

## **Blue-Biotechnology e la pulitura biologica di manufatti storico-artistici**

**Franco Palla**

Laboratorio di Biologia e Biotecnologie per i Beni Culturali  
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche  
Palermo, Italia

Parole chiave: molecole bioattive, esterasi, Paraloid-B72, restauro opere d'arte

### **1. Introduzione**

La pulitura è spesso una delle prime azioni eseguite in un progetto di restauro ma, riflettendo, essa va contro i principi del restauro conservativo perché si tratta di una procedura irreversibile che produce un cambiamento visibile sulla superficie dei manufatti. La pulitura è senz'altro in grado di ristabilire la corretta lettura di un manufatto (Figura 1) e il ricorso a tale procedura è giustificato se il rischio, sia per il manufatto sia per la salute dei restauratori, è molto basso o nullo.



Figura 1. Fase di pulitura di un dipinto (da tesi di laurea in Conservazione e Restauro dei Beni Culturali, Università degli Studi di Palermo, Italia).

La ricerca di nuove strategie di pulitura è in costante crescita, altre sono in fase di sviluppo, sebbene le strategie conosciute trovino applicazione in molte procedure di restauro. Possiamo affermare che il ricorso a proteine enzimatiche, utilizzate in questi decenni, rappresenta una innovazione nel campo della pulitura, poiché queste agiscono selettivamente sugli strati da rimuovere, senza incidere negativamente sui materiali costitutivi del manufatto. Le proteine con attività enzimatica, testate sin dagli anni '70 per la rimozione di colle a pasta d'amido o animali, rivestimenti acrilici invecchiati, utilizzano enzimi purificati singolarmente o in miscela, che rientrano nel gruppo delle idrolasi [1-4]. Enzimi come tripsina, amilasi e proteasi, sono stati principalmente utilizzati per il trattamento di strati di colla su carta, ma molte applicazioni sono state eseguite su diversi tipi di opere, quali dipinti su tela, pitture murali, legno e materiali lapidei. Le idrolasi commerciali utilizzate in procedure di biocleaning per la rimozione di specifici strati indesiderati, quali proteasi, amilasi,

lipasi ed esterasi, sono isolate da organi/tessuti animali (pancreas, stomaco), vegetali (semi di avena e grano) e microorganismi (batteri o funghi) [5], e in alcuni casi combinando l'azione di cellule batteriche vitali [6]. Questi metodi risultano un valido strumento per la biopulitura di opere d'arte, rappresentando spesso una valida alternativa ai solventi chimici, svolgendo un'azione selettiva e sicura sia per il restauratore sia per l'ambiente [7].

La caratterizzazione dello strato/i superficiale da rimuovere può essere eseguita ricorrendo a spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier (FTIR) [8], oppure a metodi biochimici, come cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) [9] o elettroforesi su gel di sodio dodecil solfato - poliacrilammide (SDS-PAGE) [10].

## 2. Nuove Idrolasi (Proteasi, Esterasi)

Negli ultimi anni, dalla collaborazione tra i laboratori di Biologia e Biotecnologie per i Beni Culturali e di Immunologia dell'Università degli Studi di Palermo sono stati ottenuti dei risultati promettenti. In particolare, sono state testate alcune molecole con attività enzimatica estratte da organismi marini, già attive a basse temperature, per la rimozione di strati di natura proteica. In una prima fase, i saggi di biopulitura sono stati eseguiti su provini di laboratorio assemblati ad hoc e, solo dopo avere definito le condizioni opportune, le stesse prove sono state eseguite su manufatti d'interesse storico-artistico. Le molecole con attività proteolitica sono state utilizzate per la rimozione di strati proteici da manufatti in legno, da dipinti ad olio su tela, da sculture in ceroplastica [11-14]. L'efficienza di rimozione è stata valutata analizzando i residui presenti sui tamponi di cotone utilizzati nelle fasi finali della pulitura, mediante test di colorazione con Amido black [15].

Inoltre, la ricerca è stata rivolta alla rimozione di cere, frequentemente applicate in procedure di restauro [16]. In particolare, cere, sia d'insetti (api) sia vegetali (carnauba), sono state selezionate e utilizzate per la preparazione di provini da laboratorio; attualmente i provini sono sottoposti a processi di invecchiamento artificiale (cicli ripetuti: UV-A 300–400 nm; T = 22 ± 5°C; RH = 60-65%).

Questo per saggiare l'attività di una nuova serie di molecole bioattive isolate da organismi marini, con attività di esterasi (MBE). In parallelo sono stati eseguiti dei saggi per la rimozione di strati di Paraloid B72, una resina termoplastica ampiamente utilizzata nel settore del restauro di opere d'arte, sia come adesivo sia come agente consolidante [17]. In questo studio, è stata eseguita la rimozione dello strato di Paraloid B72 su provini di laboratorio che mimano lo "strappo" delle tessere di mosaico dal supporto originario mediante incollaggio di una tela di canapa utilizzando Paraloid. Questi provini sono stati invecchiati naturalmente per 5 anni (Temp = 24 ± 5° C e UR = 57 ± 10%). Dopo 30 minuti di applicazione della soluzione con MBE sono stati ottenuti dei risultati positivi nella rimozione del Paraloid come adesivo e dunque della tela a soli 26°C (temperatura ambiente di laboratorio), come mostrato in Figura 2.

