



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00194

(22) Data de depozit: 15/04/2022

(41) Data publicării cererii:
30/10/2023 BOPI nr. 10/2023

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
- DEZVOLTARE PENTRU
OPTOELECTRONICĂ - INOE 2000,
STR.ATOMIȘTILOR, NR.409, CP-OP MG 05,
MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:
• GOMOIU IOANA,
STR. CETATEA DE BALTĂ NR.22, BL.O 6,
SC.C, ET.7, AP.156, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• GHERVASE LUMINIȚA, STR. BUJORILOR
NR. 3, BL. B20, SC. 1, AP. 3, MĂGURELE,
IF, RO;
• RĂDVAN ROXANA, STR.BABA NOVAC,
NR.17, BL.G13, SC.1, AP.20, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU DE ÎNDEPĂRTARE A CONSOLIDANȚILOR
ȘI A DEPUNERILOR ORGANICE DE PE SUPRAFAȚA
PICTURILOR MURALE FOLOSIND CULTURI
DE MICROFUNGI**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de îndepărtare a consolidanțelor și a depunerilor organice de pe suprafața picturilor murale, icoanelor pe suport lemnos sau pietrei. Procedeu, conform invenției, constă în etapele:

(1) preparare a suspensiei de spori, în apă distilată sterilă sau în mediu nutritiv pentru fiecare dintre microfungii din speciile *Penicillium citrinum* NRRL 1841 și *Aspergillus clavatorphorus* NRRL 25874,

(2) inoculare a 1×10^8 spori/ml pe depunerile de pe suprafețe,

(3) incubare timp de 10 zile,

(4) îndepărtarea mecanică a miceliului,

(5) curățarea suprafețelor cu apă distilată,

(6) uscarea suprafețelor în flux de aer,

(7) decontaminare cu biocid de tip Biotin R și

(8) evaluarea eficienței îndepărtării depunerilor

prin tehnici complementare uzuale.

Revendicări: 2

Figuri: 2



PROCEDEU DE ÎNDEPĂRTARE A CONSOLIDANȚILOR ȘI A DEPUNERILOR ORGANICE DE PE SUPRAFAȚA PICTURILOR MURALE FOLOSIND CULTURI DE MICROFUNGI

Prezenta invenție se referă la o metodă de îndepărtare de pe suprafața picturilor murale, a depunerilor reprezentate de compuși organici: ceara, uleiul, funinginea și a consolidanților folosiți la restaurarea anterioară: rășina acrilică Paraloid B72 și dispersia transparentă de cazeină, cu ajutorul enzimelor sintetizate de culturile de microfungi dezvoltate din sporii inoculați pe suprafața acestora. Nu există informații referitoare la folosirea fungilor în hidroliza depunerilor menționate.

În timp, pe suprafața picturii murale consolidate cu rășina acrilică Paraloid B72 și produsul artizanal dispersia transparentă de cazeină se depun compuși organici ca urmare a activităților necorespunzătoare desfășurate de beneficiari.

Procedeu de îndepărtare a materialelor de restaurare de tipul consolidanților și a depunerilor organice constă în inocularea microfungilor *Penicillium citrinum* NRRL 1841 și *Aspergillus clavatorphorus* NRRL 25874, pe suprafețe de pictură murală acoperite cu depuneri de compuși organici sau de consolidanți.

La nivel internațional nu se cunosc documente referitoare la aplicarea micro-fungilor în domeniul îndepărtării depunerilor de natură organică sau a consolidanților de pe suprafețe pictate. Se cunoaște, în schimb, în scopul îndepărtării graffitti-urilor, din documentul [1], un protocol bazat pe inocularea cu 3 specii de bacterii (*Pseudomonas stutzeri* 5190, *Aerobacter aerogenes* 13048 și *Comamonas* sp 700440) pe modele experimentale reprezentate de granit și ciment. Evaluarea eficienței tratamentului s-a efectuat prin examinare directă, microscopie optică, FTIR (spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier) și colorimetrie. Această metodă prezintă dezavantajul că este limitată la aplicarea pe suprafețe precum granitul sau cimentul, suprafețe mai puțin complexe decât cele acoperite de straturi picturale. De asemenea, metoda nu se bazează pe un mediu de cultură standardizat și pe optimizarea condițiilor de creștere ale celor 3 specii de bacterii. Invenția propusă înlătură acest neajuns, prin faptul că speciile de microfungi propuse sunt inoculate după un protocol standardizat iar condițiile de incubare corespund atât biologiei acestora cât și condițiilor de microclimat din monumente istorice cu picturi murale aflate din zone temperate, în stare neadecvată de conservare. În plus, procedeu propus în prezenta invenție se referă la un alt sector al patrimoniului cultural și anume la pictură murală acoperită de alte tipuri de compuși și inoculate cu microfungi iar evaluarea eficienței procedurii este mai complexă, efectuându-se prin analiză directă, microscopie optică, microscopie electronică, colorimetrie, FTIR și imagistică hiperspectrală.

