

Controllo di Biodeteriogeni via Laser Cleaning colonizzanti Volumi di Interesse Archeologico

M. Abbracciavento¹, P. Alifano², D. Delle Side¹, V. Nassisi¹, F. Paladini¹, M. Tredici² e L. Velardi¹

⁽¹⁾Dipartimento di Fisica, Laboratorio di Elettronica Applicata e Strumentazione, LEAS
INFN sez. di Lecce - Università del Salento, Via provinciale Lecce-Arnesano, C.P. 193, 73100 Lecce, Italy
⁽²⁾Laboratorio di Microbiologia, DiSTeBA, Università del Salento, Lecce, Italy

RIASSUNTO

Libri e documenti, presenti in archivi e biblioteche, sono soggetti a vari tipi di danneggiamento, tra i quali il deterioramento di natura biologica ad opera di una vasta gamma di microorganismi, quali funghi e batteri[1, 2]. In questo lavoro si mostrano i risultati ottenuti dall'uso di un laser ad eccimeri per l'inattivazione di *biodeteriogeni*. Frammenti di pagine di un libro, "INSTITUTIONES BIBLICAE" edito nel 1933, sono stati trattati con fasci laser impulsati ad un'energia di 120 mJ/cm², e analizzati pre e post irraggiamento, mediante analisi microbiologiche. Si è visto che dopo il trattamento la crescita microbica viene bloccata. Sembra che l'interazione laser sulla carta produca un'alterazione sull'attività biologica. Sono state inoltre effettuate sui campioni trattati e non, misure di bagnabilità allo scopo di studiare il diverso assorbimento della carta prima e dopo il trattamento laser. I risultati ottenuti mostrano un aumento della bagnabilità della superficie trattata e la possibilità di recuperare libri discretamente danneggiati e vecchi documenti. Questo è un risultato molto importante ed un punto di partenza che può portare alla salvaguardia del nostro patrimonio culturale e alla prevenzione di patologie causate da muffe, funghi e batteri presenti nelle biblioteche e archivi.

INTRODUZIONE

Fin dall'antichità, il materiale librario ed archivi-

stico subisce danneggiamenti di natura fisica, chimica e biologica. Le alterazioni biologiche, causate dall'attività di insetti e microrganismi in grado di vivere e svilupparsi a spese delle sostanze organiche di cui tali beni sono costituiti, sono tra quelle che si riscontrano più frequentemente in biblioteche ed archivi[1].

Tra i colonizzatori dei materiali cartacei si distinguono i batteri *cellulosolitici*. Questi batteri vengono divisi in cellulosolitici primari, che sono specializzati nella degradazione della cellulosa al punto di non essere capaci di crescere se non utilizzano questo composto (*Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Sporangium*) ed in cellulosolitici facoltativi, che invece sono in grado di utilizzare anche altri composti organici (*Vibrio*, *Cellvibrio* e *Cellfalcicula*). Essi secernono particolari fermenti (cellulasi) che spezzano la molecola della cellulosa diminuendo la resistenza meccanica della carta e rendendola fragile[2-5]. Altre specie batteriche invece si sviluppano a spese dei collanti o di altre sostanze di origine organica occasionalmente presenti sulla carta (tracce di saliva, grasso etc.) a causa dell'alto potere assorbente di tutti i materiali cartacei.

Per quanto riguarda i funghi, invece, presentano capacità adattative a diverse condizioni ambientali e ciò fa sì che gli ambienti deputati alla conservazione dei materiali cartacei, quali chiese, musei, archivi e biblioteche, possano costituire un habitat ideale per il loro sviluppo. Il numero delle specie fungine segnalate come carticole è di circa cento[2]. Esse producono, con il loro attecchimento, maculature cromatiche ragguardevoli che variano per forma, estensione e colore in relazione alle specie infestanti, al loro sviluppo,

