

# Biotecnologie in gioco verso processi e prodotti sostenibili per i beni culturali

La conservazione ed il restauro del patrimonio artistico possono avvalersi del contributo delle biotecnologie microbiche sia nel campo del biodeterioramento che in quello del biorestauro. Interessanti risultati sperimentali grazie a una felice combinazione di metodi chimici e biologici

DOI 10.12910/EAI2016-058

di **Anna Rosa Sprocati, Flavia Tasso, Chiara Alisi, Paola Marconi e Giada Migliore, ENEA**

L'Italia ha una posizione di leadership internazionale nel settore dei Beni Culturali, per l'entità del patrimonio, per le tecniche diagnostiche, per il *know-how* storico sul restauro e, più recentemente, anche per la ricerca di prodotti e processi innovativi per una strategia di restauro più sostenibile.

Il potenziamento di questa leadership è subordinato allo sviluppo di strategie di conservazione più sostenibili, secondo i principi di *compatibilità e ritrattabilità*<sup>1</sup> e all'attuazione di investimenti adeguati che le sostengano sul piano nazionale.

Le biotecnologie microbiche entrano in gioco a pieno titolo in questo processo con duplice ruolo: nel campo del *biodeterioramento* (vedi riquadro) e nel campo del *biorestauro*.

Naturalmente, l'individuazione di modalità innovative nel settore della conservazione dei beni culturali costituisce per il nostro Paese una sfida di immensa importanza alla luce di molteplici aspetti e, non ultimo tra questi, della possibilità di creare una nuova filiera per la *bioeconomia*.

È arrivato il momento di creare un ciclo virtuoso per colmare il divario tra ricerca e operatori del settore e tra ricerca e mercato, di creare start-

up per valorizzare i giovani esperti e per mettere sul mercato prodotti prontamente disponibili, innocui e facili da usare.

Opere d'arte e operatori sono esposti a comuni rischi potenziali a causa dell'utilizzo di prodotti nocivi, per la maggior parte impiegati in situazioni *indoor*. Questi prodotti possono provocare una vasta gamma di effetti tossici negli operatori e danneggiare le opere stesse per la loro aggressività. Il loro smaltimento, inoltre, se non è effettuato in modo appropriato, può danneggiare l'ambiente e interferire con ambiti e persone non correlati al settore del restauro.

Il settore dei Beni Culturali richiede un'innovazione tecnologica in grado di sviluppare prodotti ecocompatibili, da un lato, per rispondere all'esigenza di rispettare e conservare il patrimonio culturale a disposizione, dall'altro, per prospettare strategie di conservazione che possano essere sostenibili non dal solo punto di vista ambientale e della salute, ma anche da quello economico. L'esigenza che emerge è quindi di identificare metodi che possano garantire ottimi risultati sull'opera e al tempo stesso non costituiscano un rischio per i restauratori, sfruttando le potenzialità della ricerca e dell'innovazione. Tale compito rappresenta una grande sfida per il mondo dell'Arte, per ricercatori, scienziati e politici, data l'entità e la diversità degli oggetti coinvolti e l'enorme varietà di materiali utilizzati.

Gli studi pionieri finora eseguiti in Italia sono stati rivolti a un numero

ristretto di problematiche e all'applicazione di pochissime specie microbiche. Come risultato, dopo circa quindici anni di ricerche, sono disponibili sul mercato solo tre prodotti microbici per la conservazione del marmo (biopulitura di croste nere e bioconsolidamento) [2, 3]

Partendo da questo contesto e in risposta alla sfida lanciata al mondo produttivo, scientifico e della Conservazione, le ricerche sviluppate in ENEA si sono poste l'obiettivo di verificare a più ampio spettro la fattibilità delle soluzioni biotecnologiche, dimostrandone la praticabilità.

La nostra ricerca è finalizzata a esplorare e valorizzare il potenziale microbico spontaneo per lo sviluppo di nuove procedure e nuovi prodotti con i vantaggi desiderati di: *selettività*, e quindi bassa aggressività per l'opera; *innocuità*, per tutela della salute dell'operatore; *compatibilità* ambientale;

*bassi costi* di applicazione; *assenza di problemi etici*. La sperimentazione finora ha interessato diciassette diverse specie microbiche immobilizzate in diverse matrici di supporto per la rimozione di sedici diversi depositi su sei diverse tipologie di manufatti.