## 3. Conclusioni

Gli enzimi sono normalmente utilizzati in sistemi acquosi e, di conseguenza, non possono essere sempre applicati nelle procedure di restauro; essi possono essere impiegati sotto forma di soluzioni gelificate. Diversi sistemi (Klucel-G, Pluronic F108, Vanzan NFC 2) possono essere impiegati a supporto delle soluzioni enzimatiche (viscosità specifica, rilascio di acqua), in grado di garantire condizioni di reazione stabili e facilitare le operazioni di pulitura [13]. Inoltre, l'azione dell'enzima può essere influenzata da alcuni inibitori, come ioni di metalli pesanti (Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Sn<sup>2+</sup>) presenti in diversi pigmenti antichi e moderni, o da specifici valori di pH e temperatura, oltre che dai tempi di applicazione.

Grandi progressi sono stati recentemente compiuti nell'applicazione di molecole bioattive isolate da organismi marini come spugne, meduse, anemoni di mare, crostacei, pesci (Blue-Biotechnology) che rappresentano un'importante risorsa per la salute, il cibo e le industrie di trasformazione o conservazione. Stabilità, attività enzimatica già a basse temperature (<30°C) e specificità d'azione, sono le principali caratteristiche di queste molecole; le nuove idrolasi con attività proteolitica (MBP)

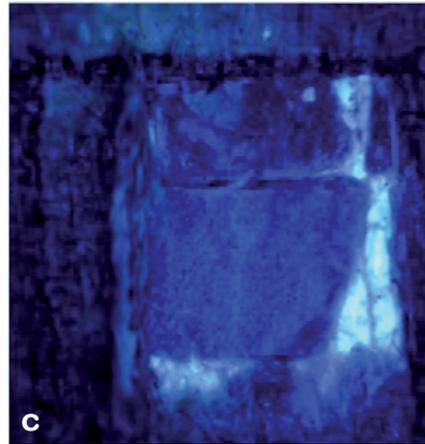
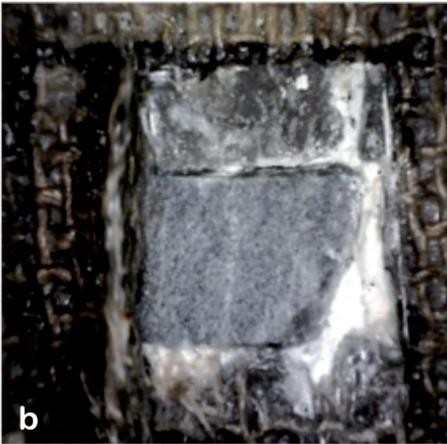
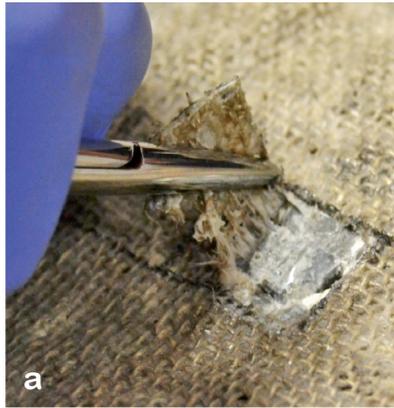


Figura 2. Bio-rimozione dello strato di tela incollato con Paraloid B72 al provino musivo: a) dopo 30 minuti di trattamento con soluzione enzimatica MBE, la tela è stata rimossa dal supporto, ma persistono residui di Paraloid; b) un ulteriore trattamento con soluzione enzimatica per 10 minuti permette la complete rimozione della resina dalle tessere; c) osservazione mediante fluorescenza UV a supporto dell'osservazione in b).

o esterasica (MBE) sono caratterizzate da una selettività d'azione tale da evitare possibili danni ai materiali costitutivi dell'opera. Inoltre, il loro utilizzo non ha impatti negativi sulla salute dei restauratori né sull'ambiente, rientrando tra le tecnologie green di restauro, indispensabili per una conservazione sostenibile del patrimonio culturale.

Nonostante l'evidente innovazione fornita dalla biopulitura, deve essere considerata la necessità di uno studio sistematico su come agiscono gli enzimi idrolitici in relazione ai parametri applicativi e alla loro attività catalitica, considerando la natura degli strati da rimuovere.

#### **Ringraziamenti**

L'autore ringrazia i restauratori Mauro Sebastianelli e Edoardo La Francesca, del Museo Diocesano di Palermo, per la collaborazione e tutti i componenti del Laboratorio di Biologia e Biotecnologia per i Beni Culturali dell'Università di Palermo.

