. 69-80. Padova: Il Prato.
- Martínez, R., Guillem, P. M., and Ballester, L. (2011). Los Abrigos de Tortosilla. Una nueva visión tras los trabajos de conservación preventiva. In I. Domingo, R. Rubio and B. Rives (Eds.) *Actas de las Jornadas: Abrigo de Tortosilla 100 aniversario de su descubrimiento. Primer hallazgo de Arte Rupestre de la Comunidad Valenciana*, pp. 79-85. Valencia: Ayuntamiento de Ayora-Diputación de Valencia.
- Mora, P., Mora, L., and Philippot, P. (1999). *La conservazione delle pitture murali*. Bologna: Editrice Compositori.
- Muñoz, S., Osca, J., and Gironés, I. (2014). *Diccionario de materiales de la restauración*. Madrid: Akal, D. L.
- Osca, J. (2005). El empleo de consolidantes inorgánicos y organosilíceos como alternativa a los consolidantes orgánicos. In J. C. Barbero (Ed.) *Seminario sobre Restauración de Pinturas Murales. Tratamientos y metodologías de conservación de pinturas murales, Aguilar de Campoo (20-22 de junio de 2005)*, pp. 10-47. Palencia: Fundación Santa María la Real. Centro de Estudios del Románico.
- Rodríguez, I. M., and Domingo, I. (2018, May). *Los problemas de conservación del arte rupestre levantino: un estado de la cuestión*, Retrieved from: http://www.congresopatrimoniomundialmenorca.cime.es/WebEditor/Pagines/file/Ponencias%202018/18_%20Arte%20levantino.pdf
- Ruffolo, S. A., La Russa, M. F., Aloise, P., Belfiore, C. M., Macchia, A., Pezzino, A., and Crisci, G. M. (2014). Efficacy of nanolime in restoration procedures of salt weathered limestone rock. *Applied Physics A*, 114(3), pp. 753-758. <https://doi.org/10.1007/s00339-013-7982-y>
- Sarriá, E. (1989). Las pinturas rupestres de Cova Remigia (Ares del Maestre, Castellón). *Lucentum*, VII-VIII, pp. 7-33. <https://doi.org/10.14198/LVCENTVM1988-1989.7-8.01>
- Torraca, G., and Mora, P. (1965). Fissativi per Pitture Murali. *Bollettino dell'Istituto Centrale del Restauro*, pp. 109-132.
- Zucker, J. (2011). *Nanotechnology and Materials Testing: Using Nanoparticles to Tag Consolidants to Determine Depth of Penetration: 20011-05*. New York: National Center for Preservation Technology and Training.