

APPLICAZIONE E MONITORAGGIO DI MISCELE BIOCIDE PER PULITURA DI SUPERFICI ATTACcate DA PATINA BIOLOGICA

di Eleonora Marconi, Adele Galetti, Francesco Geminiani

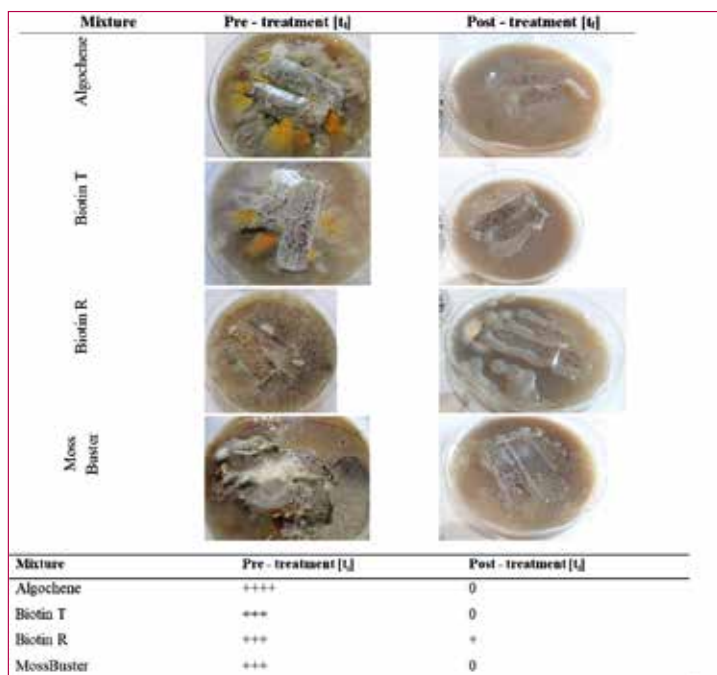


Fig. 1 - 0: nessuna crescita; ++++: crescita accentuata; +++: crescita; ++: crescita parziale; +: scarsa crescita.

È stato eseguito un lavoro di monitoraggio tramite confronto sull'efficacia del potere biocida di diverse miscele commerciali, utilizzando principalmente la tecnica della bioluminescenza. L'obiettivo è di confrontare miscele, oramai consolidate sul mercato, con altre di nuova generazione a base di oli essenziali, evidenziando le capacità performanti di quest'ultime in relazione al tipo di materiale su cui sono state applicate. Il vantaggio risiede nella bassa tossicità ed ecocompatibilità di questi materiali.

Beni Culturali immobili sono composti da materiali inorganici sia naturali, se derivati dall'estrazione dei materiali come marmo, granito, arenaria ecc, che artificiali, se non esistenti in natura e ottenuti per manipolazione antropica, come ad esempio mattoni, terre cotte, malte, intonaci, vetri e metalli. L'esposizione agli agenti atmosferici e l'orientamento di questi edifici influiscono sulla tipologia di deterioramento del materiale. Sia l'uno che l'altro influenzano, infatti, la colonizzazione di microrganismi dando luogo alla formazione di una patina biologica. Il deterioramento che ne consegue sarà differente se la superficie colonizzata è esposta a pioggia battente ed erosione del vento rispetto a una superficie più riparata in cui vengono favoriti i processi di deposizione di particolato atmosferico e di microrganismi. Una superficie verticale impiega più tempo ad essere colonizzata rispetto ad una superficie orizzontale.

I microrganismi comunemente presenti da tali superfici sono funghi, muschi, licheni e cianobatteri. I funghi dematiacei e batteri della famiglia delle Geodermatophilaceae, spesso risultano essere gli unici colonizzatori. La loro crescita sul substrato è riconoscibile da colorazioni scure per funghi o rossastre per i batteri con sviluppo radiale o colonie circolari. Se il materiale presenta lesioni, spesso la colonizzazione avviene al di sotto della superficie.