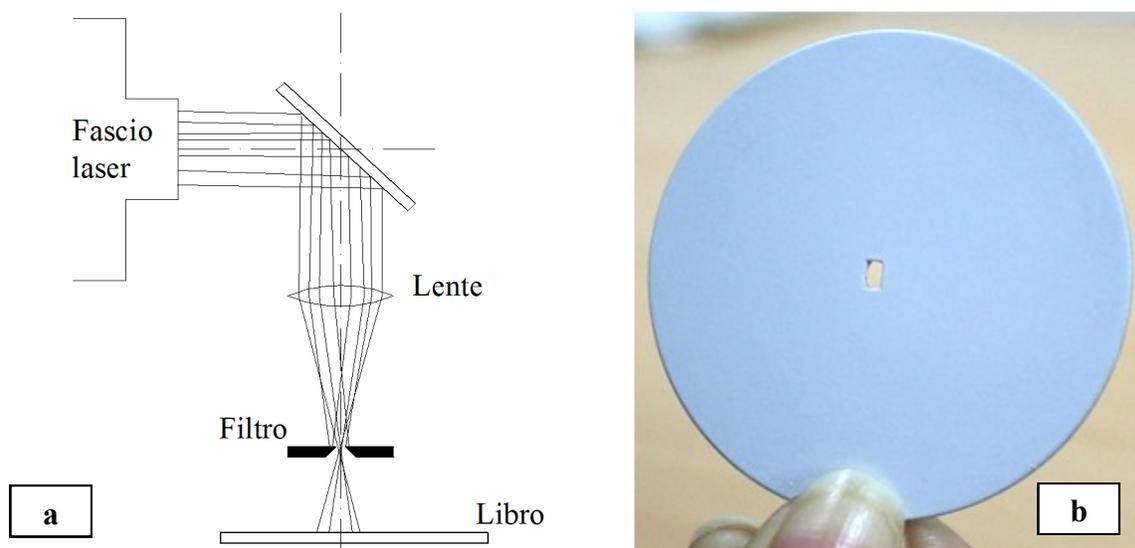


Fig. 1. a): Schema dell'apparato sperimentale; **b):** Foto del filtro utilizzato per ottimizzare il fascio laser durante l'irraggiamento.

alla qualità della carta, alle condizioni ambientali e alla coesistenza con altre specie. I funghi che si rinvenivano più comunemente sulla carta appartengono alle specie *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stemphylium*, *Alternaria*, *Strachybotrys* e *Cladosporium*[2-5]. Fra di essi vi sono anche funghi che attaccano gli inchiostri, secernendo enzimi, le tannasi, che provocano la scissione dei gallotannati e quindi la decolorazione degli inchiostri stessi. Gli attacchi microbici sono causati da spore di batteri oppure da spore o conidi di microfunghi presenti sui materiali cartacei. Sia le prime che le seconde sono componenti del particolato biologico aerodisperso, che si deposita sulle superfici. La contaminazione può avvenire anche per il contatto di materiale infetto con materiale indenne. Tuttavia in entrambi i casi le spore e i conidi possono rimanere silenti ed inoffensivi anche per lunghi periodi. I processi di biodeterioramento avvengono soltanto nel momento in cui nell'ambiente e nei materiali si verificano le condizioni che consentono la loro germinazione. In presenza di tali condizioni alla fase iniziale di contaminazione segue, prima la proliferazione del micelio, quindi la sporificazione ed, infine, la colonizzazione delle carte con la complessa gamma di alterazioni cromatiche e strutturali descritte[6].

Sono state sviluppate diverse tecniche per la conservazione di libri e documenti e per ridurre,

quindi, la minaccia di agenti biodeteriogeni. Alcune di queste tecniche comportano l'uso di sostanze chimiche molto tossiche, tra cui l'ossido di etilene, che ha proprietà cancerogene ed è vietato in alcuni paesi, oltre ad essere costoso[7-9].

Con questo lavoro si vuole, dunque, proporre un'alternativa alle tecniche tradizionali di inattivazione microbica su materiale cartaceo, utilizzando radiazioni UV mediante fasci laser, un trattamento promettente nel campo della conservazione dei beni culturali.

MATERIALI E METODO SPERIMENTALE

Apparato sperimentale

Il laser utilizzato in questo lavoro è del tipo ad eccimeri KrF (Lambda Physik, mod. COMPLEX) con lunghezza d'onda di 248 nm (energia fotonica 5 eV) e durata dell'impulso (FWHM) variabile di 23-30 ns. La massima energia nominale è di 600 mJ/impulso. L'energia d'uscita è facilmente controllata dalla tensione di alimentazione del circuito di pompaggio. In Fig. 1a è mostrata una schematizzazione dell'apparato sperimentale. Il fascio laser, guidato da una lente convergente, è selezionato spazialmente da un filtro che ha un'apertura di forma rettangolare di dimensione 1x2 mm² (Fig. 1b) in modo da eliminare i raggi estremi e rendere il fascio omogeneo. Durante

tutta la trattazione di sterilizzazione del libro (eseguita in aria a 20°C), l'energia laser è stata fissata a 250 mJ su un'area di 2 cm² (125 mJ/cm²).