Obiettivi finali sono:

- creare nuovi posti di lavoro per diagnostici, restauratori e biotecnologi (Start-up o Spin-off);
- mantenere saldo il ruolo di capofila dell'Italia nel campo del biorestauro;
- espandere l'approccio "bio" per un mercato mondiale.

Perno delle procedure sviluppate sono i microrganismi della collezione di ceppi ambientali "ENEA-Lilith". Alcuni dei più significativi e recenti casi studio di biopulitura condotti su problematiche di difficile soluzione proposteci dai restauratori

### **Il biodeterioramento delle opere d'arte: di chi è la colpa?**

La diagnosi precoce delle patine microbiche presenti sulle superfici di monumenti e opere d'arte è un fattore chiave per l'attuazione di una strategia di conservazione adeguata per il nostro patrimonio culturale. Diversi studi hanno evidenziato la difficoltà di definire in modo esauriente la complessità delle comunità microbiche presenti sulle superfici monumentali e nel distinguere i veri biodeteriogeni (i colonizzatori primari), che innescano il processo di degrado, dai colonizzatori secondari, che non arrecano direttamente un danno strutturale, ma sono responsabili di un deterioramento estetico superficiale, crescendo a spese dell'azione metabolica e dei detriti dei colonizzatori primari. Ciò comporta un serio problema nell'individuare trattamenti efficaci verso gli effettivi biodeteriogeni, che siano duraturi nel tempo, poco invasivi e ambientalmente più compatibili rispetto ai biocidi commerciali a largo spettro. L'integrazione di tecniche microbiologiche e biotecnologiche (tecniche culturali classiche, tecniche molecolari, osservazione in

microscopia a fluorescenza) può fornire una conoscenza approfondita e una diagnosi delle cause primarie del degrado [1]. Inoltre, attraverso saggi di colonizzazione su provini, è possibile stabilire se l'alterazione sia ascrivibile ad uno o più microrganismi isolati e, quindi, individuare trattamenti selettivi per il controllo a più lungo termine. Il biodeterioramento è stato oggetto di alcuni interessanti casi studio a cui l'ENEA ha contribuito per gli aspetti di diagnosi (Tomba della Mercareccia nella Necropoli di Tarquinia, Casa di Augusto sul Colle Palatino, Tomba dei Rilievi nella Necropoli di Cerveteri, Area archeologica di via della Lega Lombarda a Roma, Domus Aurea sul Colle Esquilino, Documento Notarile Capitolino del 1624, presso l'ICRCPAL), per prove di trattamento con prodotti alternativi, di origine microbica o vegetale (Terme di Caracalla, Giardini Vaticani) e per il monitoraggio dopo trattamenti fisici e biologici. Di particolare interesse è la combinazione di tecniche biotecnologiche con tecniche fisiche, come la fluorescenza LIDAR, che si integrano molto bene per una diagnosi del biodeterioramento.

vengono di seguito brevemente raccontati.

Il termine *biopulitura*, come molte altre parole di origine aspecifica, può assumere significati diversi. Per chiarezza semantica, parleremo di biopulitura solo se l'agente pulente è biologico e definiremo biopulitura una procedura che usa microrganismi, enzimi, estratti vegetali, etc. come agenti per rimuovere depositi o substrati indesiderati di qualunque origine.

Una *diagnosi analitica* dei substrati da rimuovere, *la ricerca in laboratorio* dei microrganismi competenti, l'allestimento da parte dei restauratori di *provini* che riproducano il più fedelmente possibile le condizioni del manufatto da trattare, rappresentano la sequenza corretta delle fasi di lavoro, attraverso le quali si arriva a definire una procedura su misura per *l'applicazione sull'opera* con alta probabilità di successo, senza lasciare residui indesiderati. Non sempre, tuttavia, occorrono le condizioni che permettono di seguire fedelmente uno schema *step-by-step*, spesso a causa dei ritmi che un cantiere di restauro impone e dell'urgenza di individuare una procedura efficace. In tali situazioni abbiamo verificato come l'integrazione delle reciproche esperienze possa guidare il lavoro per un'applicazione di successo eseguita direttamente sull'opera, quando le condizioni lo permettano senza rischio. E' questo il caso della prima applicazione che abbiamo eseguito sulle pareti dipinte delle logge esterne della *Casina Farnese* sul Colle Palatino, che ha rappresentato per noi un'esperienza particolarmente fruttuosa sotto molti aspetti, non ultimo la realizzazione di un brevetto di proprietà dell'ENEA (Brevetto europeo WO 2015040647 A1), che

definisce una procedura per la rimozione di depositi, anche sovrapposti, su pareti verticali e soffitti, senza lasciare residui dopo il trattamento [4,5]