I metodi di controllo dei biodeteriogeni possono essere suddivisi in metodi diretti, indiretti e biologici. I metodi indiretti sono quei metodi che hanno lo scopo di controllare la crescita microbica agendo su fattori ambientali (acqua, luce, temperatura, umidità, nutrienti, inquinanti, ossidazione ecc...) che ne favoriscono la colonizzazione e attecchimento sulle superfici. L'applicazione di questi metodi è abbastanza attuabile in ambienti confinati e per materiali posti in contenitori (bacheche, teche, camere con fattori ambientali controllati) mentre è più problematica per monumenti situati in ambienti esterni. I metodi indiretti, invece, sono applicati direttamente sull'agente biodeteriogeno e si dividono in: meccanici, fisici e chimici. I metodi meccanici sono utilizzati per la rimozione e sfooltimento della biomassa (patina biologica) con strumenti quali scalpello o spatola. I metodi fisici prevedono l'utilizzo di radiazione UV in un range di lunghezza d'onda tra 280-240 nm. Infine, i metodi chimici, utilizzano composti chimici, detti biocidi, nella cui composizione vi è un principio attivo, il co-formulato e il solvente. Un prodotto può essere utilizzato nel campo dei Beni Culturali solo se possiede i seguenti requisiti:

- 1 Basso rischio di inquinamento ambientale
- 2 Nessuna interferenza col substrato
- 3 Facilità di applicazione
- 4 Basso costo

I biocidi comunemente utilizzati nel campo dei Beni Culturali sono a base di Sali di Ammonio Quaternari e carbammati. Queste sostanze sono applicate in diversi settori come: sanitario, prodotti per la pulizia, industria alimentare, farmaceutica e cosmetici. La loro modalità di azione agisce sulle membrane cellulari come destabilizzatore di membrana. Ad alta concentrazione, producono aggregazione proteica citoplasmatica con perdita di struttura terziaria. Infatti, in quanto detergente anionico è in grado di legare rapidamente superfici cariche negativamente, come le membrane batteriche, intercalandosi alla membrana stessa e alterandone la normale struttura. La formazione di pori e l'alterata permeabilità della membrana determina così la perdita di enzimi, coenzimi e ioni, compromettendo seriamente le proprietà biosintetiche della cellula fino a determinarne la morte. Queste sostanze, normalmente impiegati nel restauro, sono composti altamente tossici e difficilmente biodegradabili e, alle volte, dannosi per i materiali.

Negli ultimi anni, è accresciuto enorme interesse sull'utilizzo degli Oli Essenziali (EOs) come sostanza biocida in molti campi applicativi: medicale, industriale, alimentare e restauro. Nel settore dei Beni Culturali, molti gruppi di ricerca hanno utilizzato e stanno ancora sperimentando gli oli essenziali per la loro spiccata attività antimicrobica. Tra gli OEs interessanti, gli OEs di origano e timo sono tra i più efficaci e, per questo motivo, sono stati sporadicamente indagati anche nel campo dei Beni Culturali. Il vantaggio dell'utilizzo di miscele a base di oli essenziali, risiede nella salvaguardia della salute di operatori, fruitori, diminuzione dell'impatto sull'ambiente (aria, acqua, terreno), contenere i rifiuti e migliorare la loro gestione.

L'obiettivo della sperimentazione è di utilizzare una soluzione biocida in grado di bloccare la crescita biologica e di assottigliare, ove necessario, la patina biologica metabolicamente inattiva. Per poter scegliere il prodotto biocida più idoneo, si è deciso di agire per confronto, eseguendo una campionatura in situ su aree rappresentative del manufatto, utilizzando diverse miscele biocide commerciali. Il fine ultimo, è di ottenere il miglior effetto di azione biocida in termini di durabilità nel tempo mantenendo i criteri di reversibilità, compatibilità e minimo intervento; con il vantaggio di monitorare un prodotto non tossico ed ecofriendly rispetto ai biocidi commerciali.