Analisi microbiologiche

Nel corso dell'analisi microbiologica effettuata sul fondo documentario, sono stati prelevati da una pagina del libro, per mezzo di pinze e bisturi sterili, diversi frammenti di circa 0.5 cm².

- Un primo campione, non trattato (NTR), è stato posto in una provetta sterile contenente 5 ml di brodo Luria-Bertani (LB). Il brodo o terreno LB è un terreno generico per la crescita e la propagazione di microrganismi eterotrofi. Principali costituenti del brodo sono l'estratto di lievito (contiene principalmente fonti di carbonio ed altri cofattori essenziali richiesti), il bacto-triptone (idrolizzato triptico di caseine e, quindi, essenzialmente fonte di azoto), ed il cloruro di sodio, la cui aggiunta è richiesta sia per il raggiungimento dell'opportuna osmolarità del mezzo, oltre che per supplementare il brodo degli specifici elementi (Na e Cl).
- Un secondo campione (TR200) è stato prima trattato con laser (200 colpi) e successivamente immerso in una provetta sterile contenente 5 ml di una soluzione liquida di LB a 30°C;
- Un terzo campione (TR500) è stato sottoposto anch'esso ad irraggiamento, con una diversa dose (500 colpi) e poi sospeso in una provetta sterile con 5 ml di una soluzione di LB liquido a 30°C.
- Un quarto campione (TR1000), dopo l'irraggiamento alla massima dose (1000 colpi), è stato messo in una provetta sterile di 5ml di soluzione di LB liquido a 30°C.

Le misure sono state ripetute più volte. In Tabella 1 sono mostrati i risultati sulla crescita microbica in tutti i campioni studiati.

Dopo 24 ore non si è notata crescita microbica su alcun campione, la quale si è potuta riscontrare solo dopo 48 ore nel campione NTR. Sembra quindi che l'irraggiamento inibisca la cre-

	NTR	TR200	TR500	TR1000
Numero colpi laser	0	200	500	1000
Crescita microbica	SI (dopo 48h)	NO	NO	NO

Tabella 1

scita microbica sulla carta.

Misure di bagnabilità

Per mettere a confronto e studiare le modifiche superficiali della carta, prima e dopo il trattamento, è stata utilizzata la tecnica della goccia sessile. Questo metodo è quello più usato per ottenere la bagnabilità mediante la misura dell'angolo di contatto, definito come l'angolo formato dalla tangente al bordo della goccia rispetto alla superficie del campione.

Usando una siringa calibrata (2.5 micro litri) contenete acqua deionizzata si fa poggiare una goccia sulla superficie del campione da investigare, in equilibrio termico alla temperatura di 20°C. Un sistema costituito da una camera veloce connessa ad un personal computer permette di avere la sequenza delle immagini del profilo della goccia durante la sua deposizione sulla superficie. Tutti i frames sono analizzati usando un software che misura l'angolo di contatto θ , servendosi della seguente espressione:

$$\theta = 2 \arctan \left(\frac{H}{r} \right)$$

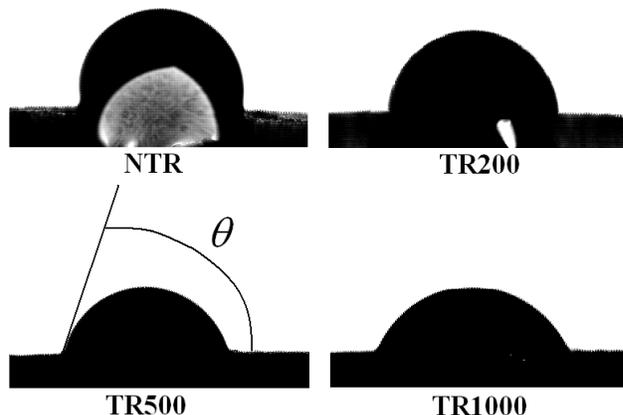


Fig. 2: Foto dei profili della goccia catturati dalla camera per i diversi campioni.

dove H è l'altezza della goccia ed r la semibase di contatto.

Sono state eseguite misure dell'angolo di contatto in tre diversi punti per ogni campione, e si è calcolato il valore medio.