Presso la *Galleria Nazionale d'Arte Moderna*, in collaborazione con il laboratorio marmi, sono state trattate con impacchi di batteri alcune statue destinate alla mostra "D'après Rodin". "La Lupa", una statua di G. Graziosi rimasta esposta all'esterno per quaranta anni, presentava ampie zone completamente annerite da depositi di smog penetrato nella matrice marmorea. Queste alterazioni risultavano impossibili da pulire con i metodi tradizionali senza conseguenze per l'opera. La biopulitura è stata eseguita con una formula microbica composta da tre diversi ceppi batterici degradatori di idrocarburi. I ceppi provenivano dall'ex sito industriale di Bagnoli ed erano stati impiegati in un precedente lavoro sperimentale per la bonifica di un suolo contaminato da idrocarburi. Alcuni impacchi con la formula microbica inglobata in gel di Laponite®RD sono stati applicati in successione ognuno per la durata di una notte (*overnight*) portando ad un significativo schiarimento della matrice marmorea, grazie alla capacità dei batteri di solubilizzare gli idrocarburi e di utilizzarli come fonte di energia per la loro crescita (Figura 1).

Una diversa problematica riguardava la rimozione di residui persistenti di cere e materia grassa, sopravvissuti alla pulitura tradizionale. Attraverso impacchi di ceppi batterici selezionati ad hoc, inglobati in Laponite®RD o in Vanzan®NF, sono state trattate con successo rispettivamente le sculture "Testa di Donna" di E. Quadrelli e, di recente, "Idealità

e Materialismo" di G. Monteverde e "Cleopatra" di A. Balzico. In collaborazione con il *Centro di Conservazione e Restauro La Venaria Reale*, dopo pulitura convenzionale dell'opera "Bacco con cesto", una statua romana in marmo greco, sono stati testati diversi ceppi batterici per la rimozione di alcune sostanze residue, tra cui uno strato di Paraloid B72<sup>2</sup>. Il Paraloid non era stato rimosso per la scelta dei restauratori di mantenere stratificazioni diverse, al fine di testare metodi di pulitura innovativi e ottenere risultati di maggior leggibilità. Un unico impacco "*overnight*" di un gel di Vanzan®NF contenente un ceppo batterico con spiccate capacità degradative (Z-Cont), è stato sufficiente a degradare lo strato di Paraloid, permettendone la rimozione completa con un breve passaggio di un tamponcino bagnato in acetone. In ogni caso di biopulitura su marmo, i restauratori hanno comunemente riferito, come valore aggiunto del metodo, il rispetto verso la materia originale, che conserva la sua patina nobile, a differenza di altre procedure più aggressive, che la alterano in parte.

In occasione del restauro della *Galleria dei Carracci a Palazzo Farnese* concluso di recente, abbiamo avuto l'opportunità di sperimentare soluzioni per diverse problematiche, di cui riportiamo le due più significative. Le pareti e la volta affrescate della Galleria presentavano diffusamente macchie opache di piccole dimensioni, dovute a precedenti iniezioni di un consolidante (resina PRIMAL a parere dei restauratori) usato nella seconda metà del secolo scorso, a seguito di un precedente smottamento del terreno, che aveva causato numerosissime crepe. La rimozione della resina con prodotti