LA SPERIMENTAZIONE

Gli interventi di restauro per il controllo del biodeterioramento presuppongono misure utili per eliminare il degrado ad opera di microrganismi e a ritardarne la loro ricomparsa, nei limiti del possibile.

L'efficacia degli interventi diretti mediante applicazione di prodotti biocida dipende da numerosi fattori:

- ▶ La scelta delle metodologie adottate
- ▶ Lo stato di conservazione delle superfici e le caratteristiche intrinseche di ogni materiale
- ▶ Le condizioni ambientali in cui l'opera è posta

Gli interventi diretti che possiamo programmare devono avere come obiettivo la riduzione del biodeterioramento, nella consapevolezza che la crescita di microrganismi ed organismi si verificherà inevitabilmente se permarranno le condizioni ambientali ad esse favorevoli.

Allo stato attuale dell'arte, i trattamenti biocidi utilizzati in ambiente esterno sono sostanzialmente di tipo chimico/meccanico, e interessano molecole biocide con spettro di azione più o meno ampio, efficacia e durabilità nel tempo spesso limitate.

Si apre, così, la possibilità di utilizzo di nuovi materiali di origine naturale come gli OEs. Il lavoro di monitoraggio si è articolato nelle seguenti fasi:

- 1 Registrazione dell'attività metabolica delle patine attive presenti sui manufatti, che si sono sviluppate nelle condizioni ambientali spontanee.
- 2 Registrazione dell'efficacia delle miscele biocide presenti sul mercato e applicate su casi di studio reali, con confronto attraverso analisi con Bio-Tape® e Bioluminometro.
- 3 Creare un sistema di raccordo dove raccogliere tutti i dati registrati per effettuare confronti tra le miscele applicate su diversi materiali con valori oggettivi.
- 4 Monitoraggio nel tempo delle miscele applicate con il fine di registrare efficienza biocida e/o alterazioni cromatiche.

MATERIALI E METODI

Biocidi: sono stati applicati cinque biocidi commerciali differenti stendendo la miscela con il pennello due volte consecutive. I prodotti utilizzati agiscono secondo i diversi principi attivi che contengono: (i) isotiazolinoni (AL); (ii) Sali quaternari di ammonio (BAC); (iii) combinazione di isotiazolinoni e Sali quaternari d'ammonio (BT); (iv) combinazione di carbammati e isotiazolinoni (BR); (v) oli essenziali a base di carvacrolo (MB). L'acquisizione mediante Bio-Tape è stata effettuata rispettando i tempi d'azione riportati nelle rispettive schede tecniche.

Substrati: La sperimentazione ha previsto l'applicazione di diverse miscele biocida su differenti superfici di edifici di interesse storico artistico: cemento, cotto, marmo, carrara e pietra forte (arenaria carbonatica). La superficie di cemento si presenta in buono stato di conservazione, con un colore grigio e una rugosità disomogenea dovuta alle esigenze artistiche. I microrganismi riconosciuti in un precedente lavoro, sono Miceti dei generi *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Aspergillus*. La superficie dei mattoni in cotto si presenta compatta, dilavata nelle zone esposte e ricoperta omogeneamente da patina biologica di colore verde brillante. Il marmo si presentava in buono stato conservativo con una parziale colonizzazione biodeteriologica. Il Carrara verte in un pessimo stato conservativo manifestando fenomeni di polverizzazione e disgregazione. Infine, la Pietra Forte presenta fenomeni di erosione causati da dilavamenti, formando cavità adatte alla crescita biologica.