La Fig. 2 mostra le foto dei profili delle gocce

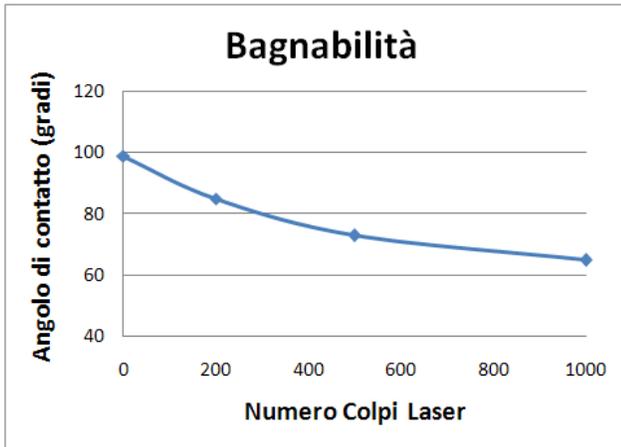


Fig. 3: Andamento dell'angolo di contatto per i diversi campioni studiati.

per i diversi casi.

La Fig. 3 mostra l'andamento dell'angolo di contatto vs numero di colpi laser, mentre in Ta-

	NTR	TR200	TR500	TR1000
θ (gradi)	99 ± 2	85 ± 2	73 ± 1	65 ± 2

Tabella 2

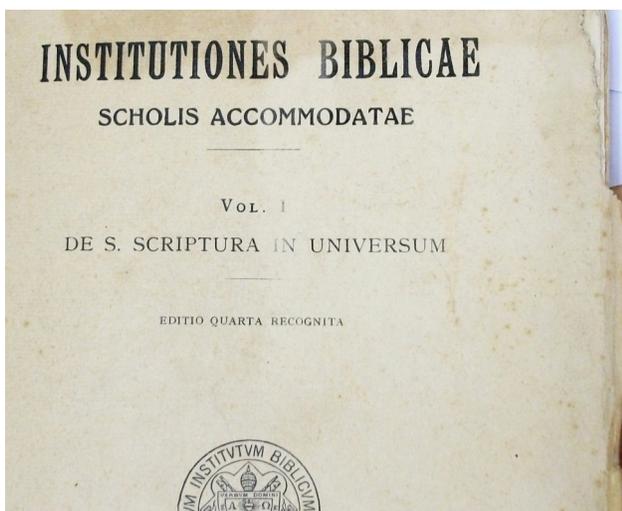


Fig. 4: Foto della copertina del libro: la zona trattata è quella all'interno del quadrato.

bella 2 sono riportati i valori medi dell'angolo di contatto con l'errore associato.

Dai dati ottenuti, si può affermare come l'irraggiamento laser modifichi la morfologia della superficie della carta diminuendo l'angolo di contatto e aumentando quindi la sua bagnabilità. Infatti partendo da una superficie iniziale non

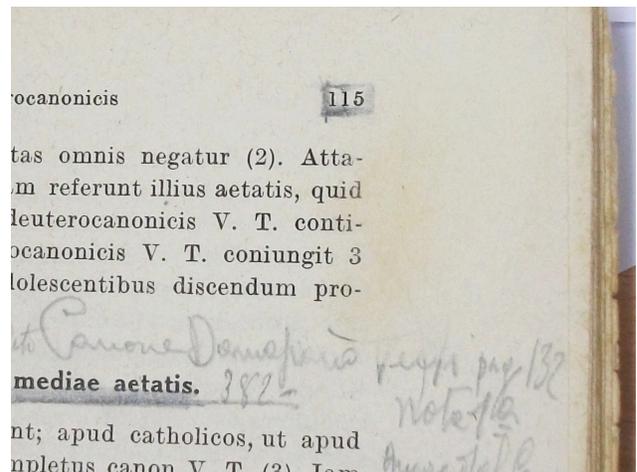
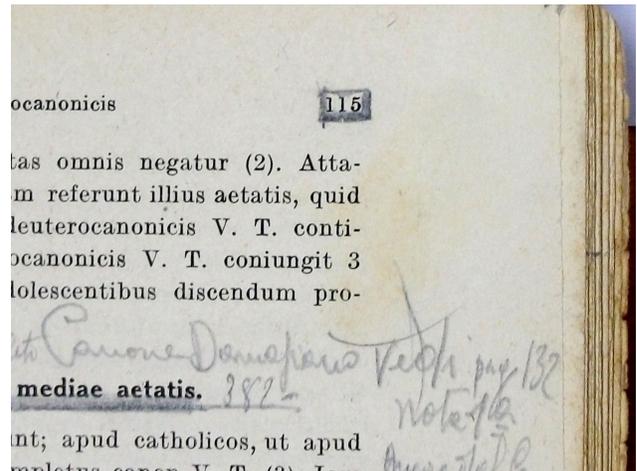