Se cunoaște, de asemenea, din documentul [2], un protocol de îndepărtare a depunerilor anorganice puternic aderente și a materiei organice îmbătrânite de pe pictura murală, folosind specii de bacterii (*Cellulosimicrobium cellulans*, *Stenotrophomonas maltophilia* și *Pseudomonas koreensis*) încorporate în diferite materiale folosite în restaurare precum: vată din bumbac, pastă de celuloză și Laponite®RD (Rockwood Additives, CAS N. 53320-86-8 = argilă coloidală constând dintr-un amestec de silicați de sodiu, magneziu și litiu). Evaluarea eficienței tratamentului s-a efectuat prin FTIR. Metoda prezintă dezavantajul că celulele de bacterii sunt immobilizate în matrice umede care mențin viabilitatea acestora și astfel crește umiditatea în substrat ceea ce nu este adecvat pentru pictura murală. Metoda se referă la solubilizarea compușilor anorganici și hidroliza proteinelor. Procedeu propus în prezenta invenție se referă la pictura murală pe care apar eflorescențe, suprafață pe care numai microfungii inoculați cresc și se multiplică deoarece sunt halotoleranți producând astfel prin metabolizii sintetizați hidroliza depunerilor de tipul consolidanților și a celor organice. Speciile respective nu sunt biodeteriogeni deci nu deteriorează suprafața picturii murale. Au numai rolul de a hidroliza depunerile prin enzime eliberate extracelular. Evaluarea eficienței procedurii se

efectuează prin analiză directă, microscopie optică, microscopie electronică, colorimetrie, FTIR și imagistică hiperspectrală.

Pentru îndepărtarea eflorescențelor reprezentate de nitrați de pe suprafața pietrei, se cunoaște, la nivel internațional, documentul [3], care prezintă în acest scop folosirea bacteriei haloalcalifile *Halomonas campaniensis*. Suspensia densă de celule bacteriene a fost acoperită de un gel de agar iar timpul de incubare a fost de 12 ore. Celulele au fost îndepărtate prin curățarea mecanică cu un burete steril și apă distilată la 40°C iar eficiența s-a apreciat prin analize FTIR. Metoda însă se aplică doar pe suprafețe din piatră și se adresează îndepărtării depunerilor de nitrați. *Halomonas campaniensis* este o bacterie mobilă și se dezvoltă în condiții neadecvate pentru conservarea picturii murale (pH=9,0, temperatura de 35°C). Prezenta invenție înlătură acest dezavantaj, prin aceea că procedeul propus se referă la pictura murală având depunerile menționate, care se inoculează direct cu o suspensie de spori în apă distilată și în mediul nutritiv specific pentru fungi halotoleranți, aceștia dezvoltându-se optim în condiții corespunzătoare pentru conservarea picturii murale. După îndepărtarea miceliului, suprafața picturii murale se curăță mecanic, se usucă și se decontaminează cu BIOTIN R asigurându-se astfel condițiile de derulare a unui proces de restaurare științific dar și conservabilitatea pe termen lung.

Procedeul de îndepărtare a consolidanților și a depunerilor organice de pe suprafața picturilor murale folosind culturi de microfungi, conform invenției include următoarele etape, după cum sunt ilustrate în figura 1: prepararea suspensiei de spori pentru fiecare specie de microfungi (1), inocularea modelelor experimentale (2) și incubarea (3), îndepărtarea miceliului (4), curățarea mecanică (5), uscarea (6), decontaminarea cu BIOTIN R (7), evaluarea eficienței îndepărtării depunerilor (8). În funcție de rezultatul etapei de evaluare a eficienței biocurățării, etapele 2-8 pot fi repetate. Toate materialele folosite sunt incinerate pentru a preveni dispersia microfungilor.

În plus față de stadiul tehnicii cunoscut, invenția prezintă avantajul că este primă oară când se utilizează microfungii. Speciile *Penicillium citrinum* NRRL 1841 și *Aspergillus clavatorphorus* NRRL 25874, sunt specii care nu au fost până acum utilizate, și au rolul de a hidroliza depunerile, fără a dăuna stratului pictural.