Per il cemento, il monitoraggio è stato eseguito mediante Bio-Tape e coltura in piastra Petri con terreno generico agar. Successivamente sono stati raccolti i conteggi di ATP solo nelle aree trattate con MB. In tabella 1 sono stati messi in correlazione l'applicazione di miscele biocide sul materiale. Mentre, in tabella 2 sono elencate tutte le miscele utilizzate durante le campionature, con le rispettive specifiche e modalità di applicazione.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Test applicativi su differenti supporti sono stati effettuati per valutare l'efficacia biocida degli olii essenziali e dei prodotti tradizionali ottenendo un dato comparativo, valutando in maniera oggettiva l'esito delle campionature sulla base di:

- ▶ efficacia nei confronti delle patine biologiche
- ▶ compatibilità con il supporto garantendone alcuna alterazione o modifica chimico/ fisica
- ▶ minimo intervento mediante mappatura e rilievo dell'intervento

| | Cemento | Cotto | Marmo | Carrara | Pietra Forte |
|-------------|---------|-------|-------|---------|--------------|
| Algochene | X | | | | |
| BAC | | X | X | X | X |
| Biotin T | X | X | X | X | X |
| Biotin R | X | X | X | X | X |
| Moss Buster | X | X | X | | X |

Tab. 1 - Miscele applicate sui diversi materiali.

I risultati ottenuti sulle piastre Petri, su cui sono state coltivate colonie raccolte mediante Bio-Tape, hanno evidenziato l'azione antimicrobica degli OE. Il Bio-Tape ha raccolto diverse specie batteriche che, opportunamente nutrite dalle piastre di Petri, hanno formato colonie molto varie: sono gialle, biancastre, arancioni, rosse, grigie; lucide o non; con diverse dimensioni. L'esperimento con Bio-Tape è stato ripetuto nelle stesse condizioni post trattamento biocida. I risultati ottenuti, riportati in figura 1, mostrano una significativa riduzione della formazione di colonie batteriche. Le muffe bianche presenti nel pre- e post-trattamento sono da riferirsi ad una non totale sterilità del Bio-Tape.

Con il Bioluminometro portatile sono state acquisite 3 misure in aree da 4 cm² per ottenere il valore medio e la deviazione standard. Successivamente, è stato deciso di rappresentare i dati ottenuti sui conteggi di ATP riferendosi ad un'attività metabolica iniziale del 100% registrata sulle diverse superfici prima dell'applicazione biocida. Sono state poi calcolate le rispettive percentuali di patina

attiva post trattamento in base ai conteggi riportati in tab.3.

Il monitoraggio dell'efficacia del potere biocida delle miscele commerciali è partito con la registrazione delle patine attive presenti sulle superfici di interesse. Dai dati ottenuti con il Bioluminometro è possibile affermare che una patina biologica, metabolicamente attiva, registra un conteggio di ATP superiore a 3000 conteggi. A seguito di applicazione di miscele biocide si evidenzia una percentuale di patina attiva inferiore al 50%, come riportato nel grafico 1, ad eccezione del Biotin T applicato sul marmo.

Nello specifico, si osserva un'azione biocida del Moss Buster per:

- ▶ Cemento che registra una discreta efficacia con un conteggio di patina attiva del 31%;
- ▶ Il cotto, più efficace rispetto al Biotin T e BAC, confrontabile ma molto efficace come il Biotin R;
- ▶ Marmo, più efficace del Biotin T, confrontabile con il BAC, meno efficace del Biotin R;
- ▶ La Pietra Forte: più efficace del BAC ma meno rispetto al Biotin R.

| Miscela | Principio attivo | Modalità di utilizzo |
|-------------|---|--|
| Algochene | N - b u t i l - 1 , 2 - benzisotiazolin-3-one | Diluito al 3% in White Spirit |
| BAC | Benzalconio Cloruro | Diluito al 5% in acqua - pennello |
| Biotin T | OIT e Carbammato | Diluito al 2% in acqua - pennello |
| Biotin R | OIT e Sali di Ammonio Quaternario | Diluito al 2% in white spirit - pennello |
| Moss Buster | Oli essenziali di timo e origano | Tal quale - pennello |

Tab. 2 - Miscele utilizzate per le campionature sui diversi materiali.