Fig. 5: Foto di una pagina del Libro: **a)** foto della pagina prima del trattamento laser; **b)** foto della pagina dopo il trattamento laser: la zona trattata è quella all'interno del rettangolo.

trattata idrofoba ($\theta > 90^\circ$), sono sufficienti 200 colpi laser per renderla idrofila ($\theta < 90^\circ$).

Prove di etching su carta

Sono state eseguite anche prove di etching alla fluensa laser di circa 300 mJ/cm^2 . Con la lente convergente ed il filtro rettangolare si sono irraggiate, con cinque impulsi laser, zone diverse di pagine in cui sono presenti evidenti macchie

di fungine. Tale trattamento è stato eseguito in aria, ad una temperatura di 20°C.

I risultati sull'etching mostrano un lieve sbiancamento delle zone in cui sono presenti le macchie, attenuando leggermente l'inchiostro (Fig. 4), cancellando completamente le scritte in matita (Fig. 5b) ma lasciando perfettamente comprensibile il testo presente. C'è da tener presente che spesso queste macchie sono presenti in tutto lo spessore del foglio e che quindi risulta impossibile rimuoverle completamente con un trattamento superficiale.

CONCLUSIONI

In questo lavoro mostriamo una tecnica innovativa e alternativa che ci permette di bloccare completamente l'attività microbica su materiale cartaceo e ci permette di restaurare parzialmente documenti di carta in discrete condizioni. Si è infatti visto che l'irraggiamento porta ad una "pulitura" delle macule fungine e all'aumento della bagnabilità della superficie.

Tale tecnica è ancora in via di sviluppo, diversi studi dovranno essere eseguiti sull'effetto che altre lunghezze d'onda potrebbero avere e su come valori di energia laser diversa possano influenzare i processi coinvolti.

I risultati ottenuti rappresentano già un successo e sono di grande importanza per l'inizio di studi in questa direzione.

BIBLIOGRAFIA

- [1] P. Valenti, *Metodi di lotta ai biodeteriogeni libri e documenti*, Riassunti estesi degli interventi della giornata di studio "Il biologo nella salvaguardia dei beni culturali: attualità e prospettive". Istituto Nazionale per la Grafica, Roma, 2011.
- [2] Giardullo A., *La conservazione dei libri*. Bibliografia e Biblioteconomia, Milano, 1999.
- [3] Gallo F., *Cause biologiche di degradazione dei materiali librari*. Per una didattica del restauro librario, Biblioteca Centrale della Regione Siciliana, Palermo, 1990, pp. 43-64.
- [4] Gallo F., *Il biodeterioramento di libri e documenti*. Centro studi per la conservazione della carta, Roma, 1992.
- [5] Montanari M., *Biodeterioramento*. Libri e documenti, Le scienze per la conservazione e il restauro. Biblioteca

Statale Isontina, Gorizia, 2007.

- [6] Gallo F., *Come proteggere i libri dal biodeterioramento*. La conservazione del materiale librario. Biblioteca Statale Isontina, Gorizia, 2004, 55-73.
- [7] Adamo et al., 2001 M. Adamo, M. Brizzi, G. Magauda, G. Martinelli, M. Plossi-Zappalà, F. Rocchetti e F. Savagnone, *Restaurator*, 22, 2001, pp 107-131.
- [8] M.E. Gonzalez, A.M. Calvo e E. Kairiyama, *Radiazione Fisica e Chimica*, 63, 2002, pp 263-265.
- [9] Flieder, F., Ramière, R., Leroy, M., Rakotonirainy, M., Descalle, P., *Recherches sur l'effetto du rayonnement gamma pour la Désinfection des papiers*. Environnement Conservation et de l'écrit, de l'Image et du Son: Actes des Deuxièmes Journées d'Etudes Internationales de l'ARSAG, Associazione pour la recherche scientifique sur les arts graphiques, Parigi, 1994, pp 79-86.