Procedeul de folosire a microfungilor pentru îndepărtarea consolidanților și a depunerilor organice este propus pentru prima dată, este compatibil cu viabilitatea celulară și permite atât aplicarea ușoară cât și și îndepărtarea miceliului de pe suprafețe verticale.

Procedeul de îndepărtare a depunerilor, conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- este sigur pentru pictura murală pe care sunt consolidanți comercializați (rășina acrilică Paraloid B72) și artizanali (dispersia transparentă de cazeină) sau depuneri organice (ceară, ulei, funingine);

- se poate aplica și pentru suportul litic respectiv pentru icoane policrome care prezintă aceleași tipuri de depuneri;

- este eficient în activitatea de restaurare a picturii murale *in situ*;
- este eficient în activitatea de restaurare a picturii murale extrase;
- nu impune restricții de operare;
- procedeul este ușor de efectuat;
- procedeul este eficient în condiții aerobe;
- procedeul se aplică la valori de temperatură de 15°C – 32°C;
- permite inițierea unui nou proces de restaurare;
- nu generează eflorescențe;
- previne biodeteriorarea asigurând conservarea preventivă;
- nu produce denaturări cromatice;
- este un procedeu ecologic, fără riscuri pentru operatori și mediu.

R/

Sunt prezentate în continuare două exemple de aplicare a procedurii de îndepărtare a materialelor de restaurare de tipul consolidanților și a depunerilor organice conform invenției.

Exemplul 1

Exemplul 1 de realizare a invenției, în legătură cu figura 2, constă în: prepararea suspensiei (1.1) de spori în mediul nutritiv steril MH 5% (Yeast extract (10 g/L), Proteose peptone (5 g/L), NaCl (100 g/L), MgCl₂·6H₂O (7 g/L), MgSO₄·7H₂O (9,6 g/L), CaCl₂·2H₂O (0,36 g/L), KCl (2 g/L), NaHCO₃ (0,06 g/L), NaBr (0,026 g/L), glucoză (5 g/L) pentru fiecare specie de microfungi și apoi inocularea (2) a 1,0x10⁸ spori /ml pe suprafața care trebuie curățată. După incubarea (3) timp de 10 zile (în cazul probelor de laborator sau a bucăților de pictură murală extrase, acestea se incubează în recipiente cu RH de 90%), miceliul se îndepărtează mecanic (4) cu ajutorul unei spatule iar suprafața ocupată anterior de acesta se curăță (5) cu o compresă umedă (apă distilată sterilă), se usucă (6) în flux de aer și se decontaminează (7) cu BIOTIN R 3%. Pasul final constă în evaluarea eficienței biocurățării (8), prin tehnici complementare (examinare vizuală, colorimetrie, microscopie optică și electronică cu baleiaj, spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier, imagistică hiperspectrală). Dacă este nevoie, procedeul poate fi aplicat din nou.

Metoda se aplică cu succes în bisericile unde umiditatea relativă are valori ridicate, în cele rupestre, în cele situate în peșteri și în catacombe cu prevenirea curenților de aer și accesul beneficiarilor. Acestea trebuie să aibă instalații speciale de monitorizare a umidității relative și a temperaturii.

Exemplul 2

Exemplul 2 de realizare a invenției, în legătură cu figura 2, constă în: prepararea suspensiei de spori (1.2) în apă distilată sterilă pentru fiecare specie de microfungi, urmată de inocularea (2) a 1,0x10⁸ spori /ml pe depunerile fiecărui model experimental (Paraloid B72, dispersie transparentă de cazeină, ceară, ulei, funingine) de pe suprafața celor 4 pigmenți (roșu, galben, albastru, verde). După incubarea (3) timp de 10 zile în recipiente cu RH de 90%, miceliul se îndepărtează mecanic (4) cu ajutorul unei spatule iar suprafața ocupată anterior de acesta se curăță (5) cu o compresă umedă (apă distilată sterilă), este uscată (6) în flux de aer și se decontaminează (7) cu BIOTIN R 3%. Ultimul pas constă în realizarea evaluării eficienței procesului de curățare, prin examinare vizuală, colorimetrie, microscopie optică, microscopie electronică de baleiaj, spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier, imagistică hiperspectrală.

Această variantă de realizare a procedurii poate avea eficiență mai scăzută comparativ cu cea prezentată în Exemplul 1, dar poate fi utilă în condiții de lucru *in-situ*, când mediul nutritiv nu este disponibil din motive logistice sau din motiv de resurse mai limitate de timp.