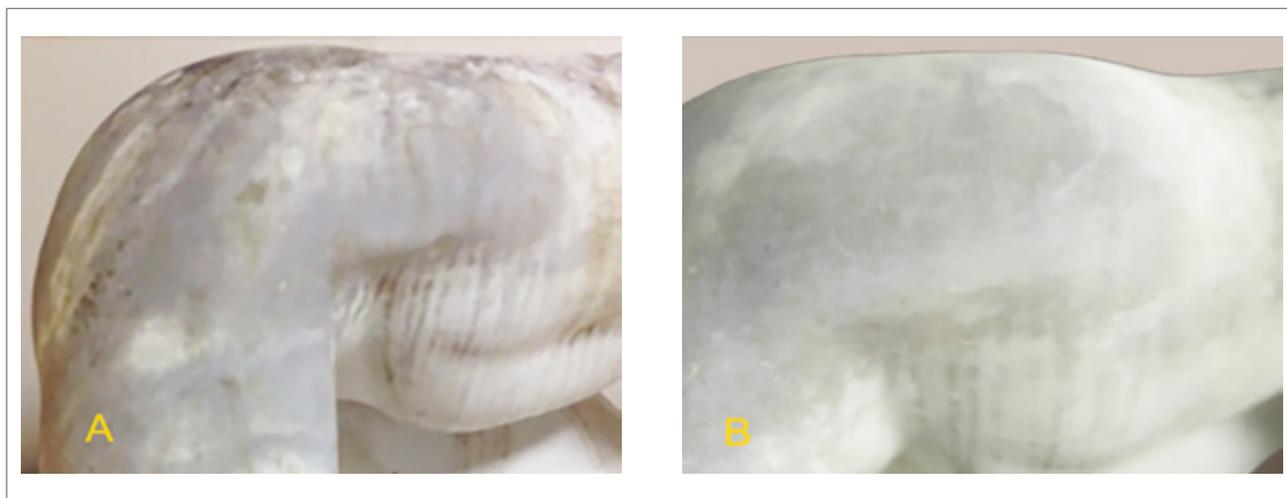


Fig. 1 Biopulitura della statua "La Lupa" di G. Graziosi (GNAM). Zone annerite da smog urbano penetrato nella matrice marmorea (A); particolare del fianco dopo il trattamento con impacchi di Laponite®RD aventi batteri degradatori di idrocarburi (B)  
Fonte: foto ENEA

chimici si era rivelata inefficace, per cui i restauratori hanno cercato una via alternativa, attraverso biopulitura. In via sperimentale è stato quindi testato su piccoli tasselli un ceppo batterico che si era dimostrato particolarmente vorace verso alcune resine, durante i test biochimici in laboratorio. Un solo impacco del ceppo in Laponite®RD, della durata di una notte, si è rivelato sufficiente nel permettere ai restauratori di rimuovere completamente la resina. Sempre a causa dello smottamento del suolo i portali cinquecenteschi in marmo di Carrara erano stati ancorati con staffe di ferro, che avevano formato sull'architrave macchie di ruggine. Inoltre, presentavano macchie brune diffuse, attribuibili a ossidi di ferro liberatisi all'interno della matrice del marmo, probabilmente in conseguenza a trattamenti precedenti con acidi combinati all'uso di cere. In entrambi i casi, per l'applicazione di biopulitura è stato scelto un ceppo batterico isolato dall'acqua reflua di una galleria di miniera e selezionato per la capacità di produrre molecole

in grado di interagire con gli ioni ferro. Sulla quasi totalità della superficie dei portali sono stati applicati *overnight* impacchi di Vanzan®NF contenenti il ceppo batterico associato ad un composto chimico, ottenendo un grado di pulitura molto soddisfacente sia nei punti di ruggine superficiale che sulle macchie all'interno della matrice cristallina del marmo.

In collaborazione con il Gabinetto per le ricerche scientifiche dei Musei Vaticani, nell'ambito dell'Accordo tra ENEA e Musei Vaticani, è stato condotto uno studio sperimentale focalizzato alla ricerca di un sistema di biopulitura di un deposito persistente, costituito da *colletta in olio*, ricetta ricostruita nei laboratori dei musei. Il manufatto è rappresentato da un dipinto su tavola cinquecentesco dei Musei Vaticani, "La Madonna della cintola". Sull'opera è in corso una sperimentazione metodologica a largo spettro da parte dei Musei, che sarà oggetto di una pubblicazione dedicata. Lo studio sulla biopulitura è stato condotto *step-by-step*, ricer-

cando dapprima i microrganismi competenti nella degradazione dei singoli ingredienti della colletta in olio e selezionando quello più efficace. Il ceppo prescelto è stato poi testato in laboratorio su provini riproducenti la ricetta pittorica antica, preparati e invecchiati presso i Musei, al fine di definire le modalità di impacco più compatibili con le condizioni dell'opera. In seguito ai risultati positivi, in vista del passaggio sull'opera, sono stati considerati molteplici problemi. Di particolare importanza è stato risolvere la compatibilità tra le esigenze dei batteri (tempi metabolici e micro-habitat umido) e quelle del dipinto, particolarmente degradato e fragile, che temeva invece un contatto prolungato con l'impacco umido. L'uso di Vanzan®NF come supportante è stato di aiuto per la sua caratteristica di trattenere internamente l'umidità, senza un significativo rilascio. La soluzione che ha permesso infine di procedere all'applicazione su piccoli tasselli del dipinto, con esito positivo, è passata attraverso una felice

combinazione di metodi chimici e biologici [6].