### **Note biografiche**

**Franco Palla** è professore associato di Scienze Botaniche Applicate e Ambientali dell'Università di Palermo, Italia. Ricopre il ruolo di Docente e Coordinatore del Corso di Laurea Quinquennale in Conservazione e Restauro dei Beni Culturali (LMR 02) abilitante alla professione di Restauratore. Responsabile scientifico per UNIPA di Unità di Ricerca, Progetto PON01\_00625, IT@CHA (Tecnologia italiana per applicazioni avanzate nei Beni Culturali). È stato membro della Commissione per la Protezione dei Beni Culturali dell'Ordine Nazionale dei Biologi. È stato uno dei componenti dei gruppi di lavoro nel progetto di cooperazione Italia-Cambogia per la Formazione degli esperti di Beni Culturali, Università di Palermo-Reale Università di Belle Arti e del Ministero della Cultura e delle Belle Arti, Angkor, Cambogia. È coordinatore del Laboratorio di Biologia e Biotecnologie per i Beni Culturali presso il Dipartimento di Scienze Biologiche, Chimiche, Farmaceutiche e della Tecnologia (STEBICEF) dell'Università degli Studi di Palermo.

## Summary

The search for novel cleaning strategies in restoration procedures is growing fast. One innovation/innovative breakthrough in cleaning procedures is represented by the use of enzymes. This is due to the fact that their action is highly selective and they effectively remove undesired layers without adversely affecting the constituent or surrounding materials of the artifact undergoing treatment. In this study we present the results of tests performed by a new set of enzymatic proteins, esterases, extracted from marine organisms, for the bio-removal of Paraloid B72.

## Riassunto

La ricerca di nuove strategie di pulitura è in costante crescita, trovando applicazione in molte procedure di restauro. Possiamo affermare che il ricorso a proteine enzimatiche, utilizzate in questi decenni, rappresenta un'innovazione nel campo della pulitura, poiché gli enzimi agiscono selettivamente sugli strati da rimuovere, senza incidere negativamente sui materiali costitutivi del manufatto. In questo studio si presentano i risultati preliminari della bio-rimozione del Paraloid B72 ricorrendo all'uso di un nuovo set di proteine enzimatiche, esterasi, estratte da organismi marini.

## Résumé

La recherche de nouvelles stratégies de nettoyage connaît une croissance constante, et trouve application dans de nombreux procédés de restauration. Nous pouvons affirmer que le recours à des protéines enzymatiques, utilisées ces dernières décennies, est une innovation dans le secteur du nettoyage, car elles agissent sélectivement sur les couches à enlever, sans impact négatif sur les matériaux qui constituent l'ouvrage. Cette étude présente les résultats préliminaires du retrait biologique du Paraloid B72 à l'aide d'un nouveau set de protéines enzymatiques, des estérases extraites d'organismes marins.

## Zusammenfassung

Die Suche nach neuen Säuberungs-Strategien ist in stetigem Wachstum begriffen und findet Anwendung bei zahlreichen Restaurierungsarbeiten. Es kann behauptet werden, dass die Verwendung von enzymatischen Proteinen in den letzten Jahrzehnten eine Innovation auf dem Gebiet der Säuberung darstellt, da die Enzyme selektiv auf die abzutragenden Schichten wirken, ohne die Materialien des eigentlichen Manufakts zu schädigen. In dieser Studie werden die ersten Resultate der Bio-Abtragung des Paraloid B72 unter Verwendung eines neuen Sets von enzymatischen Proteinen, den aus Meeresorganismen gewonnenen Esterasen, dargestellt.

## Resumen

La búsqueda de nuevas estrategias de limpieza está en continuo crecimiento. Algunas de ellas hallan aplicación en muchos procedimientos de restauración. Podemos afirmar que el recurso a proteínas enzimáticas, utilizadas en las últimas décadas, representa una innovación en el campo de la limpieza. Estas proteínas actúan de forma selectiva sobre las capas que hay que eliminar, sin incidir negativamente en los materiales constitutivos de la manufactura. En este estudio se presentan los resultados previos de la bioeliminación del Paraloid B72 recurriendo al empleo de un nuevo conjunto de proteínas enzimáticas, esterasas, extraídas de organismos marinos.

### 概述

对清洗措施研究正处于不断发展中，并不断地应用到文物修复领域。可以肯定的是，近几十年来随着酶性蛋白的应用，给清洗领域带来了创新性的发展。该方法可选择性地作用于需移除的层面，不会给文物的结构性材料带来负面影响。本研究揭示了由海洋生物中提取的酶性蛋白——酯化酶组成的 Paraloid B72 生物移除剂所产生的初步效果。

### Резюме

Поиск новых стратегий очистки постоянно развивается, так как они применяются в многочисленных реставрационных процедурах. Можно утверждать, что распространенное в течение последних десятилетий использование ферментных белков является нововведением в сфере очистки, потому что они действуют селективно на удаляемые слои, не оказывая отрицательного влияния на материалы, из которых состоит артефакт. В данной работе представлены предварительные результаты био-удаления Paraloid B72 при помощи нового ряда ферментных белков, эстеразы, полученных из морских организмов.