Per tutti i materiali, inoltre, non si evidenziano alterazioni cromatiche, mediante comparse di macchie, dovute alla componente organica degli oli essenziali. È, Pertanto, auspicabile continuare la ricerca e il monitoraggio degli effetti, nel tempo, di questi composti organici per controllare lo stato di attività del biocida in termini di efficacia.

Conclusioni

I risultati ottenuti attraverso il Bio-Tape e Bioluminometro sono in accordo tra loro evidenziando la capacità biocida degli oli essenziali. La crescita su terreni generici ha evidenziato un risultato migliore per Algochene e Moss Buster seguiti da Biotin T e Biotin R. I conteggi registrati dal Bioluminometro mostrano un comportamento simile tra BAC e Moss Buster per tutti i tipi di materiali.

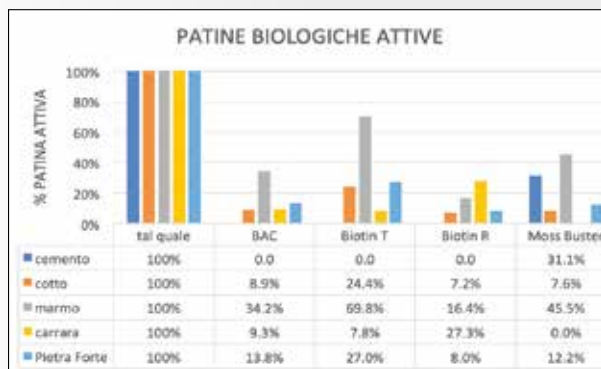


Fig. 2 - Grafico dei Conteggi di ATP con bioluminometro.

| Materiale | tal quale | BAC | Biotin T | Biotin R | Moss Buster |
|--------------|-----------|--------|----------|----------|-------------|
| cemento | 6226 | ND | ND | ND | 1935 |
| cotto | 6806 | 610 | 1664 | 492,3 | 519,3 |
| marmo | 3510 | 1203,7 | 2450,7 | 577,3 | 1597,3 |
| carrara | 3219 | 299,3 | 251 | 879,3 | ND |
| Pietra Forte | 5161 | 715,3 | 1395,7 | 415 | 628,3 |

Tab. 3 - Conteggi di ATP rilevata sui diversi materiali per ciascuna applicazione biocida.

Le potenzialità degli oli essenziali sono ormai appurate e più volte constatate in sede di laboratorio, tuttavia, non si sono ancora raccolti dati sperimentali in situ sufficienti per una comparazione oggettiva in termini di efficacia. L'obiettivo di questo lavoro è raccogliere più informazioni possibili sul campo per ottenere un metro di confronto oggettivo sulla capacità biocida delle miscele in commercio su casi di studio reali. Quando si opera sul campo diventa fondamentale: (i) inserire queste sperimentazioni in progetti multidisciplinari, con controlli costanti e valutazioni scientifiche nel tempo dei loro esiti; (ii) prevedere un utilizzo selettivo dei prodotti in funzione delle specifiche esigenze conservative di ogni singola porzione da trattare.

ABSTRACT

The aim of the present study is to identify and characterise the best biocidal formulation for controlling biodeterioration phenomena. Given the requirements which define a good biocide, i.e. being environmentally sustainable, negligible interference with stone materials, being safe from a toxicological point of view, being easy to apply, having long-lasting effect, and being cost effective, the overall objective is to minimise environmental impact by ensuring an efficient use of resources. The attainments of our approach have been: protection of operators' and end users' health, sustainability, reversibility, compatibility and minimal intervention criterion.