Bibliografie:

- [1] P. Sanmartin și P. Bosh-Roig, "Biocleaning to remove graffiti: A real possibility? Advantages towards a complete protocol of action", *Coatings*, **2019**, 9, 104-doi 10.3390.
- [2] M. Mazzoni, C. Alisi, F. Tasso, A. Cecchini, P. Marconi, A.R. 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*, **2014**, 94, 1-11.
- [3] I. Romano, M. Abbate, A. Poli, L. D'Orazio, "Bio-cleaning of nitrate salt efflorescence on stone samples using extremophilic bacteria", *Scientific Reports*, **2019**, 9, 1668-1679.

REVENDICĂRI

1. Procedul de îndepărtare a consolidanților și a depunerilor organice de pe suprafața picturilor murale, icoanelor pe suport lemnos, pietrei, **caracterizat prin aceea că** se bazează pe utilizarea unor culturi de microfungi.
2. Procedul conform revendicării (1), **caracterizat prin aceea că** include următoarele etape: prepararea suspensiei de spori pentru fiecare specie de microfungi (1), inocularea suprafeței (2) și incubarea (3), îndepărtarea miceliului (4), curățarea mecanică (5), uscarea (6), decontaminarea (7) cu BIOTIN R, evaluarea eficienței îndepărtării depunerilor (8). Toate materialele folosite sunt incinerate pentru a preveni dispersia microfungilor.

14

DESENE EXPLICATIVE

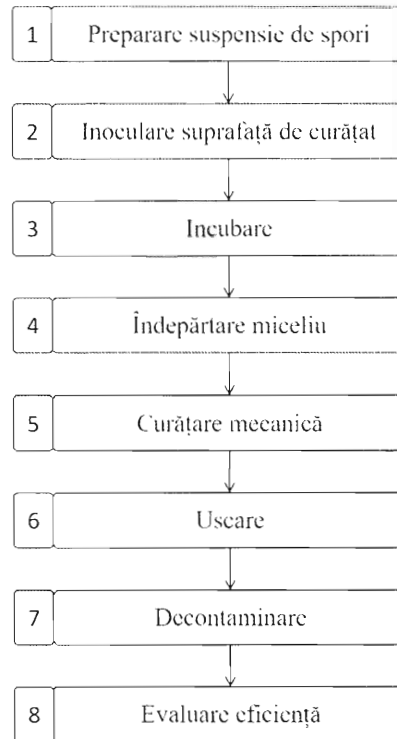


Figura 1. Pașii procedului de îndepărtare a consolidanților și a depunerilor organice de pe suprafața picturilor murale folosind culturi de microfungi

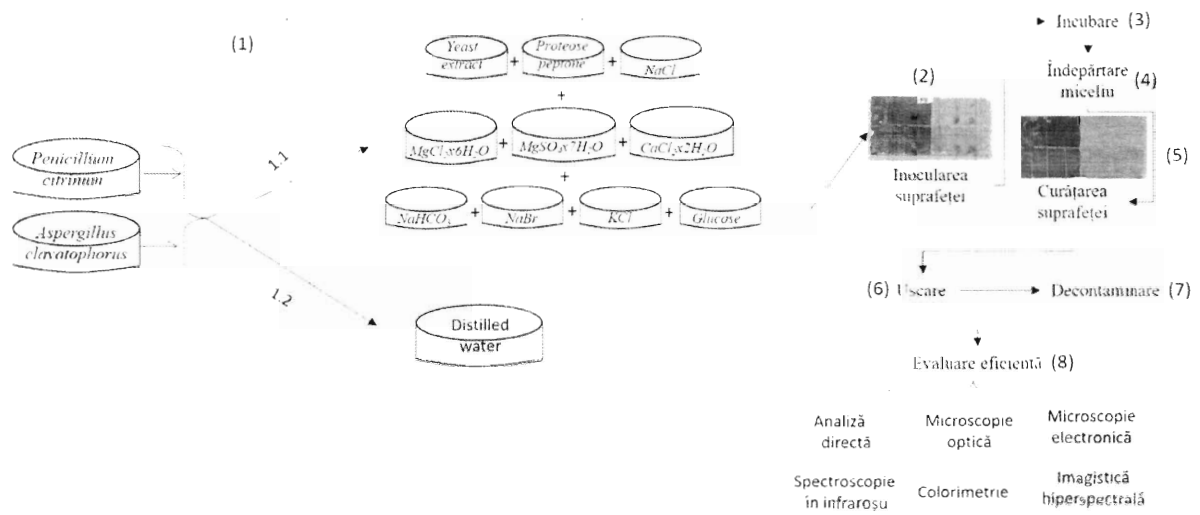


Figura 2. Exemplu de realizare a procedurii de îndepărtare a consolidanților și a depunerilor organice de pe suprafața picturilor murale folosind culturi de microfungi