In ambito internazionale, e rimanendo in tema di antiche ricette, è in corso il progetto grande rilevanza Italia-Messico dal titolo *Recupero di antiche tecnologie messicane per lo sviluppo di prodotti sostenibili per il restauro dei beni culturali*, in collaborazione con il Colegio de Michoacán (PGR00205, 2015-17 MAECI). È noto che il popolo Mexica utilizzava un estratto vegetale (Nopal) ricavato da *Opuntia ficus indica*, con proprietà tali da migliorare la buona conservazione di antichi dipinti murali e di altre tipologie di opere d'arte, come le costruzioni in *adobe*. Obiettivi sono: *i*) definire una metodologia scientifica per la valutazione delle proprietà adesive e antimicrobiche della mucillagine di nopal, finora

note e tramandate solo per esperienza empirica; *ii*) definire la formulazione di un prodotto reversibile per il restauro (bio-malta), *iii*) verificare la trasferibilità di questa applicazione, limitata finora al Messico, al contesto italiano del restauro. I primi risultati hanno evidenziato che la bio-malta presenta un aumento di compattezza rispetto alla malta non additivata; che la composizione degli estratti di *Opuntia* provenienti dai due Paesi presenta spettri molto simili e che l'aggiunta della mucillagine di nopal non promuove né favorisce l'attacco dei microrganismi.

### Ringraziamenti

Gli autori ringraziano tutte le Istituzioni citate e le Soprintendenze di riferimento, i co-autori degli articoli

citati, la dott.ssa Flavia Pinzari per aver condiviso il lavoro sul documento notarile, i restauratori Adele Cecchini e collaboratori, Rodolfo Corrias, Cesare Poderosi, Marianna Fonzo, Lorenza D'Alessandro, Paolo Pastorello e collaboratori di ATI-Farnese, Ulderico Santamaria, Maria Pustka, Marco Pratella dei Musei Vaticani. Inoltre ringraziano tutti gli studenti che hanno realizzato le tesi di laurea o di dottorato, contribuendo ai lavori descritti.

*per saperne di più:*  
[annarosa.sprocati@enea.it](mailto:annarosa.sprocati@enea.it)

<sup>1</sup> Negli ultimi 50 anni i criteri di conservazione sono stati reinterpretati, rivisitando una serie di principi fondamentali. I principi di reversibilità e/o replicabilità sono stati sostituiti da principi di compatibilità e ritrattabilità, che rappresentano una strategia di conservazione più sostenibile

<sup>2</sup> Il Paraloid B72 è una resina acrilica utilizzata nel campo del restauro come consolidante o come collante, è persistente su lungo periodo e difficoltoso da rimuovere

## BIBLIOGRAFIA

1. Saiz-Jimenez C., (1997) Biodeterioration vs Biodegradation: the Role of Microorganism in the Removal of Pollutants Deposited on Historic Buildings, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol 40, n° 24, p. 225-232
2. <http://www.micro4you.eu/it/micro4art>
3. [http://www.amonit.fr/fr/calcite\\_biopatine](http://www.amonit.fr/fr/calcite_biopatine)
4. Anna Rosa Sprocati, Chiara Alisi, Flavia Tasso. Biotechnology process for the removal of cohesive deposits of organic and inorganic origin from materials and works of historical and artistic interest. Brevetto europeo WO 2015040647 A1. 2014
5. Matteo Mazzoni, Chiara Alisi, Flavia Tasso, Adele Cecchini, Paola Marconi and Anna Rosa Sprocati. Laponite micro-packs for the selective cleaning of multiple coherent deposits on wall paintings: The case study of Casina Farnese on the Palatine Hill (Rome-Italy). *International Biodeterioration & Biodegradation* 94 (2014) 1:11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.004>
6. Crisci, L.; Santamaria, U.; Alisi, C.; Sprocati, A. R.; Pustka, M. L., Breda A., Pratelli, M. Preliminary assessment of innovative cleaning methods combining laser, chemical and biological means on hygroscopic surfaces of a wood painting. *5th International Conference YOCOUCU 2016* 21st-23rd September 2016 Madrid, Spain