The specific objectives of this work are articulated in 4 points:

- 1. Recording of metabolic activity of the active patinas present upon the artefact surface, grown in spontaneous environmental conditions*
- 2. Registration of the data on effectiveness of commercial biocidal mixtures, applied to real case studies, by Bioluminescence analyses*
- 3. Create a connection system to collect all the recorded data in order to compare mixtures applied on different materials with objective values.*
- 4. Monitoring over time of the mixtures applied, aiming to recording biocidal efficiency and possible chromatic alterations.*

PAROLE CHIAVE

BENI CULTURALI; BIODETERIORAMENTO; RESTAURO; MONITORAGGIO; MISCELE BIOCIDE; BIO-TAPE; SUPERFICI PITTORICHE

AUTORE

ELEONORA MARCONI
ELEONORA.MARCONI@UNIROMA3.IT
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA TRE

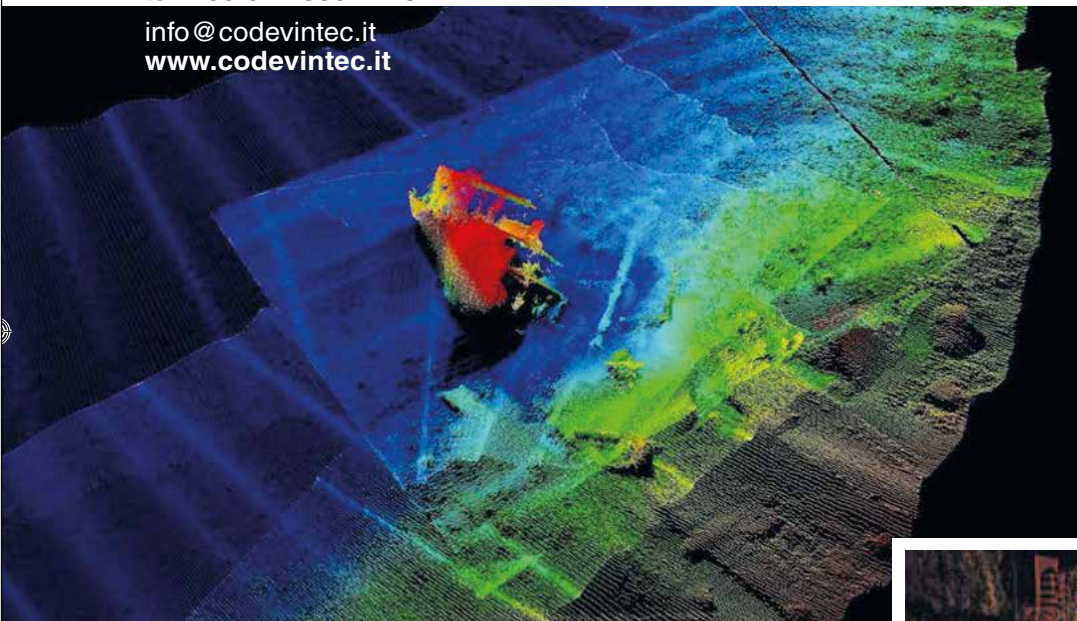
ADELE GALETTI
A.GALETTI@STUDIOLEONARDO.IT
LEONARDO SRL

FRANCESCO GENIMIANI
F.GEMINIANO@STUDIOLEONARDO.IT
LEONARDO SRL

I migliori emergono

tel. +39 02 4830.2175

info@codevintec.it
www.codevintec.it



Strumenti per:

Indagini archeologiche

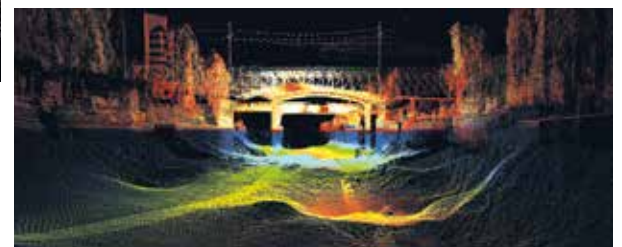
Rilievo di strutture sommerse ed emerse

Studio dei fondali e delle coste



CODEVINTEC

Tecnologie per le Scienze della Terra



**Multibeam, SSS, SBP,
Laser Scanner, Georadar.
Anche a noleggio.**